

# FLAP XXI 2013

CONGRESO LATINOAMERICANO DE PARASITOLOGÍA

*“Dr. Pedro Morera Villalobos”*

Guayaquil, Ecuador



niñas ecuatorianas

## **CURSO PRE-CONGRESO**

Actualización en enfermedad de Chagas

Centro Cívico Eloy Alfaro de Guayaquil

6 de octubre

# **FLAP XXI 2013**

## **CONGRESO LATINOAMERICANO DE PARASITOLOGÍA**

*“Dr. Pedro Morera Villalobos”*

Centro Cívico de Guayaquil Eloy Alfaro  
Guayaquil, Ecuador 6-9 octubre



**CURSO PRE-CONGRESO**

**ACTUALIZACIÓN EN ENFERMEDAD DE CHAGAS**

6 octubre

## ***Estimados participantes***

*Es un honor para el equipo docente poder compartir, en la hermosa ciudad de Guayaquil, el conocimiento generado a través de la experiencia de investigación en diversos aspectos de la enfermedad de Chagas humana.*

*A nombre del Presidente del XXI Congreso Latinoamericano de Parasitología, Prof. Dr. Edgar Montalvo Mendoza, les damos la más cordial bienvenida, esperando el curso cumpla con sus expectativas.*

*Agradecemos a todos los destacados investigadores que han tenido la generosidad de aceptar la invitación para participar como docentes.*

*Al Comité Organizador de FLAP XXI, deseamos el mayor de los éxitos en este evento científico que congrega a estudiantes, profesionales, investigadores y académicos procedentes de diversos países latinoamericanos y otros continentes.*

*Un cordial saludo a todos,*

*Dr. Werner Apt B. Director  
Dra. Inés Zulantay, Coordinadora*

### ***Este texto pertenece a:***

*Nombre*.....

*País*.....

*E-mail*.....

# ÍNDICE

Bienvenida	1
Programa	3
Situación actual de la enfermedad de Chagas en las Américas <i>Dr. Roberto Montoya</i>	4
Enfermedad de Chagas. Diagnóstico clínico <i>Dr. Werner Apt</i>	6
Actualización sobre la búsqueda de marcadores biológicos y tratamiento de la enfermedad de Chagas <i>Dr. Werner Apt</i>	10
Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas. Métodos convencionales y no convencionales <i>Dr. Alejandro Luquetti</i>	13
Existe consenso sobre los criterios de curación de la enfermedad de Chagas crónica? Protocolos de seguimiento recomendados <i>Dr. Alejandro Luquetti &amp; Dr. Anis Rassi</i>	18
Molecular diagnosis of Chagas disease: myth or reality? <i>Dra. Constanza Britto</i>	22
Enfermedad de Chagas en el Ecuador <i>Dr. Marcelo Aguilar V. &amp; Dr. Marcelo Chiriboga U.</i>	26
Advances in Real-Time PCR for the molecular diagnosis of Chagas disease <i>Dr. Otacilio Da Cruz Moreira</i>	31
Técnicas de tipificación de <i>Trypanosoma cruzi</i> <i>Dr. Patricio Diosque</i>	35
Aspectos sociales de la enfermedad de Chagas <i>Dr. Rubén Storino</i>	40
Experiencias de control de la enfermedad de Chagas: Bancos de Sangre <i>Dra. Marisa Torres</i>	44
Experiencias del laboratorio en la evaluación de eficacia quimioterapéutica de la enfermedad de Chagas crónica <i>Dra. Inés Zulantay</i>	48

## PROGRAMA

<b>08:30</b>	Inauguración <i>Dr. Edgar Montalvo.</i> Presidente FLAP XXI <i>Dr. Werner Apt.</i> Director Curso Pre-Congreso
<b>08:45 – 09:30</b>	Situación actual de la enfermedad de Chagas en las Américas. <i>Dr. Roberto Montoya.</i> Ecuador
<b>09:30 – 10:00</b>	Diagnóstico clínico de la enfermedad de Chagas. <i>Dr. Werner Apt.</i> Chile
<b>10:00 – 10:15</b>	Coffe-breack
<b>10:15 – 11:00</b>	Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas. Métodos convencionales y no convencionales <i>Dr. Alejandro Luquetti.</i> Brasil
<b>11:00 – 11:45</b>	Molecular diagnosis of Chagas disease: myth or reality? <i>Dra. Constanza Britto.</i> Brasil
<b>11:45 – 12:30</b>	Enfermedad de Chagas en el Ecuador <i>Dr. Marcelo Aguilar.</i> Ecuador
<b>12:30 – 13:15</b>	Advances in Real-Time PCR for the molecular diagnosis of Chagas disease <i>Dr. Otacilio Da Cruz Moreira.</i> Brasil
<b>14:15 – 15:00</b>	Técnicas de tipificación de <i>Trypanosoma cruzi</i> <i>Dr. Patricio Diosque.</i> Argentina
<b>15:00 – 15:45</b>	Actualización sobre la búsqueda de marcadores biológicos y tratamiento de la enfermedad de Chagas <i>Dr. Werner Apt.</i> Chile
<b>15:45 – 16:00</b>	Coffe-break
<b>16:00 – 16:45</b>	¿Existe consenso sobre los criterios de curación de la enfermedad de Chagas crónica?. Protocolos de seguimiento recomendados <i>Dr. Alejandro Luquetti.</i> Brasil
<b>16:45 – 17:30</b>	Aspectos sociales de la enfermedad de Chagas <i>Dr. Rubén Storino.</i> Argentina
<b>17:30 – 18:00</b>	Experiencias de control de la enfermedad de Chagas: Bancos de sangre <i>Dra. Marisa Torres.</i> Chile
<b>18:00 – 18:30</b>	Experiencias del laboratorio en la evaluación de eficacia quimioterapéutica de la enfermedad de Chagas crónica <i>Dra. Inés Zulantay.</i> Chile
<b>18:30</b>	Evaluación y Certificación

## **DR. ROBERTO MONTOYA**

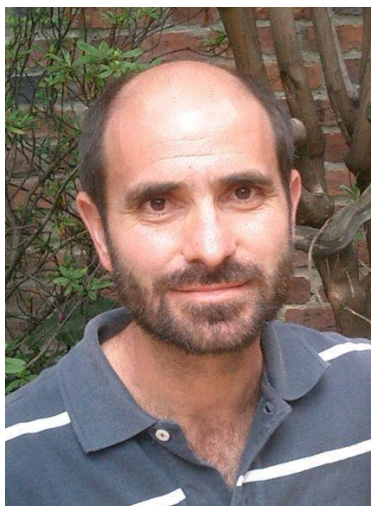
Médico Cirujano

Doctor en Medicina Tropical

Asesor para el control de enfermedades e información en salud

Organización Panamericana de la Salud. Ecuador

montoyar@paho.org



La respuesta dada por los países donde la enfermedad de Chagas (ECh) es endémica desde principios de la década de 1990, junto con la Oficina Sanitaria Panamericana (la Oficina), ha generado un exitoso esquema de cooperación técnica horizontal entre países mediante las Iniciativas Subregionales de Prevención y Control de la ECh. Estas iniciativas se han desarrollado en el Cono Sur (1992), América Central (1997), países andinos (1998), países amazónicos (2003) y México (2004). Estas iniciativas además han contribuido a mejoras sustanciales de la situación mediante: la interrupción de la transmisión vectorial en todo o parte del territorio de los países afectados, la eliminación de especies autóctonas de vectores, la implantación del tamizaje universal de donantes de sangre, la detección de casos congénitos, la reducción de la prevalencia en niños, la disminución de la morbimortalidad, la ampliación de la cobertura, la elevación de la calidad del diagnóstico, el mejoramiento de la atención clínica y el tratamiento de las personas infectadas y enfermas .

En 21 años de trabajo de las iniciativas subregionales se ha logrado al día de hoy que 7.060.454 Km<sup>2</sup> (54%) del total de 15.630.000 Km<sup>2</sup>, que formaban las áreas de transmisión vectorial de *T. cruzi* en las Américas en 1992, hayan interrumpido la transmisión vectorial por sus vectores principales (*Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*); lo que significa la

protección para la infección por vía vectorial de unos 199.611.363 habitantes, que vivían a inicios de los años 90 bajo condiciones de riesgo. En todas las zonas endémicas se han observado reducciones importantes del número de casos agudos y de la presencia intradomiciliaria de triatominos. El número estimado de muertes anuales en todo el mundo disminuyó de 45.000 en la década de 1980 a cerca de 12.000 en el 2008. El número estimado de personas infectadas pasó de 30 millones en 1990 a 8 millones en el 2006. En esos 16 años, la incidencia anual decreció de 700.000 a 56.000 y la carga de la ECh disminuyó de 2,8 millones de años de vida ajustados en función de la discapacidad a menos de 500.000. En 2013 son 10 los países con transmisión activa, de los cuales seis con áreas de interrupción.

Si bien se han logrado avances sustanciales, no todos los países han conseguido alcanzar las metas propuestas y se presentan nuevos desafíos como la propagación, debido a movimientos migratorios de esta enfermedad a países no endémicos, la necesidad de lograr la sostenibilidad de los programas, el enfrentamiento de situaciones de emergencia y reemergencia, y la necesidad de ampliar la cobertura de diagnóstico y tratamiento adecuados. En el 2010, varios países de la Región no alcanzaron las metas de control propuestas. La falta de prioridad de este tema en las agendas de salud, la asignación limitada de recursos, los problemas en la interrelación de los niveles nacionales y locales de salud, los eventos sanitarios emergentes que compitieron por los recursos, entre otras causas coyunturales, ocasionaron el rezago de las expectativas planteadas.

En el 2013 los desafíos en el control de ECh en las Américas son i) Detener la transmisión vectorial de *T.cruzi* en las áreas donde la misma es activa y centrada en el ciclo domiciliario; ii) Vigilar y concretar acciones sistemáticas de prevención, control y atención en aquellas áreas donde la transmisión vectorial es extradomiciliaria; iii) Optimizar cobertura y calidad en los tamizajes de ECh practicados en donantes de banco de sangre; iv) Establecer el diagnóstico de ECh en el control prenatal de gestantes, y realizar diagnóstico y tratamiento de aquellos recién nacidos de madre seropositiva; v) Fortalecer la adecuada atención de los pacientes con ECh en cobertura y calidad.

## Referencias

OPS. CD50/16- Estrategia y plan de acción para la prevención, el control y la atención de la enfermedad de Chagas. 2010

## **DR. WERNER APT BARUCH**

Médico Cirujano – Profesor Titular de Parasitología.  
Jefe Laboratorio Parasitología Básico-Clínico  
Programa Biología Celular y Molecular  
Instituto de Ciencias Biomédicas  
Facultad de Medicina  
Universidad de Chile  
wapt@med.uchile.cl



Médico especialista en Medicina Interna y Parasitología. Jefe del Laboratorio de Parasitología Básico-Clínico de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Dentro de sus líneas de investigación, destacan toxoplasmosis (1962-1982), fascioliasis e hidatidosis (1982-1990) y enfermedad de Chagas (1970 a la fecha). Ha publicado más de 300 artículos científicos en revistas nacionales y extranjeras. Editó en el año 2013 el libro Parasitología Humana de la Editorial McGraw Hill, texto que tiene 800 páginas impresas y 450 on-line. Ha recibido numerosos premios entre los cuáles se destaca el Premio de la Academia de Medicina de Chile 2009 por sus investigaciones sobre la enfermedad de Chagas. Presidente de la Sociedad Chilena de Parasitología y socio fundador (1966). Ex Presidente de la Federación Latinoamericana de Parasitología (FLAP). Ha sido formador de varias generaciones de académicos y director de tesis de pre y post-grado.



## ENFERMEDAD DE CHAGAS. DIAGNOSTICO CLINICO

*Werner Apt*

Laboratorio de Parasitología Básico-Clínico. Programa Biología Celular y Molecular.  
ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile

La enfermedad de Chagas (ECh) presenta características regionales. En algunas zonas del norte de Argentina son frecuentes los cuadros agudos con chagomas de inoculación y signo de Romana, en tanto en Chile esto es excepcional. En el período crónico determinado en Brasil el megaesofago es la forma más frecuente, en cambio en Chile lo es el megacolon, en Venezuela se pensó en un comienzo que sólo existía la cardiopatía, y no las megaformaciones digestivas, hoy se reconocen ambas entidades. En el inmunocompetente la ECh presenta dos períodos: Agudo y crónico. Este último puede ser indeterminado o latente o determinado. Después de un período de incubación de 4 a 10 días se desarrolla la etapa aguda. Por lo general esta es asintomática, sólo un 5% presenta sintomatología, la mayoría de los casos sintomáticos (90%) son niños que presentan chagoma de inoculación, y en niños menores miocarditis y meningoencefalitis. Por lo general la cardiopatía mejora al mes o a los dos meses. La letalidad de este período se debe a la meningoencefalitis. Después de años de período agudo se desarrolla el período crónico latente o indeterminado. Entre un 50 a 70% de los pacientes chagásicos se pesquisan en este período, que se caracteriza por la ausencia de sintomatología y/o signología y exámenes de laboratorio rutinarios normales (EKG, radiografía de tórax, enema baritada, etc). El 50% de los pacientes permanecen en esta etapa toda su vida el resto evoluciona después a una cardiopatía (10 a 30%) o megaformaciones digestivas (8 a 10%). Estudios histológicos y tests específicos confirman que el período latente no es una etapa inactiva. La cardiopatía chagásica crónica (CCC) se caracteriza por su gravedad y representa la principal causa de muerte de estos pacientes. La CCC es progresiva, originando arritmias, insuficiencia cardiaca y tromboembolismo, procesos que pueden estar asociados y potenciarse recíprocamente. En los grados avanzados la CCC presenta gran dilatación del corazón asociado a HBAI, extrasistólica multifocal y alteraciones de la onda T junto a bradiarritmias. La telerradiografía revela cardiomegalia. Los pacientes pueden presentar palpitaciones por ectopias ventriculares y taquiarritmias paroxísticas que pueden originar

sincope por disminución del débito cardíaco. Las crisis de Adams/Stokes se pueden presentar además en bloqueos A-V completos y enfermedad del nódulo sinusal. La insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) por CCC corresponde a una cardiopatía dilatada de bajo débito con congestión pasiva de órganos (hepatomegalia sensible, regurgitación yugular, reflujo hepatoyugular, etc), arritmia y tromboembolismo. Es importante señalar que si bien el ECG es una herramienta muy útil en el diagnóstico de la CCC, no existen imágenes patognómicas. La esofagopatía por ECh se presenta después de la segunda década de vida. Se le distinguen cuatro estadios en su evolución natural siendo los dos últimos el esófago francamente dilatado (> de 5 cm) y el dolicomegaesófago. Los síntomas principales son disfagia lórica y odinofagia. Las complicaciones de la esofagopatía son esofagitis y neumonía por regurgitación. La colonopatía se presenta en la 3era ó 4ta. década de la vida. El síntoma principal es la estitiquez pertinaz y progresiva. A veces los pacientes presentan disquezia y meteorismo. Las complicaciones son: fecaloma, impactación fecal y vólvulos de sigmoides. En el inmunodeprimido la ECh aguda es grave y tiene una alta mortalidad. En pacientes con ECh crónica ya sea en etapa indeterminada o determinada que presente una inmunodepresión por neoplasias, SIDA, inmunosupresores, quimioterapia, transplantes, etc. pueden presentar una reactivación que origina una meningoencefalitis (difusa o localizada: granulomas) y/o pancarditis de pronóstico grave.

FINANCIAMIENTO: Proyectos FONDECYT 1120382 - 1100768

### Referencias

Rassi A, Rezende de J.M., Luquetti A, Rassi A Jr. Clinical phases and forms of Chagas disease. Chapter 27 in American Trypanosomiasis Chagas Disease. One hundred years of research. Edit Jenny Telleria, Michel Tibayrenc. 2010. Elsevier Pags. 709-741.

Storino R. Etapas clínicas de la enfermedad de Chagas. Capítulo 12 en Chagas en el siglo XXI a 100 años de su descubrimiento. Edit. Rubén A. Storino y Colaboradores. Ed. Akadia 2010. Pags. 127-136.

Apt W. Tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas). Capítulo 41 En: Parasitología Humana Editor Werner Apt. Ed Mc Graw Hill 2013. Páginas: 282-309.



## ACTUALIZACIÓN SOBRE LA BÚSQUEDA DE MARCADORES BIOLÓGICOS Y TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

*Werner Apt*

Laboratorio de Parasitología Básico-Clínico. Programa Biología Celular y Molecular.  
ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile

Es importante determinar porque algunos pacientes con enfermedad de Chagas crónica (EChC) permanecen toda su vida en el período indeterminado y otros desarrollan una forma determinada ya sea cardíaca, digestiva o ambas. Se han estudiado diversos marcadores biológicos que podrían ayudar en este sentido: 1) Citoquinas y chemoquinas. En la ECh aguda hay influencia y elevación de  $INF\alpha$ ,  $INF\gamma$  e  $IL12$ . En el período crónico indeterminado las citoquinas y chemoquinas están bajas.  $TNF\alpha$  esta elevado en los diferentes grados de la cardiopatía, es inversamente proporcional a la fracción de eyección y aumenta con la gravedad de la cardiopatía 2) Hormonas y enzimas del hospedero. BNP, péptido natriurético cerebral es un indicador útil de la ICC cualquiera sea su etiología. Este péptido esta relacionado con la alteración de la función del ventrículo izquierdo en las cardiopatías de diversa etiología incluyendo la cardiopatía chagásica. La pesquisa de BNP en los casos indeterminados podría ser un buen marcador cuando aumenta lo que indicaría que el sujeto esta haciendo una cardiopatía. En relación a la troponina que aumenta en todos los procesos inflamatorios del corazón: isquemia, infarto, miocarditis, incluso en corredores de maratón hasta la fecha no es un buen indicador ya que no siempre guardan relación con el grado de cardiopatía. 3) Antioxidantes. La proteína C reactiva aumenta en los diferentes grados de cardiopatía. Su elevación en los casos indeterminados podría ser sugerente de iniciación de cardiopatía 4) Autoanticuerpos contra el endocardio, intersticio de pared del músculo estriado (EVI). Los anticuerpos antimiosina podrían ser un buen marcador ya que se elevan en la cardiopatía y actúan en forma cruzada con marcadores  $\beta$  adrenérgicos aumentando la gravedad de la cardiopatía 5) Marcadores metabólicos: el selenio (Se) es un antioxidante protector al actuar con la glutation peroxidada. Se está investigando darse a pacientes con ECh en período indeterminado para evitar el desarrollo de cardiopatía. En animales esto se ha demostrado.

En relación a la terapia etiológica de la ECh hasta la fecha el nifurtimox (NF) y el benznidazol (BNZ) únicos fármacos aceptados universalmente originan efectos secundarios en el 30% de los casos. Otros fármacos utilizados son el itraconazol (ITRA) que previene el desarrollo de cardiopatía y que produce una curación en alrededor del 33% de los pacientes. Otros tiazólicos que se están aplicando son el posaconazol (POS) y el ravuconazol (RAV). La eficiencia de estos últimos se conocerá en el 2014 al término de las investigaciones de estos fármacos. Creemos que en un futuro próximo el ideal va a consistir en tratar a los pacientes con EChC mediante una combinación de fármacos ejemplo: POS + BNZ, POS + NF, POS + Amiodonora, etc. Es importante señalar que la serología convencional no es una herramienta útil para determinar la curación en los casos crónicos ya que puede permanecer positiva por 10 ó más años, no obstante haber curado los pacientes, ya que no presentan parásitos detectables con las técnicas conocidas hasta la fecha.

FINANCIAMIENTO: Proyectos FONDECYT 1120382 y 1100768

## Referencias

- Maguire J, Mott K, Souza J. *et al.* Clasificación de electrocardiogramas y sistema abreviado de derivaciones para encuestas de poblaciones en relación con la enfermedad de Chagas. *Bol Of San Panam.* 1982; 93:102-17
- McCabe E, Remington J, Araujo F. 1986. *In vitro* and *in vivo* effect of itraconazole against *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med and Hyg* 35:280-4.
- Viotti E, Vigliano C, Armenti H, *et al.* 1994. Treatment of chronic Chagas disease with benznidazole: clinical and serological evolution of patients with long-term follow-up. *Am Heart J* 27:151-62.
- Apt W. Current and developing therapeutic agents in the treatment of Chagas disease. 2010. *Drug Des Devel Ther* 4:243-53.
- Urbina J. 2010. Specific chemotherapy of Chagas disease: relevance, current limitations and new approaches. *Acta Trop* 115:55-68.
- Le Loup G, Pialoux G, Lescure F. *et al.* 2011. Update in treatment of Chagas disease. *Curr Opin Infect Dis* 24:428-34.
- Murcia L, Carrilero B, Albajar Viñas P. *et al.* 2012. Nifurtimox chemotherapy: collateral effects in treated *Trypanosoma cruzi* infected patients. *Rev Esp Quimioter* 25:74-5.
- Morrillo C. 2012. Actualización estudio clínico Stop-Chagas [Study of oral posaconazole in the treatment of asymptomatic chronic Chagas disease]. In: VIII Taller sobre la enfermedad de Chagas importada. *Barcelona: Institute for Global Health Ed.* 17-20.
- Torrico F, Ribeiro I, Alonso-Vega C, *et al.* 2012. Justificación y diseño de un estudio Fase II de prueba de concepto del E1224, un nuevo fármaco candidato para el tratamiento de pacientes adultos con enfermedad de Chagas crónica. In: VIII Taller sobre la enfermedad de Chagas importada. *Barcelona: Institute for Global Health Ed.* 22-4.
- Apt W, Arribada A, Zulantay I, *et al.* 2013. Treatment of Chagas disease with itraconazole: electrocardiographic and parasitological condition after 20 years of follow-up. *J Antimicrob Chemother* 68 (69): 2164-2169.



## **DR. ALEJANDRO LUQUETTI**

Profesor Asociado  
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública  
Universidade Federal de Goias  
Brasil  
aluquetti@gmail.com



Médico (Uruguay, 1970), Especialista en Protozoología (Universidade Federal de Goiás, Goiania, Brasil,[UFG]), 1979). MSc y PhD Medicina Tropical. Profesor Asociado, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, UFG. Ex-Jefe del Laboratório de pesquisa da doença de Chagas y de la Policlínica correspondiente, Hospital das Clínicas, UFG.. Ex médico perito de la Previdencia Social. Presidente de la Sociedad Brasileira de Parasitologia. Ex-editor y actual co-editor de la Revista de Patologia Tropical. Asesor de la OMS y de la OPAS em múltiples misiones. Autor de 22 capítulos de libro y 95 trabajos publicados. Actúa en investigación de la enfermedad de Chagas, clínica, diagnóstico y tratamiento.

## DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS. MÉTODOS CONVENCIONALES Y NO CONVENCIONALES.

*Alejandro Luquetti*

La enfermedad de Chagas puede presentarse en dos fases: aguda y crónica. El diagnóstico laboratorial difiere de acuerdo a la fase en la cual se sospecha que el paciente se encuentre. En la fase aguda el diagnóstico es parasitológico, debido a que *Trypanosoma cruzi* se encuentra fácilmente detectable en la circulación, en particular durante el primer mes. El primer examen a solicitar es la búsqueda del parásito a fresco, lo que se ejecuta con una gota de sangre entre portaobjeto y cubreobjeto (22 x 22 mm) y su visualización en microscopio con aumento de 10 x 40. Sus rápidos movimientos entre los hematíes son fácilmente visualizados en la búsqueda de por lo menos 100 campos. Cuando la transmisión es por la vía transfusional o en inmunosuprimidos (reactivación), la parasitemia es aún más elevada con hallazgo de parásitos en cada campo. Esta técnica es sumamente simple y de bajo costo pero requiere cierta experiencia del observador aunada a la sospecha del clínico, que debe existir en las regiones endémicas en todo caso con fiebre prolongada. Hoy en día se están reconociendo con frecuencia micro-epidemias por transmisión oral de alimentos en donde varias personas de la misma familia se presentan simultáneamente con cuadro febril de días de evolución, sin diagnóstico. Un simple examen a fresco puede resolver el diagnóstico. Algunos de estos casos pueden tener evolución rápida y llevar a la muerte. Otras manifestaciones, como las digestivas, inusuales en otros mecanismos de transmisión, pueden encontrarse.

Durante la fase aguda tardía, después de las primeras semanas, y hasta los 60 días si hay sospecha clínica, debido a la parasitemia menor que la inicial, se puede recurrir a métodos de concentración del parásito, en particular el método de Strout, también económico y de fácil ejecución, pues requiere apenas dos centrifugaciones y su observación a fresco, o el micro-hematocrito, indicado en particular cuando se requiera poca sangre como en la sospecha de transmisión congénita. En este caso se pueden evidenciar los movimientos del parásito en la interfase plasma/hematíes en el capilar al microscopio.

Fase crónica: es en la que se encuentran la mayoría de los infectados por *T. cruzi*. En ellos, la parasitemia ha disminuido, al punto que no se encuentran parásitos circulantes, que pueden permanecer en su ciclo intracelular por días o meses. Por ese motivo, inclusive técnicas de multiplicación del parásito, sean las clásicas de hemocultivo o xenodiagnóstico, sean las llamadas moleculares como el PCR, pueden ser negativas, lo que no significa que no se trate de infección por *T. cruzi*. Por medio de las técnicas clásicas, se obtiene positividad en 20 a 30% de los infectados, con un examen único. Si se repite, se puede llegar hasta el 40-50% de positividad. Por lo expuesto, no se deben solicitar exámenes parasitológicos para diagnosticar fase crónica de la infección, a no ser en situaciones especiales, en investigación, como el seguimiento de tratados, que se abordarán en otras ponencias.

El diagnóstico de infección por *T. cruzi* para confirmar (o excluir) la infección, durante la fase crónica, se ejecuta solicitando exámenes serológicos. Cada laboratorio



empleará aquellos disponibles, dentro de los llamados convencionales y que son la hemaglutinación indirecta (HAI), la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el test inmunoenzimático de ELISA. Por recomendación de la Organización Mundial de la Salud, para un diagnóstico correcto, deben realizarse por lo menos dos de estas tres técnicas. Los resultados obtenidos pueden clasificarse en concordantes, discordantes o inconclusivos. En más del 95% de los casos es posible obtener un resultado concordante, o sea, dos reacciones con resultado positivo, donde se confirma la infección, o ambos con resultado negativo, en donde se descarta. En una minoría de sueros el resultado es positivo con un test y negativo con el otro, caracterizando resultado discordante. En general se trata de reacciones cruzadas, en particular con leishmaniosis (en general la IFI es positiva). En otra pequeña proporción ambos resultados dan un resultado inconclusivo, o sea que las reacciones exhiben un resultado en la región gris. Esta rara situación puede observarse cuando existe un cambio en la historia natural de la infección en cierto individuo, que puede ser fisiológica o inducida por tratamiento. En la primera circunstancia, fisiológica, se trata de un lactante nacido de madre infectada, a los 2-4 meses del nacimiento, sin transmisión del parásito, en donde los anticuerpos maternos (IgG) recibidos por transmisión pasiva, se están agotando por decurso del tiempo y desaparecerán posteriormente, alrededor de los 6 a 8 meses. Un segundo examen, después de los seis meses va a demostrar la desaparición de estos anticuerpos, caracterizando ausencia de infección. En el segundo caso, de infectado tratado con medicación quimioterápica para eliminar el parásito (ver ponencia al respecto) en aquellos casos que se curan, existe un período entre la positividad en ambos exámenes y su negatividad, donde las concentraciones de anticuerpos han descendido a tal punto que los tests demuestran ambigüedad y caen en la región gris. Esta situación suele denominarse como “camino para la demostración de cura” (Rassi A).

## Referencias

Camargo, M.E. Fluorescent antibody test for the diagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 8:227-234, 1966.

Cerisola, J.A., Rohwedder, R., Segura, E.L., Del Prado, C.E., Alvarez, M., & Martini, G.J.W. de El xenodiagnóstico. Buenos Aires, Imp. Inst. Nac. Invest. Cardiovasc., 1974. 157 p.

Junqueira, A.C.V., Chiari, E. & Wincker, P. Comparison of the polymerase chain reaction with two classical parasitological methods for diagnosis of Chagas disease patients in a north-eastern endemic region of Brazil. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 90:129-132, 1996.

Luquetti A.O. & Castro A.M. Capítulo 6. Diagnóstico sorológico da doença de Chagas. Pag.99-113. In: *Clínica e Terapêutica da doença de Chagas*. Uma abordagem prática para o clínico geral. Ed.J.C.P.Dias & J.R.Coura. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 1997.

Luquetti, A.O. and Rassi, A. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. In: Brener, Z., Andrade, Z. and Barral-Netto, M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Guanabara- Koogan, Rio de Janeiro, pp.344-378, 2000.

Luquetti AO & Schmuñis GA. Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. In: American Trypanosomiasis. Chagas disease. One hundred years of research. Ed. Telleria J & Tibayrenc M. Elsevier, Amsterdam, 2010. p.743-792.

Silveira JF, Umezawa ES, Luquetti AO. Chagas disease: recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens for serological diagnosis. *Trends in Parasitology*, 17:286-291, 2001.

Voller, A., Draper, C., Bidwell, D.E., Bartlett, A. A microplate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for Chagas disease. *Lancet*, 1:426-429, 1975.

Zicker, F.; Smith, P.G.; Luquetti, A.O. & Oliveira, O.S. Mass screening for *Trypanosoma cruzi* infections using the immunofluorescence, ELISA and haemagglutination tests on serum samples and on blood eluates from filter-paper. *Bull. World Health Org.*, 68:465-471, 1990.

Ministério da Saúde 2007. Doença de Chagas aguda. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento. Guia de consulta rápida para profissionais de saúde. Manual. *Revista de Patologia Tropical* 36 (3): 1-32 (anexo). 32 p.



## **EXISTE CONSENSO SOBRE LOS CRITERIOS DE CURACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA? PROTOCOLOS DE SEGUIMIENTO RECOMENDADOS**

*Alejandro O. Luquetti y Anis Rassi. Goiania, Brasil.*

*Anis Rassi. Profesor Emérito de la Universidad Federal de Goiás, Brasil.  
Ha dedicado gran parte de su vida al tratamiento etiológico  
de la enfermedad de Chagas y sus criterios de curación.*

Para tratar de este tema, es conveniente recordar lo que sucede en la fase aguda. En ella, existe consenso: la cura se alcanza cuando los anticuerpos anti- *Trypanosoma cruzi* existentes antes del tratamiento etiológico, desaparecen. Esta situación se logra en poco tiempo, en general en pocos meses, a lo sumo dos a cuatro años. Depende del momento en que se inicia el tratamiento, si precozmente, antes del mes de iniciados los síntomas, se logra la negativización serológica en meses. Después del primer mes, y hasta los 60 días, en donde todavía se pueden observar parásitos circulantes por métodos de concentración, la concentración de anticuerpos aumenta y también su afinidad, decreciendo paulatinamente los niveles de IgM. En estos casos la negativización suele demorar más tiempo, hasta cuatro años. Recordemos que en un 20 a 30% de los casos tratados durante la fase aguda, el tratamiento específico, sea con benznidazol (Bz) o con nifurtimox (Nf), puede no ser eficaz, observando un aumento progresivo de la concentración de anticuerpos, que a los cinco años se mantiene en niveles estables, indicando la posible falla terapéutica.

En la fase crónica, debemos reconocer dos situaciones: el tratamiento instituido pocos años después de la fase aguda (se admite hasta diez años después) y aquel realizado décadas después de la infección. La primera se conoce como la fase crónica reciente y en general se trata de niños, considerando que la mayoría de las infecciones se adquiere antes de los cinco años de edad. Generalizando, se trata de infectados en edad escolar, hasta los 12 años. En la segunda situación, la más común, los infectados llevan muchos años de convivencia con el parásito, y se encuentran en la llamada fase crónica tardía. Los criterios de curación en la fase crónica reciente, son los mismos que en la fase aguda: ausencia de anticuerpos que estaban presentes antes de la intervención terapéutica. Estos conceptos han sido adquiridos más recientemente, a partir de la década de 1980, por la sencilla razón que los fármacos efectivos (Nf y Bz) comenzaron a utilizarse en la década de 1970 y hasta 1980 no había habido tiempo suficiente para observar negativización serológica en los niños tratados. Los primeros investigadores a señalar la desaparición de anticuerpos en Brasil (Rassi, 1982, Ferreira, 1990) en niños, establecieron las bases para dos estudios randomizados financiados por el TDR de la Organización Mundial de la Salud (OMS), uno en Argentina y otro en Brasil, en 1990. En ambos estudios que incluyeron más de 100 niños infectados cada uno, se llegó a conclusiones similares: entre el 56% y el 62% de aquellos que recibieron Bz obtuvieron la negativización serológica después de un seguimiento de 3 a 4 años (Andrade *et al.* 1996; Sosa-Estani *et al.* 1998). A partir de esos estudios se hace obligatorio el tratamiento específico según recomendaciones de la OMS. Se llama la atención a dos hechos: existen diferencias regionales, probablemente atribuidas a diferentes

tipos de *T. cruzi* (TcI y TcII), como demostrado en estudio llevado a cabo por Médicos Sin Fronteras, simultáneamente en Honduras y en Bolivia; el otro hecho es que mismo en niños, se observa, así como en aquellos tratados durante la fase aguda, falla terapéutica en alrededor de una tercera parte de los tratados en la fase crónica reciente.

En el tratamiento instituido durante la fase crónica tardía, en los primordios de los ensayos terapéuticos, algunos investigadores decían que no se obtenía cura, pues los pacientes mantenían prácticamente los mismos títulos de anticuerpos, años después. Otros lo interpretaban como cicatriz serológica. Se trató, una vez más, de cuestión de tiempo. Pasadas algunas décadas, algunos investigadores comenzaron a encontrar diferencias en algunos de los tratados en relación a la concentración de anticuerpos anti-*T. cruzi*. Posteriormente, los investigadores (en donde nos incluimos) relataron la negativización en algunos de los mismos casos en donde se habían observado cambios de concentración. Los porcentajes, por ahora, han ido aumentando de 5% para un 30% de cura, después de seguimientos de entre 20 y 30 años. En la medida que los seguimientos sean más prolongados, se espera que este porcentaje aumente, tal vez llegando a proporciones similares a las obtenidas en los tratados en la fase aguda o en la crónica reciente.

En conclusión, se trata de observaciones que dependen del tiempo de convivencia del parásito en el huésped: si de pocas semanas, la respuesta se demuestra en pocos meses; si de pocos años, en hasta diez años y si de décadas, hasta 20 a 30 años. Estos últimos pasan por un período denominado por nosotros como “camino para la demostración de cura”.

## Referencias

Prata A, Macêdo V, Porto F, Santos I, Cerisola JA, Neiron S. Tratamento da doença de Chagas pelo nifurtimox (Bayer 2502). *Rev Soc Bras Med Trop* 9: 297-307, 1975.

Rassi A, Tranchesi J, Tranchesi B. Doença de Chagas. In: Doenças infecciosas e parasitárias. Ed. Veronesi R. Guanabara Kooga, Rio de Janeiro, 1982. p. 704.

Ferreira H.O. Tratamento da forma indeterminada da doença de Chagas com nifurtimox e benznidazol. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 23: 209-211, 1990.

Rassi, A., Luquetti, A.O. Therapy of Chagas Disease. In: Wendel, S., Brener, Z., Camargo, M.E., Rassi, A. (Ed.) Chagas Disease (American Trypanosomiasis), its impact on Transfusion and Clinical Medicine, São Paulo: Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 237-247, 1992.

Viotti R, Vigliano C, Armenti H, Segura E. Treatment of chronic Chagas disease with benznidazole: clinical and serologic evolution of patients with long-term follow-up. *Am Heart J* 127: 151-162, 1994.

Andrade ALSS, Zicker F, De Oliveira RM, Almeida Silva S, Luquetti A, Travassos LR, Almeida IC, De Andrade SS, De Andrade JG, Martelli CM. Randomized trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *Lancet* 348: 1407-1413, 1996.

Luquetti AO. Etiological treatment for Chagas Disease. The National Health Foundation of Brazil. *Parasitol Today* 13: 127-128, 1997.

Sosa Estani S, Segura EL, Ruíz AM, Velázquez E, Porcel BM, Yampotis C. Efficacy of chemotherapy with benzidazole in children in the indeterminate phase of Chagas disease. *Am J Trop Med Hyg* 59: 526-529, 1998.

Luquetti, A. O. and Rassi, A. Tratamiento específico de la enfermedad de Chagas en la fase crónica: Criterios de cura convencionales: xenodiagnostico, hemocultivo y serologia. *Rev Patol Trop* 27(Suppl), 37-51, 1998.

Pan American Health Organization. Tratamiento etiológico de la enfermedad de Chagas: conclusiones de reunión de especialistas. *Rev Patol Trop* 28: 247-279, 1999.

Rassi, A., Luquetti, A.O., Rassi, G.G. and Rassi, A.Jr. (2000). Tratamiento específico da doença de Chagas. Uma visão de 1962 a 1999. *Revista de Patologia Tropical* 29 (Suppl), 157-163.

Rassi, A., Rassi, A.Jr. and Rassi, G.G. Fase aguda. In: Brener, Z., Andrade, Z. and Barral-Netto, M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, pp.231-245. 2000.

Cançado JR. Long term evaluation of etiological treatment of Chagas disease with benznidazole. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 44: 29-37, 2002.

WHO. Control of Chagas disease. Technical Report Series nº 905, Geneva, 2002. 109 p.

Rassi A. Luquetti AO. Specific treatment for *Trypanosoma cruzi* infection (Chagas disease). In: Tyler KM & Miles MA ed. American trypanosomiasis. Kluwer Academic Publishers, Boston, 2003. p. 117-125.

Rassi A. & Luquetti A.O. Current chemotherapy of American Trypanosomiasis, Chapter 22. In: The Trypanosomiasis. Ed. Maudlin P.H., Holmes P.H. & Miles M.A. CAB International, London, 2004. p. 421-429.



## **DRA. CONSTANÇA BRITTO**

Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas,  
Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz  
Rio de Janeiro  
Brasil  
britto97@gmail.com



Bióloga, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) 1982. M. Sc. Ciências Biológicas, Genética, UFRJ 1987. Ph.D. Ciências Biológicas, Genética, UFRJ 1995. Pós-doutorado Projeto Genoma de *Leishmania*, Universidade de Medicina de Montpellier I, França 1997. Pesquisador Titular em Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz; Chefe do Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas, Instituto Oswaldo Cruz. Experiência em Bioquímica (Biologia Molecular) e Parasitologia, com ênfase em Diagnóstico Molecular, atuando nos seguintes temas: estratégias de PCR, doença de Chagas e avaliação terapêutica, infecção natural em flebotomíneos e eco-epidemiologia das leishmanioses.



## MOLECULAR DIAGNOSIS OF CHAGAS DISEASE: MYTH OR REALITY?

Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas

Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz

Rio de Janeiro

*Constança Britto*

Most *Trypanosoma cruzi* infections in humans are only detected in the chronic phase of Chagas disease, characterized by subpatent parasitaemia and scarce tissue parasitism. Although specific, conventional parasitological practices such as microscopy, xenodiagnosis and haemoculture, present rather poor sensitivity to demonstrate the presence of flagellates in chronic infected patients (1). During the chronic phase, due to scarce parasitaemia, the presence of IgG antibodies against *T. cruzi* needs to be detected by at least two distinct serological tests to confirm diagnosis (2,3). An accurate diagnosis is imperative for the individual and for epidemiological reasons, considering the disease dissemination by blood transfusion and organ transplantation occurring in endemic and non-endemic countries (4). In an effort to develop more sensitive assays, PCR technology was introduced to specifically detect *T. cruzi* DNA in blood samples from infected patients, opening new possibilities in the diagnosis (also recommended for cases of inconclusive serology) and follow-up assessment of chemotherapy (2,5). PCR procedures are able to detect a single parasite cell in 10 mL of whole blood (6,7), although discrepancies on PCR sensitivity are observed between studies carried out in different areas. The reasons for this include the epidemiological characteristics of the study populations, genetic differences between *T. cruzi* DTUs (*Discrete Typing Units*), variations in the sample volume and sample preservation, the methods used for DNA extraction, parasite target-sequences [e.g., nuclear satellite DNA or kinetoplast DNA (kDNA)] and primers selected, the quality of reagents, thermo-cycling conditions and the intermittent presence and quantity of circulating parasites (8). Recently, investigators from Latin America recognized the need to standardize and validate a consensus PCR protocol for Chagas disease diagnosis and disease management across laboratories and countries, in order to bring more reliability for PCR-based findings comparison among groups. A *consortium for standardization and validation the clinical use of PCR for T. cruzi DNA detection* was established, allowing the definition of the best PCR practices and their applicability in a clinical setting; it also allowed establishing the limitations of this technology and its application in special circumstances (e.g., post transplantation, HIV co-infection, congenital infection), and also for follow-up patient treatment outcome and evaluation of new drug candidates in clinical trials (8). PCR is a helpful tool for the early detection of treatment failure when comparing drug efficacy, tolerance, therapeutic schemes, periods of follow-up and cure criteria. Demonstration of cure is currently based on persistent seronegative results after treatment implementation, which in chronic Chagas disease usually takes many years to occur. Whether a positive PCR reflects detection of active infection is yet not clear, although experimental infection in mice suggested that parasite DNA detection derives from intact, extracellular or recently lysed parasites (9). If so, PCR is a rapid and safe indicator of the parasite susceptibility to drugs, allowing early therapy modification in cases of resistance or infection reactivation. If the persistence of positive PCR results is considered a therapeutic failure, assessment of parasite load by quantitative real-time PCR could still be correlated with the impact of trypanocidal treatment on the disease evolution in prolonged therapeutic

regimens. Moreover, parasitic load might be a useful epidemiological tool to estimate patients' infectivity concerning the risk of transmission and for earlier diagnosis and prompt treatment of post-transplant infection from infected donors (10).

FINANTIAL SUPPORT – CNPq, FAPERJ

### References

1. WHO - World Health Organization (2012). Research priorities for Chagas disease, human African trypanosomiasis and leishmaniasis. Technical report series, 975, Geneva, 100 pp.
2. Ministério da Saúde (2005). Secretaria de Vigilância em Saúde. Brazilian Consensus on Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop* 38 (suppl 3): 7–29.
3. Gomes YM, Lorena VM, Luquetti AO (2009). Diagnosis of Chagas disease: what has been achieved? What remains to be done with regard to diagnosis and follow up studies? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 (suppl 1): 115–21.
4. Schmunis GA (2007). Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102 (Suppl. I): 75-85.
5. Britto CC (2009). Usefulness of PCR-based assays to assess drug efficacy in Chagas disease chemotherapy: value and limitations. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 (suppl 1): 122-35.
6. Moser DR, Kirchoff LV, Donelson JE (1989). Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 27: 1477-82.
7. Britto C, Cardoso MA, Wincker P, Morel CM (1993). A simple protocol for the physical cleavage of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast DNA present in blood samples and its use in polymerase chain reaction (PCR)-based diagnosis of chronic Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 88: 171-72.
8. Schijman AG, Bisio M, Orellana L, Sued M, Duffy T, Mejia-Jaramillo AM, et al. (2011). International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis* 5: e931.
9. Tarleton RL, Zhang L (1999). Chagas' disease etiology: autoimmunity or parasite persistence? *Parasitol Today* 15: 94-9.
10. Duffy T, Cura CI, Ramirez JC, Abate T, Cayo NM, et al. (2013) Analytical performance of a multiplex real-time PCR assay using TaqMan probes for quantification of *Trypanosoma cruzi* satellite DNA in blood samples. *PLoS Negl Trop Dis* 7(1): e2000.



**DR. H. MARCELO AGUILAR V.**

Médico Tropicalista – Epidemiólogo

Coordinador de Investigación Científica del Instituto Nacional de Investigación en Salud

Pública INSPI “Leopoldo Izquieta Perez Quito. Profesor Titular de Medicina Tropical

Facultad de Ciencias Médicas- Carrera de Medicina

Universidad Central del Ecuador

maguilar@inh.gobe.ec



Líneas de investigación: Epidemiología de las enfermedades transmisibles con enfoque ecosistémico, con énfasis en Chagas y Malaria y en los últimos años especialmente sobre la Enfermedad de Chagas en la Amazonía.

Actualmente procesa la experiencia del impacto del ENOS de 1982-8 y 1997-98 en el Ecuador como un modelo de efectos de lo que el cambio climático podría generar en el país.

Desarrolla investigaciones operativas orientadas a establecer estrategias para la eliminación de la malaria en el Ecuador.

Ha desempeñado elevados cargos técnicos y políticos en el Ministerio de Salud y acumula una vasta experiencia en el control de enfermedades con potencial epidémico vinculadas a la variabilidad climática y a situaciones de desastre en el Ecuador.

## LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EL ECUADOR. EMERGENCIA DE LA ENDEMIAS EN LA AMAZONIA

*H. Marcelo Aguilar V. & Marcelo Chiriboga U.<sup>i</sup>*

La enfermedad de Chagas en América Latina sigue siendo un importante problema de salud pública, especialmente los Países Andinos, México, la Región del Gran Chaco, y su importancia epidemiológica, crece en la Amazonia. En el 2007, la enfermedad de Chagas fue reconocida como un problema mundial por la presencia de portadores de la enfermedad en países no endémicos como efecto de la migración asociada a la globalización lo que exige esfuerzos de control y atención especialmente en Europa y USA (Coura y col., 2010) En el Ecuador la enfermedad de Chagas es endémica en el litoral y en los valles andinos templados y en la Amazonia. Los focos más significativos están en la Provincia de Loja y en la Amazonía. Actualmente la transmisión de *T. cruzi* es un fenómeno emergente. En el litoral, *Triatoma dimidiata* y *Rhodnius ecuadoriensis* son los vectores principales y los secundarios son *Panstrongylus howardi*, *Triatoma carrioni* y *Panstrongylus geniculatus* que producen transmisión de la enfermedad en ciclos domiciliarios y peridomiciliarios (Grijalva y col. 2012). En la Amazonía, los vectores son *Rhodnius robustus*, *Rhodnius pictipes* y *Panstrongylus geniculatus*. Se estima que 6,2 millones de personas están en riesgo de adquirir la infección y existen unas 230.000 personas son portadoras de *T. cruzi* y unas 50.000 personas sufren de cardiopatía chagásica.

La clínica de la enfermedad de Chagas en el Ecuador, tiene marcadas particularidades en diversos momentos históricos, ciertamente asociados al desarrollo y condiciones ambientales y de las viviendas de las áreas endémicas. En la primera mitad del siglo pasado, se describían casos agudos procedentes de las Provincias de Guayas, Manabí, El Oro y Los Ríos y formas de cardiopatía grave frecuentes, en la actualidad esos hallazgos son ocasionales, a pesar que esas mismas áreas mantienen focos de transmisión de *T. cruzi*, posiblemente de menor intensidad, situación determinada por la mejoría sistemática de las condiciones de las viviendas en la toda la región de la Costa. Actualmente se diagnostican más casos agudos de Chagas en la Amazonía, especialmente en la zona de alta intervención humana que producen deforestación ligadas a un proceso de cambio climático local y muestra como la región con enfermedad de Chagas emergente (Aguilar 2012). La relación ecológica de palmeras que contienen colonias de vectores y la dinámica de transmisión a la población humana por vectores silvestre que invaden a las casas sin colonizarlas es un fenómeno establecido (Abad-Franch F y col. 2010)

Un nuevo foco de transmisión ha sido descrito en la Provincia de Esmeraldas en comunidades rurales de los Ríos, Cayapas, Santiago y Onzole en donde se reporta 1,75% de seropositivos (Comunicación personal Drs. William Cevallos y Manuel Calvopiña, 2013).

La cardiopatía chagásica ha sido identificada como la forma crónica predominante en las áreas endémicas de la Costa, en algunas series se reporta que 40% de seropositivos presentan alteraciones de ECG. Se calcula que las formas digestivas pueden representar alrededor del 3% de todos los pacientes chagásicos del Ecuador y son más frecuentes en la Provincia del El Oro (Abad-Franch F & Aguilar VHM, 2003).

Es relevante los que estamos observando en la Amazonía Ecuatoriana (AE) en donde se ven indicios de que la enfermedad de Chagas pudiera establecerse como una gran endemia y esta potencialidad está mediada por una compleja relación de determinantes de ocupación

espacial, social y biológica que ocurren en toda la región. Se reconocen especialmente la deforestación descontrolada y la dramática transformación del ambiente amazónico generado por violentas y ocupación espacial depredatoria (Aguilar, 2013). La Amazonia contiene de forma natural una gran variedad de reservorios, vectores y *T. cruzi*, que en fase de distintos grados de transformación paisajística, generan: intensos ciclos de transmisión en focos naturales selváticos; invasión de domicilios por vectores silvestres altamente infectados por *T. cruzi* (60%); adaptación progresiva de vectores como *Triatoma maculata* al ambiente domiciliario, y patrones de baja transmisión hipoendémica de *T. cruzi*, con seroprevalencias de entre 1 y 3%. Se ha documentado más de 500 casos graves de cardiopatía chagásica autóctonos en la Amazonia y en la medida que más se estudia, se incrementan los registros patológicos y crece la dimensión del impacto en la salud (Aguilar y col. 2007).

En el 2003, en un estudio seroepidemiológico en la AE, se determinó que la prevalencia de la infección por *T. cruzi* regional era de 2.91% y se estableció definitivamente el carácter endémico de la tripanosomiasis mostrando la gran transmisión de la enfermedad en población menor de 15 años (Grijalva y col. 2003). Recientes reportes de seropositividad para Chagas en localidades de la Provincia de Morona, Santiago, en donde no se había realizado investigaciones, reportan positividad de 2,34% (Guevara y col. 2010) y otro estudio realizado en el Cantón Aguarico de la Provincia de Orellana (Amunarriz y col. 2010), hacia el Este del país próxima a la frontera con el Perú, reveló 3,6% de prevalencia. Esto muestra el carácter amplio de la transmisión de *T. cruzi* en la AE.

Un estudio conducido por el autor, realizado en cuatro comunidades que representan distinto estratos de paisajes amazónicos, mostró que: 1) 5 de Agosto, comunidad de colonos, en donde predomina bosque muy fragmentado, cultivos y pasto, se registró la mayor prevalencia de infección humana para *T. cruzi* (4,38%); 2) Guacamayo, poblada por nativos, rodeada mayormente de bosque secundario y cultivos (Prevalencia 2,52%); 3) Pakokocha, población nativa, con cobertura forestal del selva primaria y pequeños cultivos de subsistencia; 4) Barrios urbanos, en donde predominan una estructura de ciudad con un mosaico de paisajes amazónicos residuales de alto deterioro 0.69%. Las cifras muestran diferencias muy significativas entre el área rural y el área urbana lo que configura un riesgo de 2,64 veces mayor [OR 4,77 (1,82 OR 13,19)] (RR 2,64 1,30 RR 5,67)  $p \leq 0,01$ . Los fenómenos de invasión vectorial y transmisión de *T. cruzi* están en directa relación con el grado de deforestación y degradación del bosque amazónico. El estudio se realizó en seguimiento a las necesidades de conocimiento propuesta por AMCHA (2004 y 2005).

El Programa Nacional de Control de Chagas, establecido en el 2005 no ha tenido acciones sistemáticas y suficientes para causar impactos significativos como la interrupción de la transmisión del *T. cruzi* en las áreas con vectores domiciliados y persisten focos de transmisión en la antigua zona endémica y en las emergentes como la Amazonía en donde las acciones de control son limitadas por el tipo de transmisión, por lo que se hace menester emprender algunas acciones urgentes: a) Actualizar la línea de base epidemiológica y vectorial al menos en las zonas endémicas antiguas y recientes a fin de ajustar las estrategias de control con metas claras y posibles; b) Poner a punto un plan de detección seropositivos menores de 15 años; c) Fortalecer la capacidad de manejo integral del paciente chagásico; d) Continuar con la vigilancia de *T. cruzi* en los bancos de sangre.

<sup>1</sup> Coordinador de Laboratorio de Salud Pública- Investigador INSPI Quito. Profesor Principal de la Cátedra de Parasitología y Medicina Tropical. Carrera de Medicina. Universidad Central del Ecuador.

## Referencias

Coura JR, Albajar VP. 2010. Chagas Disease: A new worldwide challenge. *Nature Outlook*. 24 June Pags: S6-S7

Aguilar M. 2013. Cambio climático local y emergencia de enfermedades vectoriales en la Amazonía. I Seminario Internacional de Cambio Climático y Salud. Una visión de la Mitad del Mundo. Pags 124-132. Memorias. Quito

Abad-Franch F, Ferraz G, Campos C, Palomeque FS, Grijalva MJ, Aguilar HM, Miles MA. 2010. Modeling disease vector occurrence when detection is imperfect: infestation of Amazonian palm trees by triatomine bugs at three spatial scales. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010 Mar 2;4(3):e620

Abad-Franch F & Aguilar VHM 2003 Control de la Enfermedad de Chagas en el Ecuador OPS/OMS (Publicación auspiciada por Ayuda Popular Noruega, Catholic Relief Services, COOPI, Médicos Sin Fronteras y Oxfam) Quito, Ecuador. Online <http://www.opsecu.org/publicaciones/OPS.doc>

Aguilar HM, Abad-Franch F; Pinto Dias JC, Veríssimo AC Coura JC. 2007. Chagas Disease in Amazon Region. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* Vol 103. Suppl.1 Epub Ag. 31

Amunarriz M, Quito S, Tandazo V, Lopez M. 2010. Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en el Cantón Aguarico. Amazonia Ecuatoriana. *Rev Panam Salud Pública* 28(1) 25-29.

Guevara A, Atherton RD & Hashiguchi Y. 2013 Seroepidemiological Study of Chagas Diseases in the Southern Amazon Region of Ecuador. *Trop Med Health* March; 41(1): 21–25.

Reunión Internacional sobre Vigilancia y Prevención de la Enfermedad de Chagas en la Amazonía - Estado de Manaus, Brasil, 19 al 22 septiembre 2004 [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=cat\\_view&gid=4137&Itemid=1639&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=4137&Itemid=1639&lang=es)

2<sup>nd</sup> Meeting of the Intergovernmental Initiative for the Surveillance and Prevention of Chagas Disease in the Amazon Region. (Cayenne, French Guiana, 2–4 November 2005) <http://www1.paho.org/english/ad/dpc/cd/dch-amcha-2.htm>





**DR. OTACILIO DA CRUZ MOREIRA**  
Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas  
Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz  
Rio de Janeiro  
Brasil  
otacilio@ioc.fiocruz.br



Trabaja como investigador en Salud Pública de la Fundación Oswaldo Cruz. Licenciado en Farmacia (2002), Máster (2003) y Ph.D. en Química Biológica (2007) de la Universidad Federal de Río de Janeiro, y post-doctorado en Biología Molecular de la Fundación Oswaldo Cruz (2010). Tiene experiencia en el área de bioquímica y biología molecular, con énfasis en diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas, Parasitología y bioenergética. Trabaja principalmente con los siguientes temas: diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas y leishmaniasis, análisis de la expresión génica y de los factores de virulencia en tripanosomátidos.

## ADVANCES IN REAL-TIME PCR FOR THE MOLECULAR DIAGNOSIS OF CHAGAS DISEASE

*Otacílio Da Cruz Moreira*

Chagas disease is endemic in several Latin American countries and still represents a major neglected tropical threat. By around one third of the affected individuals present or will develop cardiomyopathy, digestive megasyndromes or both. In the chronic phase of the disease, because of low and probably intermittent parasitemia, diagnosis relies on serologic detection of specific IgG antibodies to *T. cruzi*. Nevertheless, PCR can be used as a complementary test, in case of discordant or ambiguous results.

One of the greatest concerns is the absence of reliable molecular methods to establish a surrogate marker for assessing chemotherapy efficacy in etiologically treated patients. In this sense, Real-Time quantitative PCR (qPCR) is a molecular test that can be applied to rapidly detect and quantify *T. cruzi* nucleic acid from distinct biological samples. Thus, the implementation of qPCR assays to determine bloodstream parasite load and follow-up post-treatment evolution could be particularly useful as an indicator of the therapeutic response during the prolonged course of Chagas disease (1, 2). So far, Real-time PCR methods based on TaqMan or SYBR Green assays have shown significant results for the accurate quantification of *T. cruzi* loads in peripheral blood samples from infected patients (3, 4, 5) or animal models (6). In general, the true potential of real-time PCR has been recognized in situations for which PCR-based techniques were proposed, such as congenital infections (7), monitoring of parasitemia following etiologic treatment (8), early detection of relapses after organ transplantation (9) and other immunosuppressive circumstances (10).

Herein, the recent advances and applications of Real-Time PCR assays for Chagas disease will be discussed, focusing on its use as a tool for the earlier diagnosis of patients under diverse clinical and epidemiological scenarios.

## References

1. Marin-Neto, J.A., Rassi Jr., A., Avezum Jr., A., Mattos, A.C., Rassi, A., Morillo, C., Sosa-Estani, S., Yusuf, S., 2009. The BENEFIT trial: testing the hypothesis that trypanocidal therapy is beneficial for patients with chronic Chagas heart disease. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 104, 319–324.
2. Apt W, Arribada A, Zulantay I, Rodríguez J, Saavedra M, Muñoz A., 2013. Treatment of Chagas' disease with itraconazole: electrocardiographic and parasitological conditions after 20 years of follow-up. *J Antimicrob Chemother.* Sep;68(9):2164-9.
3. Piron, M., Fisa, R., Casamitjana, N., López-Chejade, P., Puig, L., Vergés, M., Gascón, J., Gómez i Prat, J., Portús, M., Sauleda, S., 2007. Development of a real-time PCR assay for *Trypanosoma cruzi* detection in blood samples. *Acta Tropica* 103, 195–200.
4. Duffy, T., Bisio, M., Altcheh, J., Burgos, J.M., Diez, M., Levin, M.J., Favaloro, R.R., Freilij, H., Schijman, A., 2009. Accurate real-time PCR strategy for monitoring blood stream parasite loads in Chagas disease patients. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 3, e419.
5. Moreira OC, Ramírez JD, Velázquez E, Melo MF, Lima-Ferreira C, Guhl F, Sosa-Estani S, Marin-Neto JA, Morillo CA, Britto C., 2013. Towards the establishment of a consensus real-time qPCR to monitor *Trypanosoma cruzi* parasitemia in patients with chronic Chagas disease cardiomyopathy: a substudy from the BENEFIT trial. *Acta Trop.* Jan;125(1):23-31.
6. Carvalho CME, Silverio JC, da Silva AA, Pereira IR, Coelho JMC, *et al.*, 2012. Inducible Nitric Oxide Synthase in Heart Tissue and Nitric Oxide in Serum of *Trypanosoma cruzi*-Infected Rhesus Monkeys: Association with Heart Injury. *PLoS Negl Trop Dis* 6(5): e1644.
7. Burgos, J.M., Altcheh, J., Bisio, M., Duffy, T., Valadares, H.M., Seidenstein, M.E., Piccinali, R., Freitas, J.M., Levin, M.J., Macchi, L., Macedo, A.M., Freilij, H., Schijman, A.G., 2007. Direct molecular profiling of minicircle signatures and lineages of *Trypanosoma cruzi* bloodstream populations causing congenital Chagas disease. *International Journal for Parasitology* 37, 1319–1327.
8. Russomando, G., de Tomassone, M.M., de Guillen, I., Acosta, N., Vera, N., Almiron, M., Candia, N., Calcena, M.F., Figueredo, A., 1998. Treatment of congenital Chagas' disease diagnosed and followed up by the polymerase chain reaction. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 59, 487–491.
9. Duffy T, Cura CI, Ramirez JC, Abate T, Cayo NM, *et al.*, 2013. Analytical performance of a multiplex real-time PCR assay using TaqMan probes for quantification of *Trypanosoma cruzi* satellite DNA in blood samples. *PLoS Negl Trop Dis* 7(1): e2000.
10. de Freitas VLT, da Silva SCV, Sartori AM, Bezerra RC, Westphalen EVN, *et al.*, 2011. Real-Time PCR in HIV/*Trypanosoma cruzi* Coinfection with and without Chagas Disease Reactivation: Association with HIV Viral Load and CD4+ Level. *PLoS Negl Trop Dis* 5(8): e1277.



**Dr. PATRICIO DIOSQUE**  
Unidad de Epidemiología Molecular  
Instituto de Patología Experimental  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas  
Universidad Nacional de Salta  
Salta – Argentina  
pdiosque@yahoo.com.ar



Doctor en Ciencias Biológicas, Investigador Adjunto del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (CONICET); postdoctorado en el laboratorio Génétique des Maladies Infectieuses del Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier, Francia. Su principal línea de trabajo está centrada en la epidemiología molecular de la enfermedad de Chagas con un enfoque que involucra tanto el trabajo en terreno como la aplicación y desarrollo de técnicas moleculares.

## TÉCNICAS DE TIPIFICACIÓN DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

*Patricio Diosque*

La capacidad de discriminar diferentes genotipos de un microorganismo patógeno permite examinar hipótesis con respecto a propiedades biológicas asociadas a esos genotipos y que puedan tener relevancia tanto desde un punto de vista clínico como epidemiológico. Por otra parte, el análisis filogenético de los datos moleculares permite poner la información obtenida en el marco de la evolución biológica del microorganismo en cuestión.

*Trypanosoma cruzi* presenta una gran diversidad genética y se encuentra estructurado en al menos seis linajes mayores o DTUs (*Discrete Typing Units*): TcI – TcVI (1) [un “séptimo” DTU ha sido descrito, asociado a murciélagos (2)]. Esta gran diversidad comenzó a ponerse en evidencia desde los primeros trabajos que se realizaron empleando MLEE (*Multilocus Enzyme Electrophoresis*) (3,4,5,6) y fue esta técnica la que se constituyó en el *gold standard* para la tipificación de *T. cruzi*. Posteriormente, fueron desarrollándose métodos de tipificación basados en el análisis del polimorfismo del tamaño de los productos de amplificación obtenidos mediante PCR dirigida a diferentes secuencias blanco (7,8,9), así como también enfoques multilocus también basados en la técnica de PCR [RAPD, *Random Amplified Polimorphic DNA* (10)].

Actualmente, existen dos tipos de esquemas de tipificación de *T. cruzi* que resultan de especial interés: esquemas que puedan constituirse en un sólido *gold standard*, por un lado; y por otro lado, esquemas que permitan la identificación de los diferentes linajes y genotipos del parásito sobre muestras biológicas directas (sangre, tejidos, etc.). Algunos grupos de investigación trabajan actualmente en el desarrollo de estos tipos de esquemas de tipificación de *T. cruzi*. Recientemente, con el propósito de desarrollar un nuevo *gold standard* para la tipificación de *T. cruzi* se propusieron dos esquemas de MLST (*Multilocus Sequence Typing*) (11,12). Actualmente un esquema optimizado de MLST basado en estos dos esquemas previos ha sido desarrollado con el propósito de constituirse en el nuevo *gold standard* para la tipificación de *T. cruzi*.

Con respecto a los esquemas que permiten la tipificación directa sobre muestras biológicas, un avance importante se realizó mediante algoritmos que involucran PCRs secuenciales dirigidas a diferentes secuencias blanco (13,14,15). Asimismo, la técnica de Real Time PCR también abre nuevas posibilidades en este sentido, con el agregado de la posibilidad de cuantificar las cargas parasitarias.

Existen además algunos enfoques serológicos que permiten cierto nivel de discriminación entre DTUs (16,17,18) y es posible que la identificación de antígenos específicos de DTUs y/o genotipos sea uno de los pasos más importantes a la hora de evaluar hipótesis de asociación entre DTUs/genotipos y propiedades biológicas como las manifestaciones clínicas, por ejemplo.

El desarrollo y empleo de diferentes técnicas de tipificación de *T. cruzi* ha permitido en los últimos años obtener una mejor comprensión de la historia evolutiva de este parásito y es esperable que muchas de las preguntas de relevancia clínica y epidemiológica relacionadas con la gran diversidad de este parásito puedan contestarse con las herramientas actualmente disponibles y las que se desarrollen en los próximos años.

## Referencias

1. Zingales B, Andrade SG, Briones MR, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, Guhl F, Lages-Silva E, Macedo AM, Machado CR, Miles MA, Romanha AJ, Sturm NR, Tibayrenc M, Schijman AG. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. Second Satellite Meeting. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009 Nov;104(7):1051-4.
2. Marcili A, Lima L, Cavazzana M, Junqueira AC, Veludo HH, Maia Da Silva F, Campaner M, Paiva F, Nunes VL, Teixeira MM. A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. *Parasitology*. 2009 May;136(6):641-55. doi: 10.1017/S0031182009005861. Epub 2009 Apr 16.
3. Miles MA, Toye PJ, Oswald SC, Godfrey DG. The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain-groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independently in a rural area of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1977;71(3):217-25.
4. Miles MA, Souza A, Pova M, Shaw JJ, Lainson R, Toye PJ. Isozymic heterogeneity of *Trypanosoma cruzi* in the first autochthonous patients with Chagas' disease in Amazonian Brazil. *Nature*. 1978 Apr 27;272(5656):819-21.
5. Tibayrenc M, Cariou ML, Solignac M. Interprétation génétique des zymogrammes deflagellés des genres *Trypanosoma* et *Leishmania*. *Comptes Rendus Academie of Sciences de Paris*, 292:623-625.
6. Tibayrenc M, Cariou ML, Solignac M, Carlier Y. Arguments génétiques contre l'existence d'une sexualité actuelle chez *Trypanosoma cruzi*: implications taxonomiques. *Comptes Rendus Academie of Sciences de Paris*, 293:323-329.
7. Souto RP, Zingales B. Sensitive detection and strain classification of *Trypanosoma cruzi* by amplification of a ribosomal RNA sequence. *Mol Biochem Parasitol*. 1993 Nov;62(1):45-52.
8. Clark CG, Pung OJ. Host specificity of ribosomal DNA variation in sylvatic *Trypanosoma cruzi* from North America. *Mol Biochem Parasitol*. 1994 Jul;66(1):175-9.
9. Souto RP, Fernandes O, Macedo AM, Campbell DA, Zingales B. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*. 1996 Dec 20;83(2):141-52
10. Brisse S, Barnabé C, Bañuls AL, Sidibé I, Noël S, Tibayrenc M. A phylogenetic analysis of the *Trypanosoma cruzi* genome project CL Brener reference strain by multilocus enzyme electrophoresis and multiprimer random amplified polymorphic DNA fingerprinting. *Mol Biochem Parasitol*. 1998 May 1;92(2):253-63
11. Yeo M, Mauricio IL, Messenger LA, Lewis MD, Llewellyn MS, Acosta N, Bhattacharyya T, Diosque P, Carrasco HJ, Miles MA. Multilocus sequence typing (MLST) for lineage assignment and high resolution diversity studies in *Trypanosoma cruzi*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011 Jun;5(6):e1049. doi: 10.1371/journal.pntd.0001049. Epub 2011 Jun 21.

12. Lauthier JJ, Tomasini N, Barnabé C, Rumi MM, D'Amato AM, Ragone PG, Yeo M, Lewis MD, Llewellyn MS, Basombrío MA, Miles MA, Tibayrenc M, Diosque P. Candidate targets for Multilocus Sequence Typing of *Trypanosoma cruzi*: validation using parasite stocks from the Chaco Region and a set of reference strains. *Infect Genet Evol.* 2012 Mar;12(2):350-8. doi: 10.1016/j.meegid.2011.12.008. Epub 2011 Dec 22.
13. Burgos JM, Altcheh J, Bisio M, Duffy T, Valadares HM, Seidenstein ME, Piccinali R, Freitas JM, Levin MJ, Macchi L, Macedo AM, Freilij H, Schijman AG. Direct molecular profiling of minicircle signatures and lineages of *Trypanosoma cruzi* bloodstream populations causing congenital Chagas disease. *Int J Parasitol.* 2007 Oct;37(12):1319-27. Epub 2007 May 10.
14. Burgos JM, Diez M, Vigliano C, Bisio M, Risso M, Duffy T, Cura C, Brusses B, Favaloro L, Leguizamon MS, Lucero RH, Laguens R, Levin MJ, Favaloro R, Schijman AG. Molecular identification of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units in end-stage chronic Chagas heart disease and reactivation after heart transplantation. *Clin Infect Dis.* 2010 Sep 1;51(5):485-95. doi: 10.1086/655680.
15. Cardinal MV, Lauricella MA, Ceballos LA, Lanati L, Marcet PL, Levin MJ, Kitron U, Gürtler RE, Schijman AG. Molecular epidemiology of domestic and sylvatic *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Int J Parasitol.* 2008 Nov;38(13):1533-43. doi: 10.1016/j.ijpara.2008.04.010. Epub 2008 May 24.
16. Di Noia JM, Buscaglia CA, De Marchi CR, Almeida IC, Frasch AC. A *Trypanosoma cruzi* small surface molecule provides the first immunological evidence that Chagas' disease is due to a single parasite lineage. *J Exp Med.* 2002 Feb 18;195(4):401-13.
17. Bhattacharyya T, Brooks J, Yeo M, Carrasco HJ, Lewis MD, Llewellyn MS, Miles MA. Analysis of molecular diversity of the *Trypanosoma cruzi* trypomastigote small surface antigen reveals novel epitopes, evidence of positive selection and potential implications for lineage-specific serology. *Int J Parasitol.* 2010 Jul;40(8):921-8. doi: 10.1016/j.ijpara.2010.01.002. Epub 2010 Jan 22.
18. Cimino RO, Rumi MM, Ragone P, Lauthier J, D'Amato AA, Quiroga IR, Gil JF, Cajal SP, Acosta N, Juárez M, Krolewiecki A, Orellana V, Zacca R, Marcipar I, Diosque P, Nasser JR. Immuno-enzymatic evaluation of the recombinant TSSA-II protein of *Trypanosoma cruzi* in dogs and human sera: a tool for epidemiological studies. *Parasitology.* 2011 Jul;138(8):995-1002. doi: 10.1017/S0031182011000540. Epub 2011 Apr.





**Dr. RUBÉN STORINO**  
Programa Federal de Chagas de la Argentina  
Universidad Nacional de La Plata  
La Plata - Argentina  
r\_storino@yahoo.com.ar



Doctor en Medicina (Facultad en Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata - UNLP). Profesor en Ciencias Médicas (Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación, UNLP). Especialista en Cardioangiología (Universidad del Salvador). Médico (UNLP). Profesor Titular de Historia de la Medicina (UNLP), Profesor Adjunto de Humanidades Médicas (UNLP). Coordinador y docente de la Maestría de Salud Pública (UNLP). Docente Universidad Favaloro. Director del Centro de Investigación y Atención Médica Integral de la Enfermedad de Chagas, “Dr. Miguel Jörg” de la Fundación Incalp (La Plata). Coordinador del Consultorio de Enfermedad de Chagas de la Fundación Favaloro (Buenos Aires). Asesor Médico del Programa Federal de Chagas de la Argentina (2006-a la actualidad).

## ASPECTOS SOCIALES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

*Rubén Storino*

La problemática de la enfermedad de Chagas excede el marco bio-psico-social, dado que involucra factores de poder político y económico, por lo cual pasa a constituirse no sólo en una tradicional enfermedad de la pobreza, sino en un paradigma de los mecanismos de ocultamiento y exclusión como forma de exclusión social y laboral. En esta realidad intervienen varios factores a saber: el Estado, los investigadores, los médicos, los portadores serológicos chagásicos, los enfermos chagásicos, la sociedad, los medios de comunicación y la industria farmacéutica. Todos contribuyen en alguna medida a mantener cierta indiferencia en solucionar definitivamente el problema. El marco dominante es el intento de cada sector por privilegiar sus propios conflictos de intereses, de manera tal que se excluye una tarea comunitaria conjunta en la que los saberes y poderes están al servicio de los indigentes, marginados y desposeídos sociales que sufren esta enfermedad.

El Estado ocupándose a través de sus funcionarios en minimizar el problema, los investigadores con su actitud de priorizar sus becas y subsidios, los médicos desinteresándose por una enfermedad que afecta a pacientes pobres, los portadores serológicos chagásicos ocultando su situación por sus experiencias de exclusión laboral, los enfermos chagásicos desprotegidos del sistema de seguridad social, la sociedad indiferente, los medios de comunicación ausentes, y la industria farmacéutica desertando de la investigación de nuevos fármacos por la escasa rentabilidad, forman el abanico del fracaso, constituyéndose en factores determinantes de la perpetuación de esta enfermedad. La enfermedad de Chagas en el siglo XXI se encuentra condicionada por cuatro paradigmas que son: 1). parcelación del conocimiento, 2). enfermedad de la pobreza, 3). estigmatización y discriminación, y 4). enfermedad ocultada. Estos deben ser los ejes de análisis para comprender la complejidad del problema y salir de la unidimensionalización, reemplazándola por el abordaje holístico del conjunto de factores heterogéneos involucrados pero inseparablemente asociados.

La superación de la parcelación del conocimiento supone que los saberes sobre el *Trypanosoma cruzi*, triatomíneos, epidemiología, inmunología, laboratorio, clínica y terapéutica no solo se integren para conocer mejor la enfermedad sino que se interrelacionen para terminar con el ocultamiento de las realidades de esta endemia y para rechazar toda forma de discriminación y estigmatización que genera el Chagas. El desafío es que paralelamente a las acciones de control del vector y el estudio de la enfermedad se deberán llevar a cabo estrategias de desarrollo económico sustentable. Debe encararse una tarea conjunta, en la que las acciones se implementen en medidas concretas que fortalezcan el desarrollo y la participación de la comunidad, involucrando también a otras ciencias como la antropología, la sociología, la ecología, la psicología, la política y la economía, abarcando todos los niveles de prevención, enfocando la atención médica integral del paciente chagásico, implementando centros de estudio y control de la enfermedad de Chagas en todos sus aspectos, especialmente en la inserción laboral, modificando la situación de marginación y olvido que padecen millones de chagásicos víctimas de una enfermedad de la pobreza, agravada por su ocultamiento.

Por lo tanto, la lucha contra el Chagas deberá enmarcarse dentro de cuatro ideas “fuerza” como son: a). integralidad, b). simultaneidad, c). viabilidad y d). continuidad. Pero para que esto pueda ser posible, el proyecto integral tendrá que apoyarse en cuatro pilares fundamentales, como son I). la lucha contra el vector, II). el diagnóstico de laboratorio, III). la atención médica, y IV). la educación. Esto se logrará si los diferentes actores sociales involucrados junto a las unidades de trabajo se unen dentro de un marco estratégico ecosistémico donde la comunidad, los intelectuales y los políticos tengan como fin común mejorar la situación del Chagas.

### **Referencias**

Storino R. La cara oculta de la enfermedad de Chagas. *Rev Fed Arg Cardiol* 29(1):31-44, 2000.

Storino R. Chagas en el siglo XXI – De la enfermedad a la problemática social – 1ª ed – Buenos Aires: Librería Acadia Editorial, 2010, Cap. 15: 165-176.



**DRA. MARISA TORRES HIDALGO**

Médico Cirujano

Especialista en Parasitología

Magíster en Salud Pública mención Epidemiología

Departamento de Salud Pública y Departamento de Laboratorios Clínicos

Facultad de Medicina

Pontificia Universidad Católica de Chile

marisadelour@gmail.com



Líneas de desarrollo e investigación en Parasitología (epidemiología, clínica y diagnóstico en zoonosis parasitarias), Estudios de Campo en Epidemiología de Enfermedades Transmisibles (ETAs, Influenza), Salud Pública (Adulto Mayor, Hábitat Saludable) y Docencia Universitaria (Formación en Valores, Metodología, Consejería).

## EXPERIENCIAS DE CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS: BANCOS DE SANGRE

*Marisa Torres*

La donación de sangre es una actividad insustituible, siendo la única fuente disponible de sangre para transfusiones en el mundo. La transmisión transfusional de *T cruzi* se conoce desde el año 1952, y es el 2° mecanismo de transmisión en importancia después del vectorial. El protozoo *T. cruzi* es transmisible por transfusión sanguínea, sobreviviendo en condiciones de banco de sangre por 18-21 días. Esta transmisión ha aumentado por la migración rural-urbana de infectados. Estrategias eficientes de control en Bancos de Sangre (BS) en zonas endémicas son: la selección de donantes (encuestas pre-donación y tamizajes serológicos). Se reconocen tres tipos de donantes (reposición, voluntarios y remunerados), el altruista a repetición (DAR) sería el de menor riesgo para transmitir infecciones. La vigilancia epidemiológica (VE) en BS es un proceso regular y continuo que monitorea el comportamiento del fenómeno: magnitud, tendencia, características, para generar políticas sustentables, evaluando impacto de medidas de prevención. Hitos relevantes de la VE en BS son: registro de datos (formularios establecidos), control de calidad de datos (consistencia, pertinencia, exactitud, oportunidad, integridad), extracción, procesamiento, análisis e interpretación de la información, elaboración e interpretación de la información, elaboración de informes epidemiológicos (periódicos), difusión de información para la toma de decisiones y formulación de políticas de salud, monitorear la ejecución de acciones. En BS se realiza prevención 1° (interrupción de transmisión al receptor) y prevención 2° (identificación, notificación a donante infectado, tamizaje de hermanos e hijos (mujer-infectada)). Informar al donante infectado brinda apoyo, contención emocional, promueve el auto cuidado, favorece adherencia a controles y o tratamiento e informa responsabilidad en la transmisión de la enfermedad. El control de transmisión transfusional en BS en zonas endémicas ha mejorado, la mayoría de los países informa cobertura de 100% o cercana. La magnitud de la infección varía según territorio y características de donantes (2007):

País/donantes/cobertura/prevalencia, Bolivia/54.951/99,84/25.3; Chile/238.124/72,28/3.4; México/149.3674/53,31/6.6; Ecuador/144.600/100/4.3/. La proporción de donantes voluntarios por país 2007 es: Argentina 15%; Bolivia 3%; Brasil 39%; Chile 4%; Colombia 10%. El Riesgo de recibir una unidad contaminada con *T cruzi* (PR) y el Riesgo de Infectarse por 10.000 donantes (PI) el año (2007) se estima para Bolivia (PR=0,4), (PI=0,1); Chile (PR=9,4) (PI=1,9) y México (PR=19,1), (PI=3,8). Nuevos retos han surgido con la migración de personas infectadas a zonas no endémicas: hay donantes positivos en más de 23 Estados de EEUU, 1,13% en hospitales de Madrid 2005-06, 1,08% en centros de salud de Andalucía 2007. En América Latina continental, el riesgo de recibir una transfusión positiva para *T. cruzi* era de 1/3.377 donaciones (2005), similar al riesgo observado el 2003 (1 por 3.330 donaciones). El control transfusional depende de la eficacia del tamizaje, de la fiabilidad del resultado (calidad de reactivos, correcta ejecución de técnicas); de la valoración costo/beneficio; de la coordinación de estrategias de distintos ámbitos de control (Personas/Vectorial) y de la implementación de parámetros e indicadores de evaluación de impacto.

## Referencias

- Assal A., Corbi C. 2011. Chagas disease and blood transfusion: An emerging issue in non endemic countries. *Transfusion Clinique et Biologique* 18: 286-291.
- Behrend M., Beltrán M., Restrepo M., Roeger A. 2002. Control de la enfermedad de Chagas en bancos de sangre de Colombia. *Biomédica* 22:39-45.
- Crager S., Price M., Prizes and Parasites: Incentive Models for Addressing Chagas Disease. *Journal of Law, Medicine & Ethics Pharmaceutical Regulations*. Summer 2009 292-3004.
- Castro E. 2009. Chagas's disease: lesson s from routine donation testing. *Transfusion Medicine* 19:16-23.
- Garraud O., Pelletier B., Aznar C. 2008. Why defer blood donor candidates because of an exposure risk to Chagas disease? *Transfusion Clinique et Biologique* 15: 123-128.
- Ministerio de Salud, Gobierno de Chile. Orientaciones para los procesos claves en las enfermedades transmisibles por sangre: Infección por virus hepatitis B, Hepatitis C, HTLV I, enfermedad de Chagas y Sífilis. 2010.
- Moncayo A., Carlos Silveira A. 2009. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 (Suppl 1): 17-30.
- Organización Panamericana de la Salud. Programa Regional para el Control de la Enfermedad de Chagas en América Latina. 2008.
- Rodriguez Coura J., Pinto Días JC. 2009. Organización Panamericana de la Salud, XII Reunión de la Comisión Intergubernamental de la Iniciativa de los Países de Centro América (IPCA) para la Interrupción de la Transmisión Vectorial, Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease-100 years after discovery. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 (Suppl 1): 31-40.
- Schofield C., Jannin J., Salvatella R. 2010. The future of Chagas disease control. *Trends in Parasitology* 22 (12), 583-587.
- Torres M. Donantes de Sangre infectados con *Trypanosoma cruzi*, análisis epidemiológico y ético clínico. Tesis Magíster en Salud Pública mención Epidemiología, Escuela de Salud Pública Universidad de Chile. 1996.
- Velasco-Hernández J. 1994. A Model for Chagas Disease Involving Transmission by Vectors and Blood Transfusion. *Theoretical Population Biology* 46, 1-31.





## **DRA. INÉS ZULANTAY ALFARO**

Profesor Asociado  
Laboratorio Parasitología Básico-Clínico  
Programa Biología Celular y Molecular  
Instituto de Ciencias Biomédicas  
Facultad de Medicina  
Universidad de Chile  
izulanta@med.uchile.cl



Desde el año 1981, su principal línea de investigación es la enfermedad de Chagas, abordando especialmente aspectos diagnósticos y epidemiológicos. Desde el año 1990 aplica en la evaluación de la eficacia del tratamiento de la enfermedad de Chagas crónica diversas metodologías de laboratorio. Formación de post-grado: Magister en Ciencias Biológicas con mención en Parasitología y Doctor en Ciencias. Posee Diplomados en Docencia en Ciencias Biomédicas, Enseñanza Superior y Tecnologías de la Información. Secretaria de la Sociedad Chilena de Parasitología y miembro del grupo de expertos en enfermedad de Chagas del Ministerio de Salud, Chile. Le motiva el trabajo en zonas endémicas y la educación para la salud dirigida a personas con enfermedad de Chagas.

## EXPERIENCIAS DEL LABORATORIO EN LA EVALUACIÓN DE EFICACIA QUIMIOTERAPÉUTICA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA

*Inés Zulantay Alfaro*

La enfermedad de Chagas constituye en la actualidad una parasitosis global que desafía a autoridades de salud, médicos, biólogos, epidemiólogos y bioquímicos, entre otros profesionales. En Chile, si bien se han logrado avances importantes en los últimos años para establecer adecuados protocolos de atención y control del individuo infectado por *Trypanosoma cruzi*, incluidos los aspectos que se relacionan con el tratamiento quimioterapéutico y su posterior seguimiento, podemos señalar que aún no existen suficientes recursos humanos, físicos, técnicos y farmacológicos, que satisfagan las necesidades de la población infectada. En lo que respecta a la evaluación de eficacia con itraconazol (Apt *et al*, 2005) y nifurtimox (Valencia *et al*, 2012) para el tratamiento de la enfermedad de Chagas crónica, nuestro grupo ha aplicado durante los últimos años bajo consentimiento informado, diversas protocolos y herramientas que consideran acciones de formación a profesionales de zona endémica; educación al paciente y consentimiento informado; evaluación clínica y electrocardiográfica (Drs. Werner Apt y Arturo Arribada, respectivamente) que incluye evaluación de factores de exclusión e inclusión; encuesta epidemiológica; caracterización del perfil pre-terapia (serológico, parasitológico y electrocardiográfico); seguimiento post-terapia e información al paciente según resultados preliminares, hasta punto final (concepto a discutir) de la investigación. Bien sabemos que en el paciente con enfermedad de Chagas crónica que ha recibido tratamiento tripanocida, la única herramienta que permite confirmar la cura, es la negativización serológica (Gomes *et al*, 2009). No obstante, también se ha estimado que la persistencia de resultados negativos en pruebas parasitológicas aplicadas durante períodos prolongados post-terapia, en comparación con la condición parasitológica pre-terapia positiva, podría constituir evidencia de la reducción de la parasitemia por debajo del límite de sensibilidad de las herramientas de evaluación aplicadas, lo que podría sugerir (pero no confirmar) ausencia de formas parasitarias circulantes (Gomes *et al*, 2009). Asumiendo el rol que *T. cruzi* tiene en la generación de daño, estos resultados podrían considerarse positivos para el paciente. En cuanto a las herramientas parasitológicas estandarizadas en nuestro laboratorio, según protocolos descritos por otros investigadores, son: PCR convencional en sangre (Britto *et al*, 1993, 1995; Zulantay *et al*, 2004), xenodiagnóstico convencional (XD) (Schenone 1999; Saavedra *et al*, 2013), PCR-XD (Zulantay *et al*, 2007), PCR Tiempo Real (qPCR) en sangre (Schijman *et al*, 2011; Muñoz *et al*, 2013), qPCR-XD (Apt *et al*, 2013; Muñoz *et al.*, 2013); genotipificación en sangre (Solari *et al*, 2001; Coronado *et al*, 2006) y en deyecciones obtenidas de XD (Muñoz *et al*, 2013; Coronado *et al*, 2006). Nuestros resultados han evidenciado que: la simultánea aplicación de más de una técnica parasitológica en individuos no tratados, aumenta la posibilidad de detectar *T. cruzi* (Zulantay *et al*, 2011); X12 es útil como control interno para la reacción de XD-qPCR, pues se demostró que FS-XD no contiene ADN humano después de 30 o más días de la incubación de los triatominos de XD, lo que permite descartar inhibición o falsos negativos (Bravo *et al*, 2012); la aplicación de qPCR permite cuantificar carga por *T. cruzi* en pacientes en seguimiento prolongado (Apt *et al*, 2013); los estudios de genotipificación permiten evidenciar linajes de *T. cruzi* refractarios a tratamiento (Coronado *et al*, 2006); es posible eliminar la fase microscópica del XD convencional para realizar directamente XD-PCR, considerando las ventajas y limitaciones del método (Saavedra *et al*, 2013). Nos encontramos implementando otras metodologías de genotipificación de linajes de *T. cruzi*, si bien ya descritas por otros investigadores como Burgos, Ramírez y otros. Hasta el momento, no tenemos ningún caso de negativización serológica (IFI y ELISA IgG) en el tratamiento con itraconazol (seguimiento 20 años) o nifurtimox (seguimiento 4 años).

FINANCIAMIENTO: Proyectos FONDECYT 1100768-1120382

## References

- Apt W, Arribada A, Zulantay I *et al.* 2005. Itraconazole or allopurinol in the treatment of chronic American trypanosomiasis: the results of clinical and parasitological examinations 11 years post-treatment. *Ann Trop Med Parasitol* 99:733–741
- Apt W, Arribada A, Zulantay I, Rodriguez J, Saavedra M, Munoz A. Treatment of Chagas' disease with itraconazole: electrocardiographic and parasitological conditions after 20 years of follow-up. 2013. *J Antimicrob Chemother* 68 (69): 2164-2169
- Apt W. 2011. Treatment of Chagas disease. In: Telleria J, Tibayrenc Med. American Trypanosomiasis Chagas Disease
- Bravo N, Munoz C, Nazal N, Saavedra M, Martinez G, Araya E, Apt W, Zulantay I. 2012. Real-Time PCR in faecal samples of *Triatoma infestans* obtained by xenodiagnosis: proposal for an exogenous internal control. *Parasite Vectors* 26 (5):59
- Britto C, Cardoso MA, Vanni CMM, Haslocher-Moreno A, Xavier SS, Wincker P 1995. Polymerase chain reaction detection of *Trypanosoma cruzi* in human blood samples as a tool for diagnosis and treatment evaluation. *Parasitology* 110: 241-247
- Britto C, Cardoso MA, Wincker P, Morel CM 1993. A simple protocol for the physical cleavage of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast DNA present in blood samples and its use in polymerase chain reaction (PCR)-based diagnosis of chronic Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 88: 171-172
- Coronado X, Zulantay I, Rozas M, Apt W, Sanchez G, Rodriguez J, Ortiz S, Solari A. 2006. Dissimilar distribution of *Trypanosoma cruzi* clones in humans after chemotherapy with allopurinol and itraconazole. *J Antimicrob Chemother* 58:216-219
- Gomes Y, Lorena V, Luquetti O. 2009. Diagnosis of Chagas disease: what has been achieved? What remains to be done with regard to diagnosis and follow up studies?. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 (Suppl 1): 115-121: 171-172
- Muñoz C, Zulantay I, Apt W, Ortiz S, Schijman A, Bisio M, Ferrada V, Herrera C, Martínez G, Solari A. 2013. Evaluation of Nifurtimox treatment of chronic Chagas disease by means of several parasitological methods. *Antimicrob Agents Chemother* 57 (9): 4518-4523
- Saavedra M, Zulantay I, Apt W, Martínez G, Rojas A, Rodríguez J. Chronic Chagas disease: PCR-xenodiagnosis without previous microscopic observation is a useful tool to detect viable *Trypanosoma cruzi*. 2013. *Biol Res* In press.
- Schenone H. 1999. Xenodiagnosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 289-294
- Schijman AG, Bisio M, Orellana L, Sued M, Duffy T, *et al.* 2011. International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis* 5: e931
- Solari A, Campillay R, Ortiz S, Wallace A. 2001. Identification of *Trypanosoma cruzi* genotypes circulating in Chilean chagasic patients. *Exp Parasitol* 97(4):226-33
- Valencia C, Mancilla M, Ramos D *et al.* 2012. Tratamiento de la enfermedad de Chagas crónica en Chile. Efectos adversos de nifurtimox. *Rev Ibero-Latinoam Parasitol* 71:97–108
- Zulantay I, Apt W, Gil LC, Rocha C, Mundaca K, Solari A, Sanchez G, Rodriguez C, Martinez G, De Pablos LM, Sandoval L, Rodriguez J, Vilchez S, Osuna A. 2007. The PCR-based detection of *Trypanosoma cruzi* in the faeces of *Triatoma infestans* fed on patients with chronic American trypanosomiasis gives higher sensitivity and a quicker result than routine xenodiagnosis. *Ann Trop Med Parasitol* 101(8):673-679
- Zulantay I, Apt W, Valencia C, Torres A, Saavedra M, Rodriguez J, Sandoval L, Martinez G, Thieme P, Sepulveda E. 2011. Detection of *Trypanosoma cruzi* in untreated chronic chagasic patients is improved by using three parasitological methods simultaneously. *J Antimicrob Chemother* 66(10):2224-2226
- Zulantay I, Honores P, Solari A, Apt W, Ortiz S, *et al.* 2004. Use of polymerase chain reaction (PCR) and hybridization assays to detect *Trypanosoma cruzi* in chronic chagasic patients treated with itraconazole or allopurinol. *Diagn Microbiol Infect Dis* 48:253–257



## DATOS DE CONTACTOS

1.....

.....

2.....

.....

3.....

.....

4.....

.....

5.....

.....

6.....

.....

7.....

.....

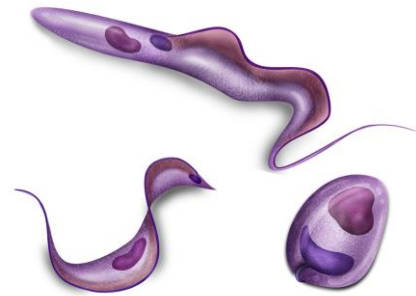
8.....

9.....

10.....

11.....

12.....



*Trypanosoma cruzi*  
Edición Texto Inés Zulantay-Werner Apt  
Octubre 2013

La impresión de este texto recibió el financiamiento  
de los Proyectos Fondecyt Chile 1120382 y 1100768

