

7° Congreso Argentino de Infectología Pediátrica
Córdoba, 3, 4 y 5 de abril de 2014

Mesa Redonda

Logros y nuevas propuestas de Enfermedad de Chagas

5 de abril de 8:30 a 10:00 hs

*Diagnóstico de Laboratorio
de la
Enfermedad de Chagas*

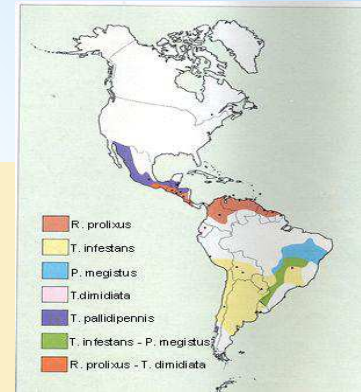
Miriam Cristina Martín García

Bioquímica - Magister en Microbiología Molecular

Programa Nacional de Chagas



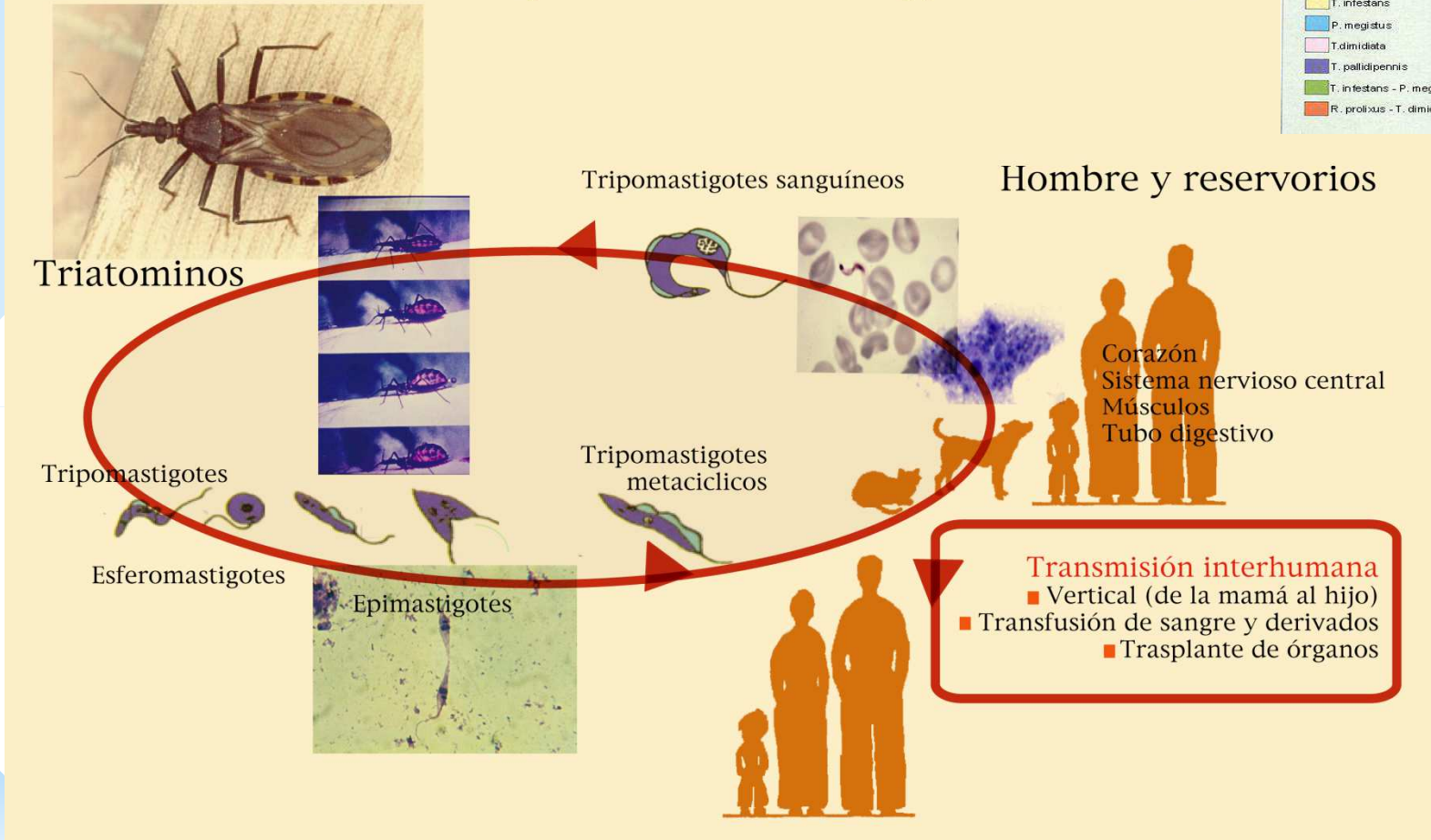
Ministerio de Salud
PRESIDENCIA DE LA NACION
Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos



Ciclo de vida y transmisión del *Trypanosoma cruzi*

INTERMEDIARIO

DEFINITIVO



América Latina: 20 millones en riesgo
11 millones infectados
Argentina: 1.600.000 infectados

Diagnóstico de la Infección por Trypanosoma cruzi

Control y tratamiento de la enfermedad de Chagas

Medidas de control de la endemia

Transmisión vectorial

Detección de la madre Chagásica y seguimiento del recién nacido

Estudios poblacionales en áreas endémicas

Control obligado de la sangre donada para transfusiones

Pacientes Inmunocomprometidos

Pacientes con transplantes de órgano

Acci. de Trabajo con material contaminado con *T. cruzi*

* *NORMAS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA INFECCION DE CHAGAS*

**Ley 22360 (1980) Revisadas y Actualizadas/05 (aprobadas R. M. N° 1870/06)
(INP "Dr Mario Fatała Chaben, CENDIE y Servicio Nacional de Chagas)**

**LEY 26281 - SALUD PUBLICA - CHAGAS
(Sancionada: 8/08/07, Promulgada: 4/09/07, Publicada en B.O.: 5/09/07)**

ARTICULO 4° - Es obligatoria la realización y la notificación de las pruebas diagnósticas establecidas según Normas Técnicas del Ministerio de Salud, en toda **mujer embarazada, en los **recién nacidos**, **hijos de madres infectadas**, de las mismas madres y, en general, en **niños y niñas al cumplir los SEIS (6) y DOCE (12) años de edad**, según establezca la autoridad de aplicación. **Son obligatorios los controles serológicos en donantes y receptores de órganos, tejidos y de sangre a transfundir.** Los análisis deben ser realizados por establecimientos sanitarios público y privados de todo el territorio nacional, de acuerdo con normas técnicas de diagnóstico del Ministerio de Salud. **En ningún caso los resultados de los exámenes que se practiquen pueden constituir elemento restrictivo para el ingreso a los establecimientos educativos y cursos de estudios.** La serología reactiva solo se considera a los fines preventivos y de tratamiento que establece la presente ley, debiéndose dar Cumplimiento a la Ley N° 25.326, de protección de los datos personales.**

ARTICULO 5° - Prohíbese realizar reacciones serológicas para determinar la infección chagásica a los aspirantes a cualquier tipo de empleo o actividad.

ARTICULO 7° — Los establecimientos sanitarios oficiales deben practicar sin cargo alguno, los exámenes a que se refiere el artículo 4°, así como el tratamiento antiparasitario específico, evitando toda acción dilatoria. Los establecimientos de la seguridad social y las entidades de medicina prepaga deben reconocer en su cobertura los tests diagnósticos y el tratamiento de la enfermedad.

ARTICULO 8° — Los resultados de los exámenes establecidos en el artículo 4° son registrados en un certificado oficial de características uniformes en todo el país que debe establecer la autoridad sanitaria nacional y ser entregado sin cargo a la persona asistida o controlada. En los casos considerados como enfermedad profesional será entregado por la aseguradora de riesgo de trabajo.

ARTICULO 10. — Todo posible dador de sangre o de tejido u órgano que tenga conocimiento o sospecha de padecer o haber padecido infección chagásica, debe ponerlo en conocimiento del servicio al que se presente.

*** NORMAS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA
INFECCION DE CHAGAS**

**LEY 26279 “Régimen para la detección y posterior tratamiento
de determinadas patologías en el recién nacido.”
(Sancionada: 8/08/07, Promulgada: 4/09/07, Publicada en B.O.: 5/09/07)**

ARTICULO 1º — A todo niño/a al nacer en la República Argentina se le practicarán las determinaciones para la detección y posterior tratamiento de fenilcetonuria, hipotiroidismo neonatal, fibrosis quística, galactocemia, hiperplasia suprarrenal congénita, deficiencia de biotinidasa, retinopatía del prematuro, **CHAGAS y SIFILIS; siendo obligatoria su realización y seguimiento en todos los establecimientos públicos de gestión estatal o de la seguridad social y privados de la República en los que se atiendan partos y/o a recién nacidos/as.**

Normativas Vigentes



**Normas de Diagnóstico para
la Infección por *T cruzi***
R. M. N° 523/97
Actualmente en revisión

DUPLAS SEROLOGICAS

- HAI-ELISA
- HAI-IFI
- ELISA-IFI
- ELISA-APG

Sensibilidad: 98-99%

**Guía para la Atención al Paciente
Infectado por *Trypanosoma cruzi***
Revisadas en Nov. 2011 y Julio 2012
Aprobación x R.M. en trámite

TRATAMIENTO ETIOLOGICO

- BENZNIDAZOL 5-7 mg/Kg/día
- NIFURTIMOX 8-12 mg/Kg/día



* Normas de Diagnóstico para la infección de Chagas

Métodos serológicos

Métodos parasitológicos

Chagas agudo

X

X

Transmisión materno - infantil

Antes del primer mes

X

A partir de 10 meses

X

Chagas asintomático crónico

X

Control de los donantes de sangre y de la sangre a transfundir

X

Detección de la Infección en pacientes inmunosuprimidos

• Dador

X

Receptor

X

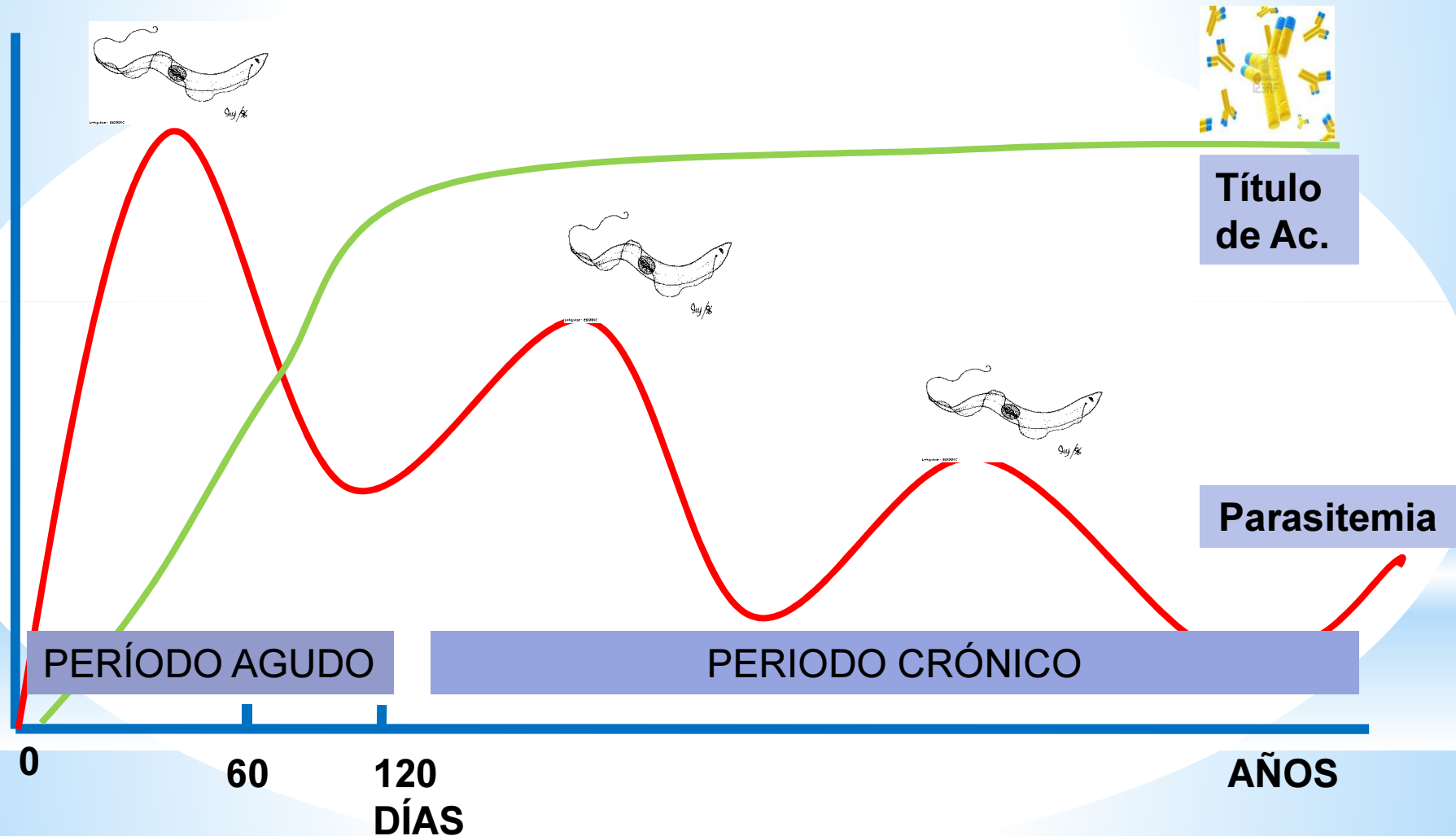
X

• HIV

X

X

* EVOLUCIÓN PARASITOLÓGICA Y SEROLÓGICA EN PERSONAS CON INFECCIÓN POR *T. Cruzi*





Métodos de Diagnóstico de Laboratorio

Parásitos

Métodos
Parasitológicos

Anticuerpos

Métodos
Inmunoserológicos

***INFECCION por *Trypanosoma cruzi*: FASE AGUDA**



Ministerio de Salud
PRESIDENCIA DE LA NACION
Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

Métodos parasitológicos



Demostración directa de parásitos

SANGRE

TEJIDOS

Concentración

- Micrométodos de capilares (Sensibilidad: 95%)
- Micrométodo del INP (Sensibilidad: 95%)
- Strout (Sensibilidad: 95%)

- 1. Biopsias de lesiones cutáneas
- 2. Biopsias de ganglio linfático

Tubo Eppendorf

una gota de heparina
+
0,5 ml de sangre
venosa



mezclar por inversión

centrifugar
1 minutos a 3000 rpm



tomar una gota
de la interfase
(glóbulos blancos)

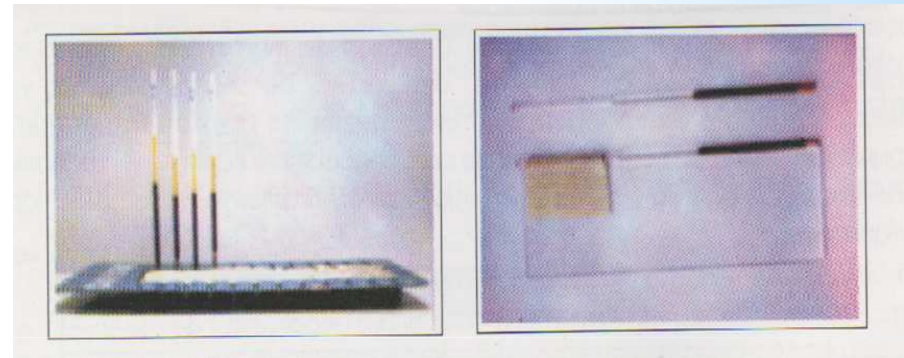


Métodos de concentración

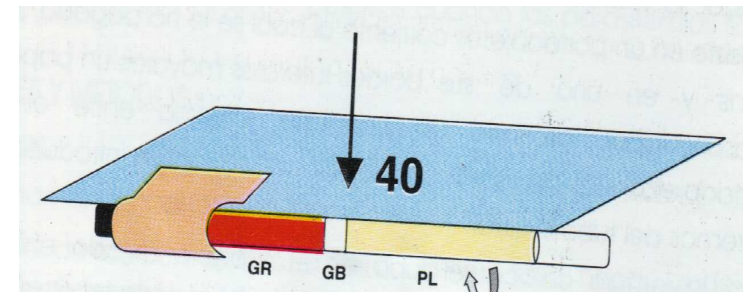
Tubos Capilares

La sangre se coloca en tubos
capilares heparinizados.

Centrifugar 5' - 8000 a 12000 rpm



Cortar en la interfase
(glóbulos blancos)



Trypomastigotes metacíclicos

Leer al microscopio con 400 aumentos durante 30 minutos cada
preparado. Se debe realizar cuatro preparado por paciente.

MÉTODO DE STROUT



10 mL de
Sangre venosa
Retraer el coágulo
espontáneamente

Separar el
suero



Centrifugar el
suero 2' a 800 rpm



Separar
sobrenadante

Centrifugar el
sobrenadante
10' - 2000-
2500 rpm



Observar el sedimento entre
porta y cubreobjetos a 40x en
guarda griega (6-8 preparados)



Métodos parasitológicos

Demostración indirecta de parásitos

Enriquecimiento

Hemocultivo
S: 99.7% < 20%

Xenodiagnóstico
S: 100% 50-52%

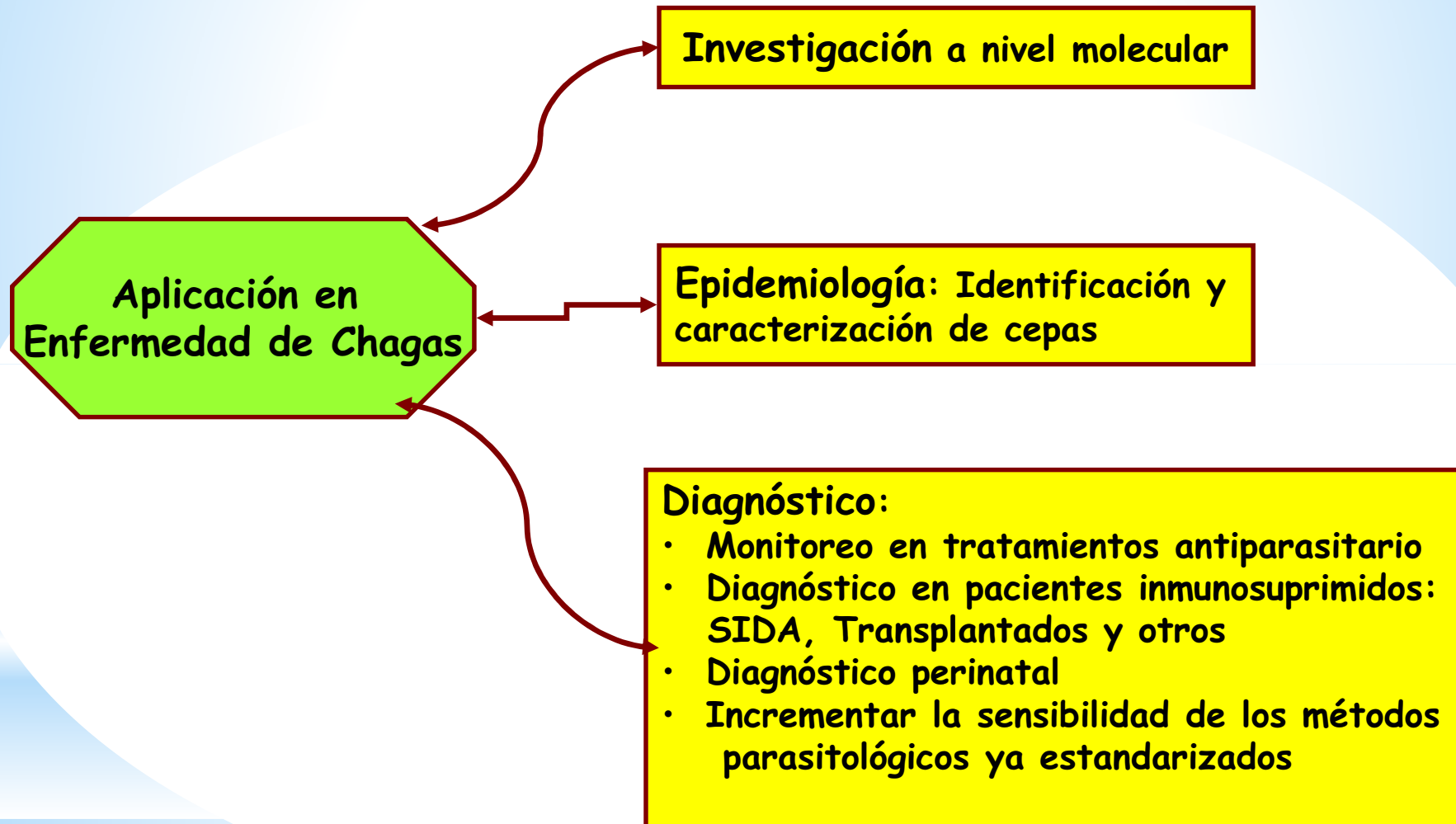
Amplificación

PCR (Reacción en cadena por ADN polimerasa)

Sangre con Guanidina
Niños: <1 año: 0,5ml
entre 1 a 3: 1ml
> de 3 años: 2 a 5 ml
Adultos: 5 a 10 ml

Primers satelitales
Niños <1 año: Tcz1/Tcz2
> de 1 año y adultos:
primers derivados de
kinetoplasto (121/12) x baja
parasitemia

Reacción en Cadena por ADN Polimerasa PCR en la Enfermedad de Chagas



Transmisión congénita del *Trypanosoma cruzi*
Validación y transferencia al sistema sanitario nacional de PCR, para el diagnóstico temprano de la infección congénita. Ruiz AM y Col 2012.

DATOS NO PUBLICADOS



Tasa de transmisión. Datos preliminares

N: 434 RN

Global: 3,5% (15/434)

Con Riesgo: 3,7% (14/377)

Sin Riesgo: 1,7% (1/57)

Sensibilidad PCR: ~90%

Valor de PCR: predictivo (infección o reactivación)



Pruebas Rápidas

- reacción diagnóstica inmunocromatográfica de tamizaje (Ac anti *T. cruzi*)
- Argentina, México y Honduras (abril 2011 hasta diciembre 2012)
- Proyecto coordinado x INP
Maternidad Nuestra Señora de la Merced (Tucumán)
Mtras. Sangre total de RN (hijo de madres + p/ *T. cruzi*)
- Evaluar sensibilidad y especificidad del ensayo

Resultados

Test	Sensitivity	IC 95%	Specificity	IC 95%	Kappa value
OnSite Chagas Ab Rapid test-Cassette®	86,7%	81,78 - 90,39	92,7%	88,67 - 95,41	0,793
WL check-Chagas	85,4%	80.39 - 89.3	96,6%	93.54 - 98.26	0,819
Instantest Chagas	75,7%	69.6 - 80.8	76,0%	69,9 - 81.4	0,517
Trypanosoma detect Dipstick Test®	87,9%	83.19 - 91.45	95,7%	92.31 - 97.66	0,836
Chagas QuickTest	85,4%	80.39 - 89.32	95,3%	91.78 - 97.36	0,806
Chagas Stat-Pak®	82,9%	77.65 - 87.1	95,7%	92.25 - 97.6	0,784
Immu-Sure Chagas	14,8%	10.78 - 19.95	95,7%	92.3- 97.6	0,105
SD-Bioline Chagas	92,5%	88.4 - 95.1	94,9%	91.25 – 97	0,873
Simple Chagas WB	81,8%	76 - 86	69,7%	63.1 - 75.5	0,516
Serodia-Chagas®	92,8%	88.8 - 95.4	95,7%	92.3 - 97.6	0,885
InmunoComb® II	96,3%	93-98	95,7%	92.3-97.6	0,92

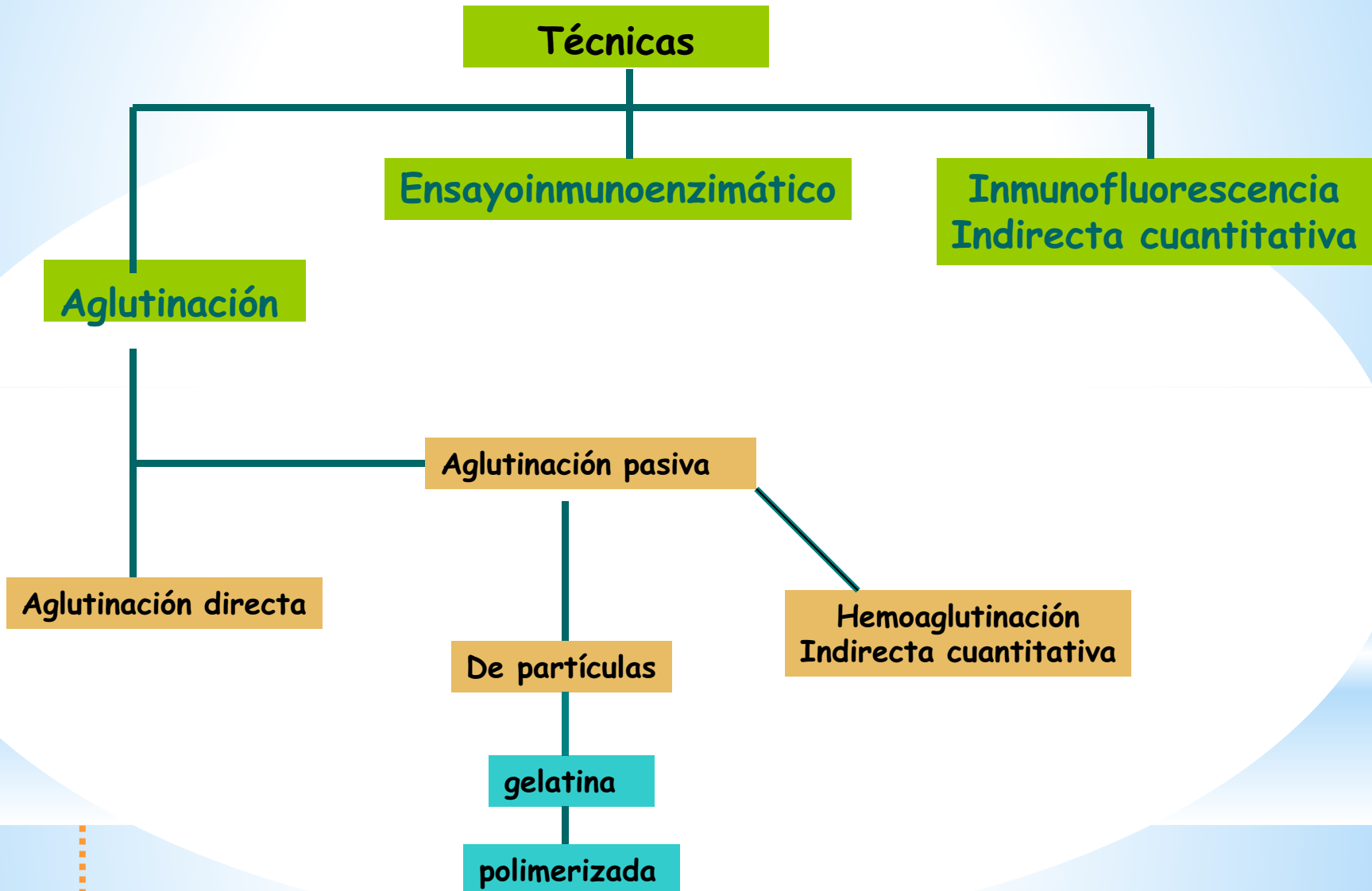
Sánchez C y col. Manuscrito en preparación

***INFECCION por *Trypanosoma cruzi*: FASE CRONICA**



Ministerio de Salud
PRESIDENCIA DE LA NACION
Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

Métodos serológicos



ANTIGENOS



REACCIONES DE AGLUTINACION:

- Suspensión de formas epimastigotes de cultivo de *T. cruzi*
- Sobrenadante de un lisado crudo total de epimastigote de *T. cruzi*
- Péptidos de la secuencia antigénica del *T. cruzi*

ENZIMOINMUNOENSAYO:

- Moléculas solubles obtenidas por ruptura de los parásitos enteros
- Purificados por dist. medios (ac. monoclonales, fracciones celulares)
- Técnica de ADN recombinante a partir de proteínas específicas de los estadios epimastigote y tripomastigote del *T. cruzi*

INMUNOFLUORESCENCIA:

- Epimastigote de cultivo axénicos tratados con formol



Duplas serológicas

HAI-ELISA

HAI-IFI

ELISA-IFI

ELISA-APG

Sensibilidad: 98,0- 99,5%

CERTIFICADO OFICIAL de REACCIONES SEROLOGICAS y PARASITOLOGICAS
PARA DETERMINAR INFECCION por *T. cruzi*

Ley Nacional N° 26281

Certificado N°:.....

LABORATORIO

Nombre del Organismo, Dirección y Teléfono

Dependencia Oficial u organización Privada

DATOS PERSONALES

Apellido y Nombre:..... **Edad:**.....

Tipo y Número de Documento de Identidad:.....

INMUNODIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Pruebas Serológicas efectuadas

(dupla)

Resultados:

(Rvo. con títulos obt.
o No reactivo)

Interpretación de los resultados: El Inmunodiagnóstico se considerara reactivo cuando el suero da resultados reactivos Por lo menos en dos pruebas serológicas.

DIAGNOSTICO PARASITOLOGICO

Métodos Empleados

Resultados

Día, mes y año en que se efectuó el análisis

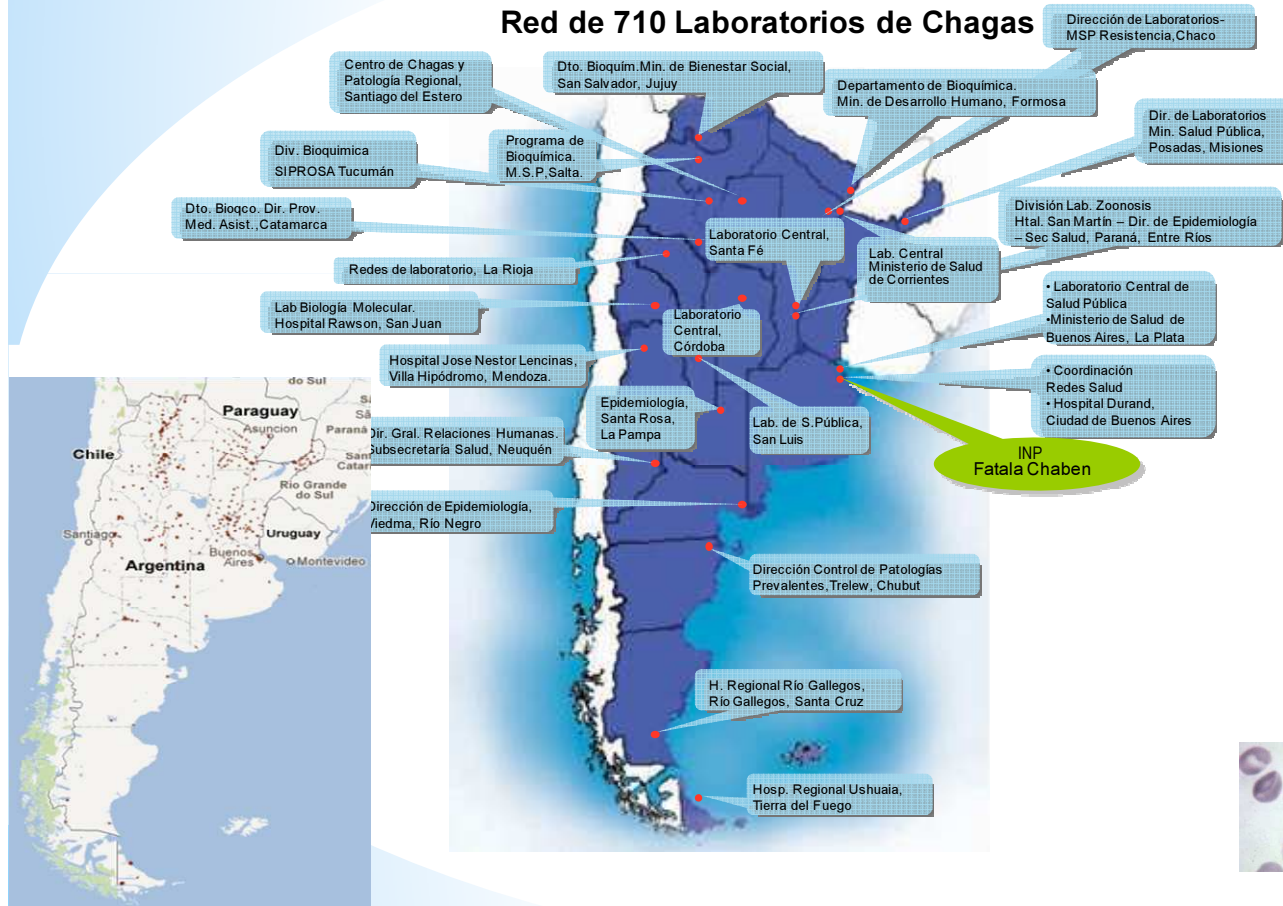
Firma, sello aclaratorio con nombre y matrícula del profesional responsable.

RED DE LABORATORIOS DE DIAGNOSTICO: 710 LABORATORIOS

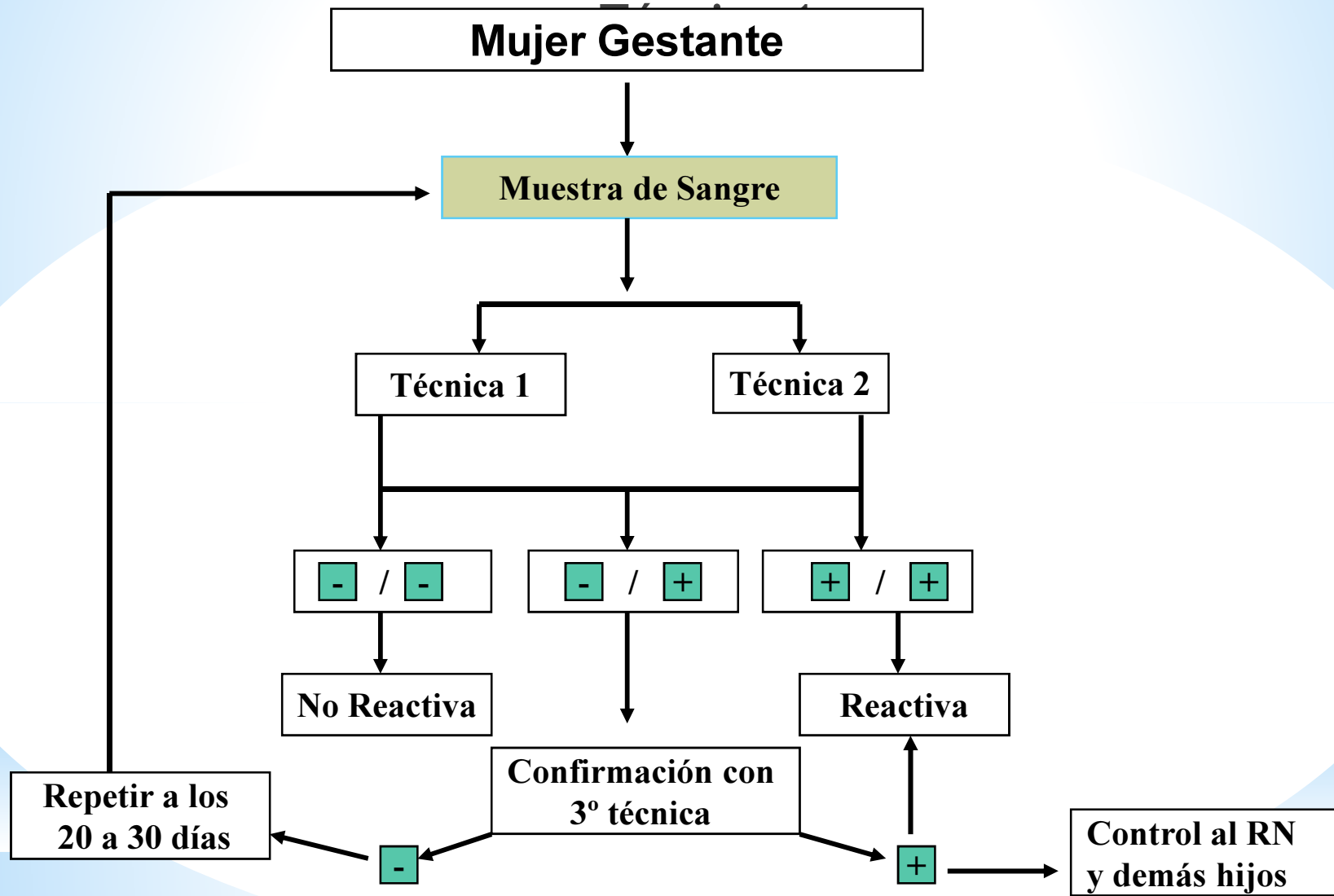
- CONTROL DE CALIDAD
- CONTROL DE TRANSMISION POR TRANSFUSIONES. MODELO PARA OTRAS INFECCIONES
- COORDINACION NACIONAL PARA ESTUDIOS DE PRECONSCRIPTOS

Programa de Control de Calidad del Diagnóstico
INP – Dr. Mario Fatała Chabén – ANLIS-ARGENTINA

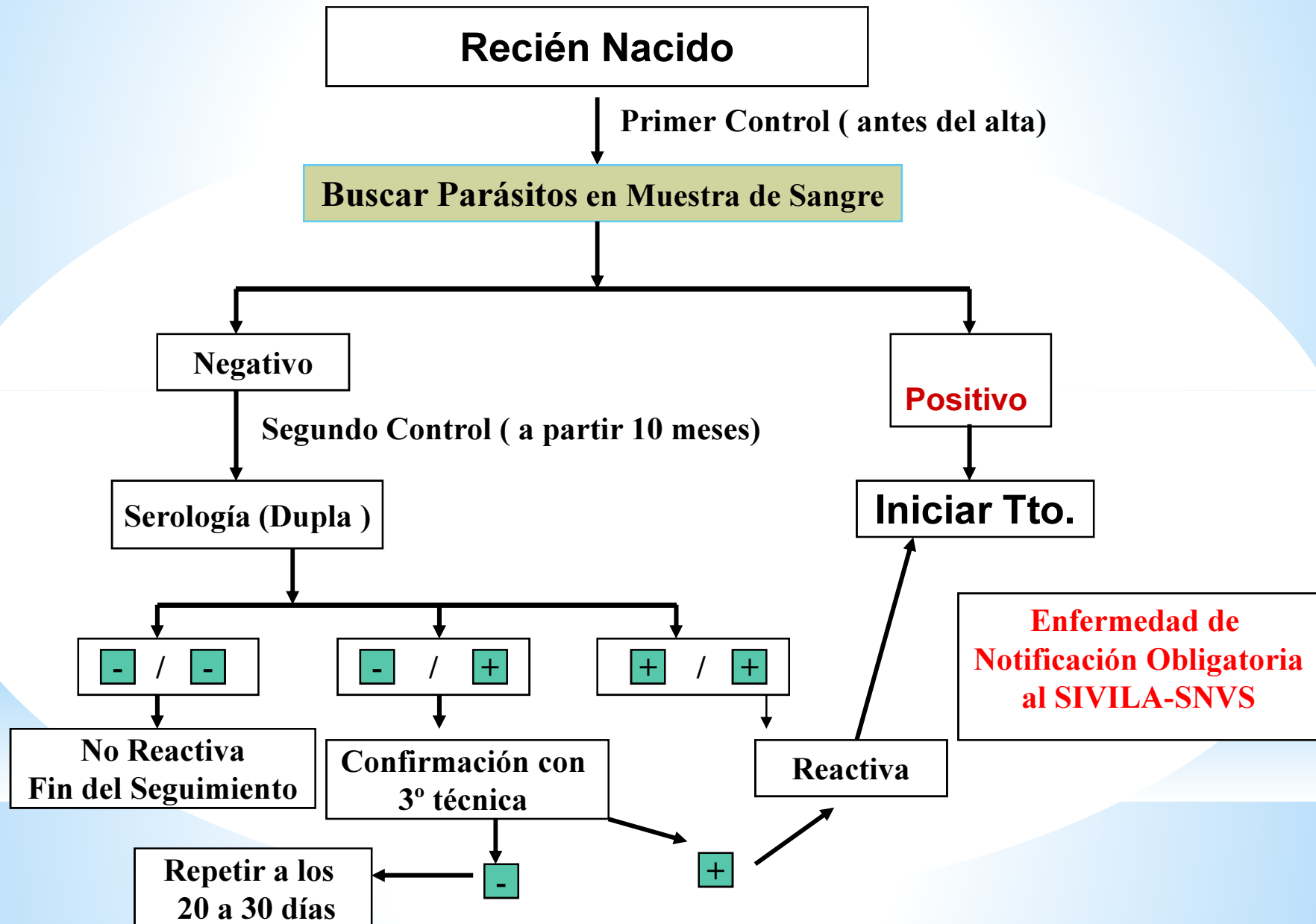
Red de 710 Laboratorios de Chagas



* *Algoritmo en la Mujer Gestante*



* *Algoritmo en el Recién Nacido, hijo de madre chagásica*



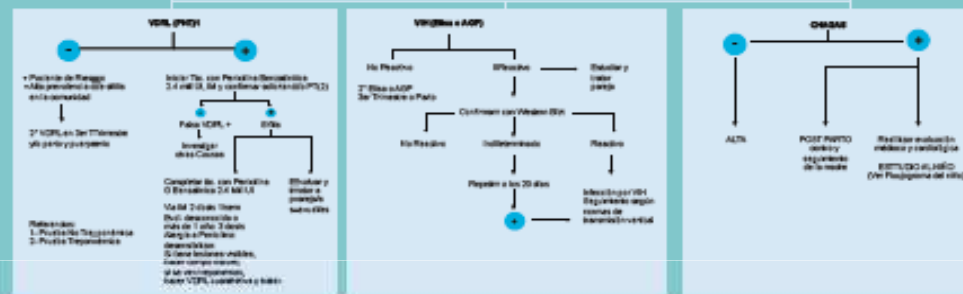
RECOMENDACIONES NACIONALES PARA LA PREVENCIÓN DE LA TRANSMISIÓN VERTICAL DEL VIH, SÍFILIS Y CHAGAS

Aprovechemos las oportunidades

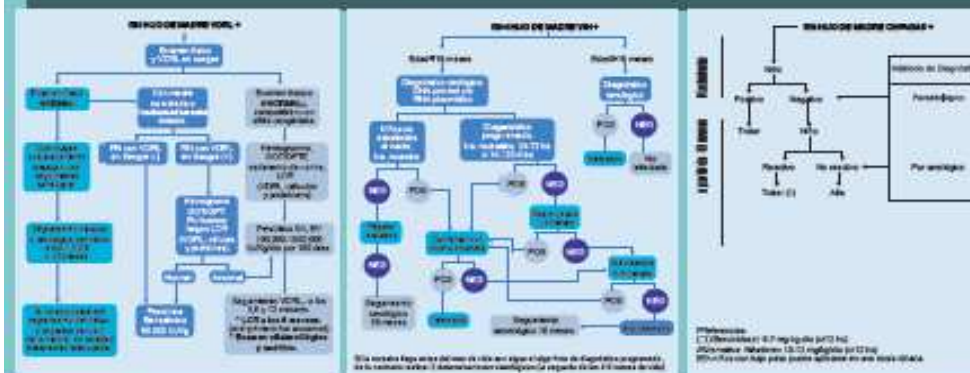
Mujer embarazada

1er Trimestre o 1a consulta: Asesoramiento, solicitud de VDRL, serología para Chagas y serología para VIH

Realización de análisis:
VIH y VDRL y CHAGAS



Recién nacido



PLAN FEDERAL DE SALUD

Preguntas, consultas o informes en tu derecho:
0800-222-1000
línea gratuita y costo de local
www.msaf.gov.ar

Dirección de Ginecología y ETS
la salud es un compromiso de todos

UN FARMACIA COMUNITARIA
UN FARM COMUNITARIA

Ministerio de Salud
Protección Civil

*MUCHAS GRACIAS