

Osतेba

OSASUN
TEKNOLOGIEN
EBALUAZIOA

EVALUACIÓN DE
TECNOLOGÍAS
SANITARIAS



EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO

OSASUN SAILA
DEPARTAMENTO DE SALUD

INFORME DE EVALUACIÓN

D-13-02

SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI* EN MUJERES LATINOAMERICANAS EN EDAD FÉRTIL Y EN EL EMBARAZO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DEL PAÍS VASCO

Proyecto de Investigación Comisionada

Octubre 2012

INFORME DE EVALUACIÓN

D - 13-02

SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI* EN MUJERES LATINOAMERICANAS EN EDAD FÉRTIL Y EN EL EMBARAZO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DEL PAÍS VASCO

Proyecto de Investigación Comisionada

Octubre 2012

Cisterna Cancer, Ramón
Liendo Arenzana, Paloma
Ezpeleta Lobato, Guillermo
Avila Arzanegui, Olatz
Basaras Ibarzabal, Miren

EUSKO JAURLARITZA



GOBIERNO VASCO

OSASUN SAILA

DEPARTAMENTO DE SALUD

Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia

Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco

Vitoria-Gasteiz, 2013

Un registro bibliográfico de esta obra puede consultarse en el catálogo de la Biblioteca General del Gobierno Vasco: <http://www.bibliotekak.euskadi.net/WebOpac>

Financiación: Beca de Investigación Comisionada 2006. Departamento de Sanidad. Gobierno Vasco. N° Expediente 2006/08.

Este documento debe ser citado como:

Cisterna R, Liendo P, Ezpeleta G, Avila O, Basaras M. *Seroprevalencia de la infección por Trypanosoma cruzi en mujeres latinoamericanas en edad fértil y en el embarazo en la Comunidad Autónoma del País Vasco*. Investigación Comisionada. Departamento de Salud. Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz. 2013. Informe nº Osteba D-13-02.

El contenido de este documento refleja exclusivamente la opinión de las personas investigadoras, y no son necesariamente compartidas en su totalidad por quienes han realizado la revisión externa o por el Departamento de Salud del Gobierno Vasco.

Edición: 1ª. Abril 2013

Tirada: 80 ejemplares

© Administración de la Comunidad Autónoma del País Vasco
Departamento de Salud

Internet: www.osanet.euskadi.net/osteba/es

Edita: Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia
Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco
Donostia-San Sebastián, 1 - 01010 Vitoria-Gasteiz

Fotocomposición: EPS-comunicación • www.eps-grupo.com

Impresión y encuadernación: EPS-comunicación • www.eps-grupo.com

ISBN: 978-84-457-3290-8

D.L: VI-305/2013

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

Investigador principal

Ramón Cisterna Cancer. Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario Basurto. Bilbao (Bizkaia).

Miembros del equipo de investigación

Mercedes Sota Busselo. Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario Basurto. Bilbao (Bizkaia).

Paloma Liendo Arenzana. Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario Basurto. Bilbao (Bizkaia).

Guillermo Ezpeleta Lobato. Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario Basurto. Bilbao (Bizkaia).

Valentín Esteban Gutiérrez. Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario Basurto. Bilbao (Bizkaia).

Josefina López de Munain. Servicio de enfermedades infecciosas. (Area ETS). Hospital Universitario Basurto. Bilbao (Bizkaia).

María del Mar Cámara Pérez. Servicio de enfermedades infecciosas. (Area ETS). Hospital Universitario Basurto. Bilbao (Bizkaia).

Mikel Goitia Ibarra. Obstetricia y Ginecología. Ambulatorio Santutxu. Bilbao (Bizkaia).

Alfredo Calleja Perales. Obstetricia y Ginecología. Ambulatorio Santutxu. Bilbao (Bizkaia).

Roberto González Moreno. Obstetricia y Ginecología. Ambulatorio Santutxu. Bilbao (Bizkaia).

Eduardo García Gimeno. Obstetricia y Ginecología. Ambulatorio Santutxu. Bilbao (Bizkaia).

Colaboradores

Olatz Avila Arzanegui. Hospital Universitario Cruces. Barakaldo (Bizkaia).

Miren Basaras Ibarzabal. Facultad de Medicina UPV/EHU. Leioa (Bizkaia).

Agradecimientos

Por la colaboración en la recogida de muestras y selección de pacientes queremos agradecer a los siguientes servicios clínicos e instituciones:

- A los Servicios de Ginecología y Obstetricia de los Hospitales Universitarios de Cruces y de Basurto.
- Al Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario de Cruces.
- A Médicos del Mundo de Bizkaia.
- A la Unidad de ETS del Servicio de Microbiología Clínica y Control de la Infección del Hospital Universitario de Basurto.

Revisión externa

D. Raúl Ortiz de Lejarazu Leonardo. Servicio de Microbiología e Inmunología. Hospital Clínico Universitario. Valladolid.

Coordinación y gestión administrativa del Proyecto en Osteba

Asun Gutiérrez Iglesias, Ana Belén Arcellares. Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias, Osteba. Departamento de Salud del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz (Araba/Álava).

Declaración de conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses en relación con este informe.

ÍNDICE

RESÚMENES ESTRUCTURADOS	9
1. INTRODUCCIÓN	17
2. DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS	29
3. OBJETIVOS	35
4. METODOLOGÍA	39
5. RESULTADOS	47
6. CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS. ESTRATEGIAS PRESENTES ACTUALES Y FUTURAS	53
7. SEROPREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS: LATINOAMÉRICA	71
8. SITUACIÓN EN BANCOS DE SANGRE	89
9. EMBARAZADAS	117
10. REVISIÓN SOBRE LAS DISTINTAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS	135
11. DESCRIPCIÓN INDIVIDUAL DE LAS MUJERES SEROPOSITIVAS	153
12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	167
BIBLIOGRAFÍA	173
ANEXOS.	187
Anexo I. Seroprevalencia en los diferentes países	189
Anexo II. Seroprevalencia en donantes	199
Anexo III. Seroprevalencia en embarazadas	207
Anexo IV. Diagnóstico serológico	213
Anexo V. Diagnóstico por PCR.....	217
Anexo VI. Bases metodológicas	219

RESÚMENES ESTRUCTURADOS

RESUMEN ESTRUCTURADO

Título: SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI* EN MUJERES LATINOAMERICANAS EN EDAD FÉRTIL Y EN EL EMBARAZO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DEL PAÍS VASCO

Autores: Cisterna R, Liendo P, Ezpeleta G, Avila O, Basaras M.

Palabras clave MeSH: *Trypanosoma cruzi*, enfermedad de Chagas, seroprevalencia, estudios seroepidemiológicos, PCR

Otras palabras Clave: PCR a tiempo real

Fecha: octubre 2012

Páginas: 236

Referencias: 167

Lenguaje: castellano, resúmenes en castellano, euskera e inglés

ISBN: 978-84-457-3290-8

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es una zoonosis endémica de Sudamérica causada por *Trypanosoma cruzi*. Este parásito infecta a 8-10 millones de personas y se transmite principalmente por insectos vectores, pero en ocasiones también puede producirse por transmisión congénita y trasfusional.

La infección transplacentar puede ocurrir en cualquier fase de la infección materna. La infección congénita implica, a 2-10 % de los niños nacidos de madres infectadas. La gravedad de esta infección es variable y puede incluso, producir la muerte fetal. Los niños nacidos pueden sufrir hepatoesplenomegalia, meningoencefalitis, miocarditis y severas manifestaciones gastrointestinales. En el diagnóstico se utilizan métodos directos e indirectos. La presencia de anticuerpos en el suero se demuestra por: fijación del complemento, aglutinación directa, hemaglutinación indirecta, inmunofluorescencia, y enzimo-inmunoensayo. *Trypanosoma cruzi* contiene DNA nuclear y del cinetoplasto, ambos contienen muchas secuencias repetitivas, ideales para la detección por PCR.

El screening de anticuerpos frente *T. cruzi* durante el embarazo puede proporcionar una intervención temprana (administración de fármacos anti-parasitarios) en la enfermedad de Chagas congénita.

OBJETIVOS

- Estimar la prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en mujeres en edad fértil oriundas de zonas endémicas de tripanosomiasis americana, así como la detección de ADN del parásito, empleando la reacción en cadena de la polimerasa.
- Establecer la correlación entre los resultados obtenidos mediante el empleo de las dos técnicas anteriormente citadas (PCR y serología).
- Determinar con los resultados obtenidos si la enfermedad de Chagas cumple los criterios necesarios para la realización de un programa global o por países debido a la diferente prevalencia.
- Conocer la epidemiología de la enfermedad en nuestro medio en mujeres latinoamericanas en edad fértil.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diagnóstico indirecto: dos técnicas ELISA (una con antígenos recombinantes) e IFI. Diagnóstico directo: PCR a tiempo real con sonda de hidrólisis.

Búsqueda bibliográfica en Ovid MEDLINE de *T. cruzi* o *Chagas disease con seroprevalence o antibodies y con PCR* desde 1980 hasta mayo de 2011.

Análisis económico: SI NO Opinión de Expertos: SI NO

RESULTADOS

La prevalencia de la infección por *T. cruzi* en inmigrantes latinoamericanas mujeres en edad fértil fue del 18,89 % (51 casos confirmados por dos técnicas). Esta prevalencia tan elevada se explica en parte por la composición de la muestra estudiada, ya que en nuestra muestra de la población hay un peso importante de las mujeres bolivianas ya que representa el 54,8 % de la muestra estudiada y son las que mayor prevalencia de la enfermedad tiene en su población de origen.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Cribado universal de todas las mujeres latinoamericanas embarazadas en cualquier momento de la gestación o incluso en el mismo momento del parto.
- Identificación de los recién nacidos a riesgo (madre seropositiva).
- Tratamiento de la madre: transcurrido el periodo de lactancia.
- Cribado serológico de los hijos previos instaurando el tratamiento apropiado si se confirma la infección por el parásito.
- Información general. Al igual que en otras estrategias destinadas a evitar la transmisión de patógenos, es importante que las personas de riesgo y el personal sanitario estén informados y concienciados.

LABURPEN EGITURATUA

Izenburua: *TRYPANOSOMA CRUZI*-GATIKO INFEKZIOAREN SEROPREBALENTZIA, EAEN, ADIN EMANKORREAN ETA HAURDUN DAUDEN EMAKUME LATINOAMERIKARRETAN.

Egileak: Cisterna R, Liendo P, Ezpeleta G, Avila O, Basaras M.

MeSH gako-hitzak: *Trypanosoma cruzi*, Chagas-en gaixotasuna, seroprebalentzia, ikerketa seroepidemiologikoak, PCR

Beste gako-hitz batzuk: PCRa denbora errealean

Data: 2012ko Urria

Orrialdeak: 236

Erreferentziak: 167

Hizkuntza: gaztelania; laburpena gaztelaniaz, euskaraz eta ingelesez

ISBN: 978-84-457-3290-8

SARRERA

Chagas-en gaixotasuna zoonosi endemiko bat da, Hego Amerikakoa, *Trypanosoma cruzi*-k sortua. Parasito horrek 8-10 milioi lagun infektatzen ditu. Intsektu bektoreen bidez transmititzen da, nagusiki, baina, zenbaitetan, baita sortzetiko transmisio bidez eta transfusio bidez ere.

Karenaren zeharreko infekzioa ama infektatuta dagoen edozein fasetan gerta daiteke. Sortzetiko infekzioa izaten dute infektatutako ametatik jaiotako haurren % 2-10ek. Infekzioaren larritasuna ez da beti berdina izaten, eta zenbaitetan fetuaren heriotza ere eragin dezake. Infekzio hori dutela jaiotako haurrek izan ditzakete hepatoesplenomegalia, meningoentzefalitisa, miokarditisa eta agerpen gastrointestinal gogorrak. Diagnostikorako zuzeneko eta zeharkako metodoak erabiltzen dira. Hau egiten da serumean antigorputzak daudela frogatzeko: osagarria finkatu, zuzeneko aglutinazioa, zeharkako hemaglutinazioa, immunoantesia, eta entzimoimmunoentsegua. *Trypanosoma cruzi*-k DNA nuklearra eta kinetoplastokoa ditu; biek dituzte sekuentzia errepikakor asko, PCR bidez atzemateko ezin hobeak.

Haurdunaldian *T. cruzi*-ri aurre egiteko antigorputzen screening-a egiteak sortzetiko Chagas-en gaixotasunean garaiz esku hartzeko aukera ematen du (parasitoen kontrako botikak ematea).

HELBURUAK

- Infekzioaren prebalentzia balioestea adin emankorrean egon eta jatorriz Amerikako tripanosomiasia dagoen eremu endemikoetakoak diren emakumeetan, bai eta parasitoaren DNA atzematea ere, polimerasaren kate-erreakzioaren bidez.
- Aurretik aipatutako bi teknikak erabilia (PCRa eta serologia) lortutako emaitzen arteko korrelazioa zein den ezartzea.
- Lortutako emaitzen arabera erabakitzea ea Chagas-en gaixotasunak betetzen dituen beharrezko irizpideak programa global bat egiteko edo herrialdekako programa bat egiteko, bestela, prebalentzia desberdina duelako.
- Gure inguruan gaixotasunak duen epidemiologia zein den ezagutzea, adin emankorrean dauden Latinoamerikako emakumeetan.

MATERIALA ETA METODOAK

Zeharkako diagnostikoa: bi ELISA teknika (bat, antigeno birkonbinatuekin) eta IFI. Zuzeneko diagnostikoa: PCRa denbora errealean hidrolisi zunda bidez.

Bilaketa bibliografikoa Ovid MEDLINE: *T. cruzi* o *Chagas disease con seroprevalence o antibodies y con PCR*, 1980tik 2011ko maiatzera.

Analisi ekonomikoa: BAI



Adituen iritzia: BAI



EMAITZAK

% 18,89 izan da *T. cruzi*-gatiko infekzioaren prebalentzia adin emankorreetan dauden emakume latinoamerikar etorkinetan (51 kasu egiaztatu bi tekniken bidez). Prebalentzia handi hori azaltzeko kon-tuan hartu behar da aztertutako lagina nola osatu den; izan ere, guk aztertutako populazio-laginean garrantzi handia izan dute emakume boliviarrak, aztertutako laginaren % 54,8 izan baitira, eta horiek dira, hain zuzen ere, jatorriko populazioan gaixotasunaren prebalentzia handiena dutenak.

ONDORIOAK ETA GOMENDIOAK

- Haurdun dauden emakume latinoamerikar guztiei baheketa egitea haurdunaldiko edozein unetan edo erditzean bertan ere bai.
- Jaioberriek arriskua duten identifikatzea (ama seropositiboa).
- Ama tratamenduan jartzea: edoskitze-aldia igaro ondoren.
- Aurretik dituzten seme-alabei baheketa serologikoa egitea, eta tratamendu egokia jartzea, baldin eta parasito horrek infektatuta daudela egiaztatzen bada.
- Informazio orokorra. Patogenoen transmisioa saihestera zuzendutako beste estrategia batzuetan bezala, garrantzitsua da arriskuan dauden pertsonak eta osasun-arloko langileak ondo informatuta eta kontzientziatuta egotea.

STRUCTURED SUMMARY

Title: SEROPREVALENCE OF *TRYPANOSOMA CRUZI* INFECTION IN LATIN AMERICAN WOMEN OF FERTILE AGE AND DURING PREGNANCY IN THE AUTONOMOUS COMMUNITY OF THE BASQUE COUNTRY

Authors: Cisterna R, Liendo P, Ezpeleta G, Avila O, Basaras M.

Key words MeSH: *Trypanosoma cruzi*, Chagas disease, seroprevalence, seroepidemiological, PCR

Other keywords: Real-time PCR

Date: October, 2012

Pages: 236

References: 167

Language: Spanish, abstracts in Spanish, Basque and English

ISBN: 978-84-457-3290-8

INTRODUCTION

Chagas disease is a zoonosis endemic to South America caused by *Trypanosoma cruzi*. This parasite infects 8-10,000,000 people and is mainly transmitted by vector insects, but on occasions congenital and transfusion transmission may occur.

Transplacental infection may occur during any stage of the maternal infection. Congenital infection affects 2-10 % of children born of infected mothers. The seriousness of this infection is variable and may even cause the foetus to die. Children born to these mothers suffer from hepatosplenomegaly, meningoencephalitis, myocarditis and several gastrointestinal manifestations. Direct and indirect methods are used in the diagnosis. The presence of antibodies in serum is demonstrated by: complement fixing, direct agglutination, indirect haemagglutination, immunofluorescence and enzyme immunoassay. *Trypanosoma cruzi* contains nuclear and kinetoplast DNA, and both contain a large number of repetitive sequences, ideal for PCR detection.

The screening of *T. cruzi* antibodies during pregnancy may provide an early intervention (administration of antiparasitic drugs) in congenital Chagas disease.

AIMS

- Estimate the prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in women of fertile age from American trypanosomiasis-endemic zones, as well as the detection of parasite DNA, using the polymerase chain reaction.
- Establish the correlation between the results obtained by using both of the aforementioned techniques (PCR and serology).
- Determine from the results obtained whether Chagas disease complies with the necessary criteria for carrying out a global programme or by country due to the different prevalence.
- Determine the epidemiology of the disease in our environment among Latin American women of fertile age.

MATERIALS AND METHODS

Indirect diagnosis: two ELISA techniques (one with recombinant antigens) and IF. Direct diagnosis: real-time PCR with hydrolysis probe.

Bibliographical search in MEDLINE Ovid of *T. cruzi* or *Chagas disease with seroprevalence or antibodies and with PCR* from 1980 to May, 2011.

Economic analysis: YES NO **Expert opinion:** YES NO

RESULTS

The prevalence of *T. cruzi* infection in immigrant Latin American women of fertile age was 18.89 % (51 confirmed cases using two techniques). This high prevalence can be explained in part by the composition of the sample studied, as in our population sample there is a high proportion of Bolivian women as they represent 54.8 % of the sample studied and are the women that have the highest prevalence of the disease in their source population.

CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

- Universal screening of all pregnant Latin American women at any stage of gestation and even at the moment of birth itself.
- Identification of newborn children at risk (seropositive mother).
- Treatment of the mother: following the breastfeeding stage.
- Serological screening of previous children, establishing the appropriate treatment if the infection by the parasite is confirmed.
- General information. As in other strategies implemented with the intention of preventing the transmission of pathogens, it is important to inform and create a sense of awareness both among those persons at risk and health professionals.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. INTRODUCCIÓN. REVISIÓN DE LA TRIPANOSOMIASIS AMERICANA

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una enfermedad parasitaria originaria del continente americano. Carlos Chagas la describió a principios del siglo XX, y ha sido –y es– uno de los retos de salud pública más importantes de América Latina (53).

El ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi* incluye a un insecto vector (insecto triatomídeo o reduvido) y un huésped mamífero. En la naturaleza, *T. cruzi* se transmite vectorialmente a través de diversas especies de chinches triatominos. Los seres humanos son simplemente huéspedes que se infectan cuando los insectos adoptan la residencia en las grietas y agujeros de la madera de las casas de los humanos. Por lo tanto, la tripanosomiasis es fundamentalmente un problema de salud pública entre personas pobres que viven en áreas rurales. Los vectores infectados defecan durante o inmediatamente después de la alimentación; el parásito, que está presente en gran número en el excremento de los estos chinches, entra en el cuerpo humano por la herida de la mordedura, la conjuntiva u otra membrana mucosa. No obstante, se han descrito otros mecanismos de transmisión no vectorial a través de productos sanguíneos, el trasplante de órganos, la transmisión vertical y la transmisión oral por la ingestión de alimentos contaminados con heces de los chinches infectados.

Actualmente, la enfermedad de Chagas afecta a unos 10-12 millones de personas en el mundo. Su distribución geográfica se extiende desde el sur de Estados Unidos en América del Norte, al sur de Argentina y Chile, afectando en total a 21 países americanos. El proceso de urbanización en América Latina y el flujo de la población migrante de estas áreas hacia Norteamérica y Europa, especialmente España, ha provocado la aparición de esta enfermedad en zonas donde la infección no es endémica y hasta hace poco era prácticamente desconocida.

1.2. ASPECTOS CLÍNICOS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

La infección por *T. cruzi* tiene una fase aguda inicial con duración de varias semanas, y una fase crónica que persiste por la vida del huésped.

La infección en el hombre se inicia cuando los tripanosomas, incapaces de atravesar la piel intacta, entran en el organismo a través de excoriaciones de la piel o a través de las mucosas, invadiendo inmediatamente las células hospedadoras. Dentro de las células, los tripomastigotes pierden su flagelo y se redondean formando amastigotes, los cuales se multiplican intracelularmente por fisión binaria. Cuando los amastigotes casi llenan la célula, se transforman en tripomastigotes procíclicos, los cuales son liberados a los espacios intersticiales y al torrente sanguíneo, rompiendo la célula. Durante esta fase inicial el parásito se multiplica rápidamente ya que no hay ni reacción inflamatoria alrededor de las células parasitadas, ni una respuesta inmune específica. Los parásitos se diseminan a través de la circulación (tripanosomas con forma de C (78)), pudiendo infectar todo tipo de células nucleadas, sin embargo, tienen marcada preferencia por células musculares cardíacas, macrófagos, neuronas y tejido glial (células de soporte del sistema nervioso). La ruptura de las células parasitadas provoca una intensa respuesta inflamatoria que, en casos severos, causan miocarditis aguda, destrucción de ganglios autonómicos del tracto gastrointestinal y meningoencefalitis. El ciclo de vida se cierra cuando un triatomino no infectado se alimenta de un animal con tripanosomas circulando (21).

Con el desarrollo de inmunidad humoral y celular, el número de parásitos en sangre y en los tejidos disminuye dramáticamente, hasta no ser detectables con los métodos usuales de diagnóstico. A pesar de la aparición de la respuesta inmune, las personas permanecen infectadas de por vida con parásitos tanto en sangre como en los tejidos. La mayoría de los individuos infectados crónicamente permanecen asintomáticos, y el daño tisular se limita a pequeños focos de inflamación y de fibrosis con pérdida limitada de los ganglios autonómicos (21).

La infección aguda, habitualmente asintomática, es más frecuente en niños, y en caso de manifestaciones clínicas (fiebre, hepatomegalia, esplenomegalia, astenia, y también meningoencefalitis en huéspedes sensibles o inmunodeprimidos) es obligada una actuación médica urgente. El diagnóstico se realiza en menos del 10 % de los casos y la mayoría (>95 %) se recuperan espontáneamente. Se considera que la edad media de infección en las áreas de transmisión intensa es de alrededor de cuatro años y en una encuesta el 85 % de los casos agudos ocurrieron en menores de 10 años.

La infección aguda da paso a una fase clínicamente latente en un 60 % de los casos (forma crónica indeterminada) que dura entre 10-30 años y es en la que se encuentran la mayoría de los afectados.

Entre el 30-40 % de estos pacientes desarrollaran la fase crónica de la enfermedad que lleva alteraciones más graves. Las manifestaciones cardiológicas de la enfermedad son las formas más características: miocardiopatía dilatada e insuficiencia cardiaca secundaria, trastornos de la conducción (taquiarritmias o bradiarritmias), provocando en algunos casos la muerte súbita del paciente, que ocasionalmente es la primera manifestación clínica de la enfermedad. Las alteraciones digestivas de la enfermedad de Chagas también son características de la enfermedad crónica. Se observan en el 15-20 % de las personas afectadas. Son debidas a alteraciones en los plexos nerviosos del tracto digestivo, manifestándose en forma de alteraciones de la motilidad, secreción y absorción del esófago, intestino delgado y colon llegando en ocasiones a provocar megaesófago y megacolon graves. Cuando coexiste coinfección por VIH y en el caso de los pacientes inmunodeprimidos, el curso de la enfermedad puede ser más severo y suelen presentar parasitemias más elevadas, con afectación del Sistema nervioso central (SNC) así como con mayor frecuencia de miocarditis.

Las tablas 1.1 y 1.2 resumen los hallazgos clínicos, inmunológicos, parasitológicos y de patogénesis más relevantes de la enfermedad de Chagas.

Tabla 1.1. Teorías de la patogénesis en la enfermedad de Chagas

Teoría	Inmunidad antiparasitaria	Patología	Concepto de enfermedad	Mecanismo de lesión celular	Modelo experimental
Persistencia parasitaria	-	Parasitismo tisular	Ruptura mecánica + inflamación	Ruptura de las células parasitadas	Mamífero
Neurogénica	Adquirida	Pérdida de las neuronas no infectadas	Lisis + toxina	Neurotoxina parasitaria (no demostrado en <i>T. cruzi</i>)	Mamífero
Autoinmune	Adquirida	Pérdida de las células dianas no infectadas	Lisis autoinmune dependiente de antígeno parasitario	Reacción cruzada debido a similitud molecular	Mamífero
	Innata		Eliminación autoinmune de las células diana inducida por el parásito	Citotoxicidad clonal	Aves

Traducido y modificado de Teixeira y cols. (152)

Tabla 1.2. Hallazgos clínicos, inmunológicos y patológicos en la enfermedad de Chagas

Forma clínica	Síntomas	Parasitemia en sangre	Detección serológica	Marcador molecular	Hallazgos clínicos y patológicos
Aguda	Asintomática (95 %) Síntomática (5 %)	Positiva	IgM e IgG	ADN nuclear	Amastigotes en los tejidos. Miocarditis, meningitis y encefalitis
Intermedia	Asintomática	Negativa	IgG	ADN nuclear	Lesión inflamatoria mínima en el corazón. Estudio de parásitos en los tejidos negativo
Crónica					
Corazón	Arritmias, bradicardia y cardiomegalia	Negativa	IgG	ADN nuclear	Hipertrofia cardíaca, miocarditis. Ausencia de parásitos en las lesiones. Infiltrado linfocitario
Aparato digestivo	Dilatación del esófago y/o del colon	Negativa	IgG	ADN nuclear	Aumento del grosor de la pared del esófago y del colon. Lisis de las neuronas por linfocitos T citotóxicos
Síndromes neuroendocrinos	Insuficiencia cardíaca. Síntomas digestivos	Negativa	IgG	ADN nuclear	Cardiotoxicidad por catecolaminas. Lisis de neuronas y miocitos
Congénita					
Ausencia de enfermedad	Asintomática	Negativa	Positivo/Negativo	ADN nuclear	Infección latente en ausencia de clínica
Enfermedad cardíaca	Insuficiencia cardíaca	Negativa	Positivo/Negativo	ADN nuclear	Hipertrofia cardíaca, miocarditis
Enfermedad digestiva	Dilatación del esófago y/o del colon	Negativa	Positivo/Negativo	ADN nuclear	Megaesófago. Megacolon. Destrucción de neuronas

Traducido y modificado de Teixeira y cols. (152)

Representa un importante problema de salud pública en los países de Latinoamérica, siendo responsable de entre 20.000 y 30.000 muertes al año (55)

1.3. ENFERMEDAD DE CHAGAS CONGÉNITA

El plan de lucha contra el vector y las mejoras en los controles de los hemoderivados impulsado por la Iniciativa del Cono Sur por parte de la OMS, ha posibilitado disminuir la incidencia de casos nuevos en áreas rurales y los producidos por transfusiones. Pero, por otro lado, el fenómeno migratorio creciente desde zonas rurales hacia áreas urbanas que durante los últimos años ocurre en toda América latina ha cambiado el patrón epidemiológico tradicional de la enfermedad de Chagas provocando su urbanización (98). A pesar de que la imposibilidad de emplear el tratamiento parasiticida a las mujeres infectadas en edad reproductiva no permite evitar la aparición permanente de nuevos casos congénitos, éstos presentan una curación cercana a la totalidad si el tratamiento se establece en los primeros meses de vida. Derivado de este hecho se desprende la necesidad de implementar sistemáticamente tanto en áreas urbanas como rurales el estudio de todos los hijos nacidos de madre afectada con esta enfermedad en cualquier fase de la misma.

Los primeros casos de infección congénita por *T. cruzi* fueron registrados en 1911 por Carlos Chagas (23) quien observó dos recién nacidos con crisis convulsivas que fallecieron a los seis y ocho días de vida y cuyas autopsias revelaron la presencia del parásito. En 1949, Dao describe el hallazgo del *T. cruzi* en sangre en un recién nacido de dos días de vida en Venezuela. En Argentina no se describieron los primeros casos hasta 1953 por Jörg y Romaña en 1953. Posteriormente, en Chile, Howard publica los primeros casos de enfermedad de Chagas congénita (70), mientras que en 1959 Rezende y Bittencourt describen los primeros casos en Brasil.

Todas estas descripciones se basaban en pacientes que presentaban importantes manifestaciones clínicas, lo que hizo presumir, en un primer momento, que la enfermedad de Chagas congénita generaba importante morbilidad. Durante la década de los 70, Bittencourt y cols., demostraron el hallazgo del *T. cruzi* en la anatomía patológica de fetos y mortinatos, lo que vino a dar fuerza a la hipótesis anterior (13). Fue sólo a partir de los trabajos prospectivos, realizados en los 80 y 90 en los cuales se estudiaron todos los hijos nacidos de madres con serología positiva, cuando se comprobó que la mayor parte de los neonatos infectados son asintomáticos (47).

1.3.1. Epidemiología de la enfermedad de Chagas congénita

Estudios previos realizados durante las décadas de los 80 y 90 sobre la *infección en embarazadas* muestran que la prevalencia en áreas urbanas y rurales de países latinoamericanos oscilaban entre el 4 y el 52 % (47). La mayoría de las embarazadas infectadas no presentan síntomas o signos atribuibles a la enfermedad de Chagas. En un estudio clásico, realizado por Votta y cols, durante la década de los 70, sólo un 10 % de las gestantes presentó bloqueo de rama derecha, sin ningún síntoma asociado (15). Esta ausencia de manifestaciones clínicas y electrocardiográficas de la enfermedad de Chagas en las gestantes podría deberse a que la edad de mayor fertilidad es inferior a los 30 años y, sin embargo, la aparición de las manifestaciones cardiológicas asociadas a la enfermedad de Chagas rara vez aparecen por debajo de los 40 años (47).

Por otro lado, las tasas de infección materna por *T. cruzi* son extremadamente variables según las diferentes fuentes bibliográficas; varían desde un 51 % en zonas de Bolivia hasta un 5,5 % en zonas de Argentina. La tasa de transmisión congénita en madres infectadas es asimismo heterogénea según los estudios y zonas geográficas. La incidencia oscila entre el 0,7 % y el 10 % con una media del 3 %. La incidencia en los recién nacidos infectados se estima en 15.000 casos/año.

Otro dato importante al revisar de manera detallada la bibliografía es que tanto el *estudio que se realiza a las mujeres embarazadas como la detección de la transmisión del parásito a sus hijos son inadecuados*. Por ejemplo, en México, se comunicó por primera vez un caso de enfermedad de Chagas congénita en 1998, lo que sugiere que algunos países endémicos para esta enfermedad no generaron medidas adecuadas para su control y estudio.

Además, datos recientes de prevalencia de la enfermedad de Chagas en la población latinoamericana que emigró a países de áreas no endémicas, tales como Europa y EE.UU, mostraron que el 2 % de las mujeres latinoamericanas residentes en Berlín estaban infectadas (46), mientras que dicha proporción fue del 0,4 % en un estudio similar realizado en Houston (EEUU) (36). En otro estudio reciente realizado en España, la prevalencia de infección por enfermedad de Chagas en pacientes embarazadas se sitúa en un 1,82 % (122), muy similar a la descrita en Berlín. Los estudios expuestos y otros más realizados a lo largo de la última década en población latinoamericana inmigrante, sugieren la necesidad de realizar el estudio de los niños nacidos de madres latinoamericanas infectadas, que residen en zonas no endémicas.

1.4. LA TRANSMISIÓN TRANSPLACENTARIA

La infección transplacentar puede ocurrir en cualquier fase de la enfermedad maternal, aunque el riesgo es mayor en la fase aguda por el gran número de parásitos circulantes (parasitemia alta) que en la fase crónica (oligoparasitemia), en la que la enfermedad suele ser asintomática. La severidad de la infección de Chagas

congénita es variable y puede causar retraso en el crecimiento intraútero, deformaciones, abortos, mortinatos. Sin embargo, la mayoría de los recién nacidos infectados estarán asintomáticos o tendrán síntomas inespecíficos como bajo peso al nacer, precocidad, o bajo Apgar. Otros signos incluyen hepatoesplenomegalia, anemia, y trombocitopenia. Manifestaciones más severas, incluyendo miocarditis, meningoencefalitis, y la distres respiratorio, no son comunes pero conllevan un alto riesgo de mortalidad.

La infección congénita se puede repetir en cada embarazo y se ha observado agrupación familiar en los casos congénitos.

Existen pocos estudios de la transmisión vertical de *T. cruzi* en zonas no endémicas, algunos de ellos citados anteriormente.

1.5. DIAGNÓSTICO

En la fase aguda, el nivel de parasitemia es alto, y tripomastigotes móviles se descubren a menudo por microscopía de los preparados frescos de sangre anticoagulada o de capa leucocitaria. La parasitemia disminuye a los 90 días de la infección, aún sin tratamiento, y es indetectable por microscopía en la fase crónica. Sin embargo, parasitemias de bajo nivel en individuos crónicamente infectados son suficientes para la transmisión por transfusiones de sangre, transplantes, de madre-a-hijo, o vía vectorial. El diagnóstico de enfermedad crónica Chagas se basa en métodos serológicos, (ELISA, ELISA modificado o con antígenos recombinantes, inmunofluorescencia, hemaglutinación indirecta, inmunocromatografía). Pueden ocurrir reacciones cruzadas con otros kinetoplastidos, con algunos parásitos intracelulares o con enfermedades bacterianas (malaria, toxoplasmosis, paracoccidiomicosis, tuberculosis, lepra, sífilis y pénfigo) y con algunas situaciones autoinmunes (artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, etc.) aunque presentan títulos bajos (44).

La identificación del parásito por microscopía, hemocultivo, o la reacción en cadena de polimerasa (PCR) proporcionan el diagnóstico definitivo de enfermedad Chagas. Sin embargo, la sensibilidad de los dos primeros métodos está limitada por el nivel de parasitemia, y un resultado negativo no excluye el diagnóstico. La PCR es posiblemente la técnica parasitológica más sensible en el Chagas crónico, pero su práctica no exime de utilizar las pruebas serológicas.

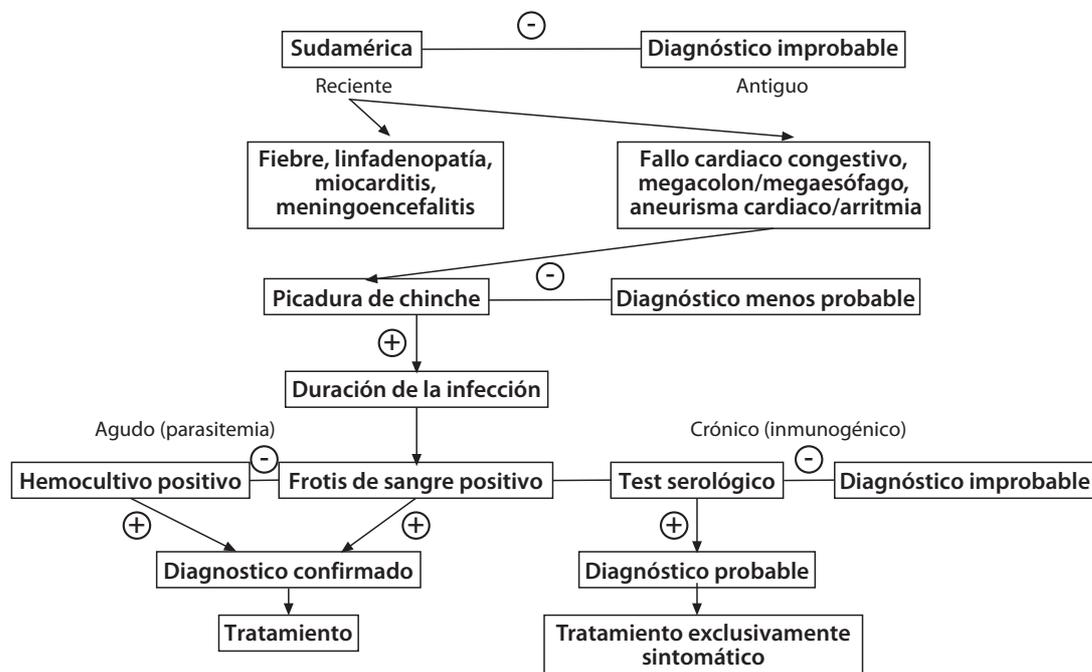


Figura 1.1. Pasos en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas

Los programas para identificar la infección congénita se basan en el diagnóstico serológico de las madres infectadas, seguido de examen microscópico y PCR de sangre de cordón, sangre periférica, o ambas de los recién nacidos durante los 1-2 primeros meses de vida. Si los resultados de pruebas de parasitológicas son negativos o si las pruebas no se realizan en una fase temprana de la vida, el niño debería ser testado mediante ELISA y la prueba de anticuerpos inmunofluorescentes a la edad de 9-12 meses, después de que el nivel de anticuerpos maternos ha disminuido. Este hecho es particularmente importante desde el punto de vista diagnóstico, ya que aunque los métodos parasitológicos convencionales son muy sensibles detectando infección neonatal, el número de parásitos es a menudo muy bajo para ser detectado. Todos los hijos de madres infectadas deberían testarse.

1.6. TRATAMIENTO

Los autores no se ponen muy de acuerdo con las indicaciones de tratamiento, pero en el mercado sólo hay dos fármacos para tratar de erradicar a *T. cruzi* de nuestro organismo. Con la cantidad de bibliografía disponible nos ha parecido más adecuado presentar aquí lo que Bern y cols. (9) sugieren.

1.6.1. Indicaciones para la Terapia Antitripanosomal

Los dos medicamentos actualmente en uso son nifurtimox y benznidazol: estas formulaciones únicamente matan las formas circulantes de *T. cruzi* y se utilizan para el tratamiento primario de la enfermedad aguda, que puede pasar desapercibida por su presentación no específica. El tratamiento durante la fase crónica no tiene a menudo éxito. Los efectos adversos son frecuentes, pero por lo general se resuelven al suprimir el tratamiento.

Teixeira y cols. (152) en una reciente revisión sobre enfermedad de Chagas indican que el tratamiento de *T. cruzi* con los fármacos actualmente disponibles no previenen la aparición cardiomiopatía inflamatoria en la enfermedad de Chagas crónica en fase tardía. Estos autores sugieren que esta observación aunada a la falta de un fármaco que sea parasiticida condiciona el tratamiento efectivo de la enfermedad y, por tanto, es necesario adquirir más conocimientos sobre la posible relación entre huésped y el parásito, así como los distintos mecanismos implicados en la patogénesis de la enfermedad.

En esta misma revisión (152) los autores sugieren que el tratamiento de la enfermedad de Chagas humano requiere politerapia, a fin de eliminar la infección críptica (latente) y prevenir de esta manera el rechazo en los órganos diana. Es por ello que, en el mismo documento se indique la necesidad de disponer de un tratamiento parasiticida sin efectos secundarios. Los autores describen diversos estudios realizados en modelos animales, sugieren la posibilidad de que la transfusión de médula ósea de un donante sano a un paciente con enfermedad de Chagas crónica pudiera tener utilidad clínica y terapéutica en seres humanos.

No obstante, basándonos en la literatura actual, las recomendaciones para la terapia antitripanosomal varían dependiendo de la fase y la forma de enfermedad de Chagas y por la edad del paciente y son clasificadas basándose los estándares de calidad de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América. Bern y cols. recomiendan la terapia farmacológica en todos los casos de infección aguda y congénita, infección reactivada, y en niños menores de 18 años con la infección crónica por *T. cruzi* (Ver Tabla 1.3).

Tabla 1.3. **Recomendaciones para Tratamiento con Fármacos Antitripanosomiales según la Fase de Enfermedad Chagas, Forma, Edad Paciente, y Estado Clínico**

Tratamiento Antitripanosomal dependiendo de la Fase de Enfermedad Chagas, la Forma, y Grupo Demográfico	Fuerza de Recomendación y Calidad de soporte de la evidencia
Siempre se debiera ofrecer	
Infección aguda por <i>Trypanosoma cruzi</i>	AII
Infección congénita temprano la T cruzi la	AII
Niños <12 años y con infección crónica	AI
Niños entre 13-18 años y con infección crónica	AIII
Infección reactivada en paciente con el VIH/SIDA u otra inmunosupresión	AII
Generalmente se debiera ofrecer	
Mujeres en edad reproductiva	BIII
Adultos entre 19-50 años y con la forma indeterminada, o cardiomiopatía suave o moderada (Kuschnir clasifica 0, o II)	BII
Inmunosupresión inminente	BII
Opcionales	
Adultos > 50 años y sin cardiomiopatía avanzada (Kuschnir clasifican 0, generalmente no deberían ofrecer I, o II)	CIII
Pacientes con la enfermedad de Chagas gastrointestinal, pero sin cardiomiopatía avanzada	CIII
Cardiomiopatía chagásica avanzada con el fallo cardíaco congestivo (Kuschnir clasifican III)	DIII
Megaesófago con el daño significativo de tragar	DIII
Nunca se debiera ofrecer	
Durante el embarazo	EIII
En insuficiencia renal o hepática severa	EIII

Abreviaturas: VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.

Tomado de Bern (9)

a) Recomendaciones de tratamiento de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas Americana según los estándares de evidencia de calidad.

La fuerza de recomendación se clasifica de la A a la E.

A: La gran evidencia de eficacia y beneficio clínico sustancial apoyan la recomendación para su uso; siempre se debería ofrecer.

B: La evidencia moderada de eficacia o gran evidencia de eficacia pero con beneficio limitado apoyan la recomendación para su uso; generalmente se debería ofrecer.

C: La evidencia de su eficacia es insuficiente para apoyar una recomendación a favor o contra de su empleo; o la evidencia de eficacia no puede sobrepasar los efectos adversos o el coste del tratamiento en consideración. Opcional.

- D: La moderada evidencia de falta de eficacia o los resultados adversos apoyan la recomendación de no usarlo. Generalmente no se debería ofrecer.
- E: La buena evidencia de falta de eficacia o los resultados adversos apoyan su no utilización. Nunca se debería ofrecer.

Calidad de la evidencia que apoya la recomendación, clasificada de I a III.

- I: Evidencia de al menos un ensayo clínico aleatorio, correctamente diseñado.
- II: Evidencia de al menos un ensayo clínico bien diseñado sin ordenación aleatoria, de estudios analíticos casos-control o cohortes (preferiblemente de más de un centro), o de estudios en tiempos múltiples; resultados nefastos de experimentos no controlados.
- III: Evidencia de opiniones de autoridades respetadas basadas en experiencia clínica, estudios descriptivos, o informes de comités expertos.

- b) Por ejemplo, antiguos pacientes no tratados con infección por VIH o esperando trasplante de órgano.
- c) No hay datos que sugieran que el tratamiento afecta la progresión de la enfermedad del tracto gastrointestinal. Las decisiones deberían basarse en el potencial para disminuir el riesgo de desarrollo o la progresión a enfermedad cardíaca.

1.6.2. Seguimiento de la Respuesta al Tratamiento

Para monitorizar la respuesta al tratamiento, el hemocultivo y el examen directo de sangre o de capa leucocitaria tienen una alta sensibilidad en la infección aguda, congénita temprana, o reactivada. En la fase crónica, no hay ningún ensayo de valor probado que documente la respuesta (9).

La seroconversión negativa en ensayos convencionales ocurre después del tratamiento correcto, pero tarda años o décadas. Cuanto más tarde se inicia el tratamiento más tarde se observa la seroconversión negativa. Técnicas basadas en la PCR son útiles para supervisar el fracaso de tratamiento en personas con infección aguda, pero su sensibilidad variable limita su utilidad en aquellos con la enfermedad de Chagas crónica.

Existe una variación geográfica de *Trypanosoma cruzi* en cuanto a formas de afectación de la enfermedad, respuesta al tratamiento y transmisión congénita.

1.7. EPIDEMIOLOGÍA

Las tendencias epidemiológicas en las últimas dos décadas muestran claramente una reducción de la transmisión vectorial debido a los programas de control y mejora de la vivienda rural, así como su interrupción en Chile, Uruguay y recientemente Brasil, lo que ha contribuido a la disminución de la incidencia anual de la enfermedad en todo el continente.

De este modo, se ha conseguido también la reducción de la transmisión vertical, por lo que la transmisión residual por transfusión sanguínea ha recibido una mayor atención. El cribado de la sangre buscando anticuerpos frente a *T. cruzi* está establecido en muchas regiones de Latinoamérica para aumentar la seguridad de la sangre. Los individuos infectados con *T. cruzi* presentan anticuerpos durante toda su vida; la sangre potencialmente infecciosa se puede identificar por un cribado serológico y la sangre positiva para *T. cruzi* se puede descartar su uso. No existe ningún test lo suficientemente sensible y específico para designarlo como única prueba de cribado. La Organización Panamericana de la Salud y otras han sugerido que los donantes de sangre han de ser testados por lo menos con dos métodos diferen-

tes para aumentar la sensibilidad detectando donantes realmente seropositivos. En bancos de sangre sudamericanos se realizan tres métodos distintos (IFA, IHA, EIA) considerando un donante seropositivo cuando es positivo a dos o tres de las técnicas.

Actualmente, el fenómeno de la inmigración es un hecho constable en nuestra sociedad. Cada vez un mayor número de personas procedentes de distintos lugares del mundo, África, Asia, Sudamérica llega a nuestro país. En España, en 2009, hay censados más de cinco millones de inmigrantes, de los cuales más de 1,8 millones proceden de Latinoamérica, es decir un 4 % de la población española (72). De éstos, el 13 % proceden de Bolivia que es el país donde actualmente se registran más casos de Chagas. Esto ha generado una serie de necesidades en cuanto al manejo diagnóstico y terapéutico de esta enfermedad, pero sobre todo en cuanto al control epidemiológico de la misma en nuestro medio, donde no existe el vector transmisor. Éste se centra actualmente en el estudio de las maternidades para controlar la transmisión congénita y en los bancos de sangre para evitar la transmisión a través de productos sanguíneos y del trasplante de órganos.

2. DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

2.1. INTRODUCCIÓN

Las distintas manifestaciones de la enfermedad de Chagas parecen estar relacionadas con variaciones en la eficiencia de la respuesta inmunitaria contra el parásito por parte de los distintos individuos. De esta manera, las respuestas inmunitarias eficientes controlan el grado de parasitemia, reduciendo con ello las lesiones tisulares mientras que las reacciones inmunitarias ineficientes conllevan una enfermedad más grave. Observaciones clínicas, anatomopatológicas y experimentales sugieren que la enfermedad de Chagas debe ser considerada como una infección parasitaria más que como una enfermedad exclusivamente autoinmunitaria. Esta interpretación patogénica resalta la idea de que es posible lograr un desenlace favorable mediante la administración de un tratamiento correcto y que, por tanto, el diagnóstico en fases tempranas es vital para lograr una curación del paciente.

2.2. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

2.2.1. Diagnóstico parasitológico

Durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas es posible la observación directa del parásito en extensiones de sangre del paciente en gota fina y gota gruesa teñidas adecuadamente, permitiendo esta técnica la diferenciación entre *T. cruzi* y *T. rangeli*. No obstante, si el grado de parasitación es bajo, es necesario emplear métodos de concentración de parásitos tales como el método de Strout (MS) y el microhematocrito (MH).

Los métodos indirectos clásicos de diagnóstico más complejos como el hemocultivo y el xenocultivo quedan relegados únicamente a los laboratorios especializados. La sensibilidad de los mismos depende en gran medida del grado de parasitemia del paciente.

Con el desarrollo de la técnicas moleculares basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ha permitido incorporar estas técnicas a la detección de *T. cruzi*. A lo largo de la literatura existen numerosas técnicas de PCR descritas, pero fundamentalmente se han empleado dos regiones objetivo (diana) para llevar a cabo la detección del parásito mediante métodos moleculares: una de ellas, la región variable del ADN minicircular del quinoplasto y otra, una secuencia repetitiva de 195 pares de bases de ADN del parásito.

Si bien es cierto que los nuevos métodos basados en la detección molecular del ADN del parásito han supuesto una revolución, estas técnicas no están del todo exentas de cierta polémica ya que aun siendo más sensibles que el hemocultivo y el xenodiagnóstico, su sensibilidad sigue dependiendo en gran medida del grado de parasitemia del paciente. No obstante, estas técnicas tienen otras aplicaciones importantes tales como la detección de parásitos en los tejidos de los pacientes con infección crónica (habitualmente oligoparasitémicos en sangre periférica) y en el diagnóstico de la transmisión congénita de la enfermedad de Chagas.

2.2.2. Diagnóstico inmunológico

El empleo del inmunodiagnóstico está muy extendido ya que casi todos los pacientes infectados por *T. cruzi* se hallan en la fase crónica de la enfermedad y presenta anticuerpos contra distintos antígenos presentes en el parásito.

Como en cualquier otra respuesta inmunológica en la fase crónica predominan los anticuerpos de la clase IgG mientras que en la fase aguda se encuentran anticuerpos IgM.

Dentro de las pruebas de diagnóstico inmunológico existen dos tipos de pruebas:

- Convencionales: que han sido ampliamente validadas, muchas de ellas ya comercializadas y son de uso rutinario por la inmensa mayoría de laboratorios y bancos de sangre.
- No convencionales: que para obtenerlas hay que recurrir a centros de investigación y/o universidades. Están basadas en técnicas de ELISA o modificaciones de la misma pero emplean reactivos «especiales» tales como proteína purificadas, péptidos sintéticos, o antígenos purificados creados con el fin de aumentar el rendimiento del diagnóstico serológico.

A continuación vamos a describir someramente cada uno de los grupos.

2.2.2.1. Pruebas serológicas convencionales

Existen tres pruebas convencionales cuyo empleo está generalizado. Por un lado, la hemaglutinación indirecta (HAI), en segundo lugar, la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y, por último, la prueba de ELISA.

Clásicamente se ha considerado que la obtención de resultados positivos en más de una de éstas técnicas es sinónimo de infección por *T. cruzi*. Sin embargo, dado que la sensibilidad de muchas técnicas de ELISA y de IFI superan el 98 % no sería descabellado plantear el diagnóstico de la enfermedad de Chagas con un solo resultado positivo por cualquiera de éstas técnicas, siempre y cuando se hayan seguido de manera rigurosa los procedimientos de laboratorio y que los reactivos de la técnica se hayan sometido a los controles de calidad pertinentes y hayan sido conservados en condiciones adecuadas.

En la mayoría de las técnicas convencionales se emplea una mezcla de antígenos del parásito (por ejemplo en la HAI y en las técnicas basadas en ELISA) o bien todo el parásito (como en el caso de la IFI). Con ello aumentamos la sensibilidad de la técnica pero a expensas de reducir la especificidad de la misma y de producir mayor cantidad de resultados falsamente positivos, fundamentalmente debido a reacciones cruzadas con especies relacionadas con *T. cruzi*, tales como *T. rangeli* o *Leishmania spp.*

Evidentemente, la prueba serológica ideal sería aquella que fuera rápida, barata y fácil de realizar, sin requerimientos especiales ni en instrumental, ni en conservación de los reactivos y que, además, presentara una sensibilidad y especificidad lo más cercanas posibles al 100 %. Por supuesto que no existe en la práctica clínica ni de diagnóstico microbiológico tal tipo de prueba, si bien las pruebas convencionales presentan algunas características anteriormente descritas.

Por ejemplo, la HAI es una técnica moderadamente rápida (de unas dos horas de duración) que no necesita de instrumental complejo ni conocimientos técnicos especializados. Su sensibilidad es ligeramente inferior a la obtenida con IFI y ELISA y oscila entre el 96 y el 98 %. La IFI, sin embargo, presenta una sensibilidad elevada (del 99 %) pero es una técnica compleja que se realiza en varias fases, necesita de un microscopio de luz ultravioleta y la interpretación de la misma es subjetiva. Además, es una técnica laboriosa no indicada cuando el número de muestras a procesar es grande.

Respecto a las pruebas de ELISA, su sensibilidad es excelente y presenta una buena especificidad. Al requerir una lectura espectrofotométrica para su validación, eliminan subjetividades por parte del intérprete y, además, son técnicas fácilmente automatizables, lo que las convierte en las indicadas para procesar grandes volúmenes de muestras (por ejemplo: en los bancos de sangre). Como principal desventaja es que para realizarlas habitualmente es necesario instrumental adicional y cierta experiencia (al igual que en la IFI).

A pesar de lo expuesto anteriormente, las distintas experiencias acumuladas con las distintas técnicas convencionales en los países endémicos de enfermedad de Chagas, tanto en el diagnóstico como en el

cribado de la enfermedad en los bancos de sangre, nos muestran que en aproximadamente un 95 % de los sueros procesados se obtienen resultados concordantes con las tres pruebas. Esta misma situación se ha descrito también en ensayos realizados en países no-endémicos con distintas técnicas diagnósticas y/o de cribado para la enfermedad de Chagas.

2.2.2.2. Pruebas no convencionales

Como se ha comentado anteriormente, para la obtención de estas pruebas hay que recurrir a centros de investigación especializados y/o universidades. Están basadas en técnicas de ELISA o modificaciones de la misma pero emplean reactivos «especiales» tales como proteína purificadas, péptidos sintéticos, o antígenos purificados creados con el fin de aumentar el rendimiento del diagnóstico serológico y evitar los fenómenos de reacción cruzada.

En este grupo, las pruebas que se emplean con mayor frecuencia son las que usan antígenos recombinantes y han sido validadas en distintos ensayos multicéntricos. Estas proteínas recombinantes pueden emplearse aisladamente o en mezcla determinadas para detección de anticuerpos frente a los distintos antígenos (por ejemplo en la técnica de Western blot). Es importante señalar que mientras que en las técnicas convencionales la sensibilidad era muy alta a costa de una menor especificidad, en las pruebas no convencionales ocurre a la inversa, son menos sensibles que las pruebas convencionales pero más específicas, si bien todavía no existe un criterio definido en cuanto a su interpretación ya que si dos clases de pruebas una convencional y otra no convencional presentarán resultados discordantes, se recomienda que se consideren correctos los obtenidos mediante pruebas convencionales. En referencia a este último punto, hemos de decir que todos los estudios en los cuales se basa esta última recomendación de la OMS se han realizado en países endémicos y no en países no-endémicos como el nuestro con una menor prevalencia de pacientes infectadas por la enfermedad y en el cual la circulación del vector no existe o está tremendamente controlada; por tanto, en nuestra opinión, es necesario validar dichas técnicas en una población con baja prevalencia de la enfermedad para estimar la validez interna y externa de dichas pruebas.

Resumiendo, en el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* se pueden seguir los siguientes directrices:

- Para confirmar una sospecha clínica se deben de emplear dos pruebas convencionales. Si éstas son discordantes se deberá realizar una tercera prueba, pudiendo ser esta última convencional o no convencional.
- Para el cribado en bancos de sangre se recomienda la técnica de ELISA.
- En caso de sospecha de transmisión congénita se debe de realizar una prueba convencional a la madre y si el resultado es positivo confirmarlo mediante otra prueba convencional. En los hijos de las madres seropositivas se ha de realizar la determinación de anticuerpos IgG mediante una prueba convencional transcurridos 6-8 meses del parto. En caso de poder realizar pruebas parasitológicas es conveniente realizarlas.
- En las encuestas seroepidemiológicas se debe emplear una sola prueba convencional.
- Para el seguimiento de tratamiento se recomiendan dos pruebas serológicas, si bien en centros especializados se pueden realizar pruebas de detección de ADN del parásito mediante técnicas de PCR.

En el cuadro adjunto se resumen las principales indicaciones de las distintas pruebas para el cribado y/o diagnóstico de la enfermedad de Chagas.

Cuadro 2.1. **Técnicas diagnósticas y /o de cribado**

Objetivos	Técnicas convencionales			Técnicas no convencionales	Diagnóstico parasitológico
	ELISA	IFI	HAI	Western	PCR
Diagnóstico serológico	+++	+++	+++	++	
Cribado en bancos de sangre	+++				
Transmisión congénita	+++	+++		++	+++
Encuestas seroepidemiológicas	+++	++			
Seguimiento tratamiento	+++	+++	+++		

Información técnica más detallada acerca de cada uno de los procedimientos empleados en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas puede encontrarse en el apartado de anexos.

3. OBJETIVOS

El objetivo principal del presente estudio es la estimación de la prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en mujeres en edad fértil oriundas de zonas endémicas de tripanosomiasis americana.

Los objetivos secundarios propuestos son los siguientes:

1. Estimar la prevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en mujeres en edad fértil oriundas de zonas endémicas de tripanosomiasis americana mediante la detección de ADN del parásito empleando la reacción en cadena de la polimerasa.
2. Establecer la correlación entre los resultados obtenidos mediante el empleo de las dos técnicas anteriormente citadas (PCR y serología).
3. Determinar con los resultados obtenidos si la enfermedad de Chagas cumple los criterios necesarios para la realización de un programa global o por países debido a la diferente prevalencia.
4. Conocer la epidemiología de la enfermedad en nuestro medio en mujeres latinoamericanas en edad fértil.

4. METODOLOGÍA

4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio transversal mediante muestreo por conglomerados con probabilidades proporcionales a los tamaños aproximados de la población dependiente de un Centro Sanitario determinado de las Comarcas Sanitarias de Bilbao, Ezkerraldea-Enkanterri y Uribe que corresponden al área de atención ginecológica de los Centros Hospitalarios de Basurto y Cruces.

4.2. POBLACIÓN A ESTUDIAR

Mujeres inmigrantes procedentes de Latinoamérica en edad fértil (13 a 45 años) nacidas en países con tripanosomiasis endémica que residen actualmente en la Comarcas Sanitarias de Bilbao, Ezkerraldea-Enkanterri y Uribe.

El Hospital de Basurto es un hospital universitario de 700 camas, que da cobertura al área «Comarca Bilbao» con una población de 355.000 habitantes, suponiendo los ciudadanos de Bilbao el 80 % de los pacientes atendidos en Hospitalización, Urgencias o Consultas. Además, el laboratorio de Microbiología Clínica y Control de Infección ofrece cobertura a 26 ambulatorios.

El Hospital de Cruces es un hospital universitario de 1.000 camas que presta servicio a las comarcas sanitarias de Ezkerraldea-Enkanterri y Uribe, en Bizkaia, con más de 370.000 habitantes. De estas zonas geográficas (ambulatorios incluidos) proviene el 55 % de los pacientes atendidos en el hospital.

4.3. UNIDADES PRIMARIAS DE MUESTREO

Con objeto de desarrollar el estudio se establecieron las unidades primarias de muestreo que se citan a continuación:

- Ambulatorios de atención especializada situados en la Comarca Sanitaria del Hospital de Cruces.
- Consulta de ITS del Hospital de Basurto.
- Consulta de Médicos del Mundo en Bilbao.
- Consultas del Servicio de Ginecología/Obstetricia del Hospital de Basurto.

Se han eliminado los ambulatorios de atención especializada de la Comarca de Bilbao ya que aunque en los inicios del estudio colaboraron en el, únicamente se capturaron cuatro pacientes debidos a cambio en el personal de los mismos.

4.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE LOS SUJETOS A ESTUDIO

Se establecieron los siguientes criterios de inclusión para la participación en la encuesta seroepidemiológica:

- Ser mujer.
- Tener una edad en el momento del estudio entre 13 y 45 años.
- Ser oriunda de un país en el cual la tripanosomiasis sea una enfermedad endémica.
- Aceptar y firmar voluntariamente el consentimiento informado para la realización del estudio. En caso de pacientes menores de edad (atendiendo a la legislación española vigente) se solicitó el consentimiento informado tanto a la menor como al representante legal de la misma en ese momento presente (habitualmente la madre de la paciente).

4.5. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Asimismo, se establecieron los siguientes criterios de exclusión para la realización de la encuesta sero-epidemiológica:

- Ser varón.
- Tener una edad menor de 13 o mayor de 45 años en el momento de realizar el estudio.
- Padecer síntomas compatibles clínicamente con un estado menopáusico o pre-menopáusico.
- Haber sufrido una histerectomía y/o anexectomía.
- No contar con el consentimiento informado debidamente cumplimentado en el momento de la realización del estudio.

4.6. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

A cada paciente incluida en este estudio se le realizaron dos extracciones: una de ellas, de suero en tubo Vacutainer® convencional de 5 ml para realización de serología (tapón marrón) provisto de gel de separación y sin anticoagulante (Becton Dickinson, Sparks, USA), y otra de ellas, de sangre completa en un tubo Vacutainer® convencional de 5 ml (tapón morado) con EDTA dipotásico como anticoagulante (Becton Dickinson, Sparks, USA) para la detección de anticuerpos y ADN de *T. cruzi* mediante técnicas de PCR respectivamente.

De aquellos pacientes de los que llegaron dos o más muestras ya sea por solicitud del laboratorio o por criterio del clínico encargado del paciente, solamente se ha procesado una de ellas. En total se han estudiado las muestras (suero y sangre con EDTA) procedentes de 278 pacientes que han recogido en la Unidad de Serología del Servicio de Microbiología y Control de Infección desde 1 de enero de 2007 al 31 de diciembre 2009.

4.7. IDENTIFICACIÓN (ANONIMIZACIÓN) Y PRE-PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Tras identificar anónimamente ambas muestras mediante un código de barras que codifica un número de ocho dígitos se procedió a su procesamiento. Para las muestras serológicas, se mantuvo el tubo durante 10-15 minutos a temperatura ambiente hasta la formación del coágulo. Posteriormente, se separó el suero mediante centrifugación en un centrífuga convencional a 2.000 rpm durante 15 minutos. El suero así obtenido fue congelado a -20 °C hasta su procesamiento. En el caso de las muestras para detección de ADN de *T. cruzi* mediante PCR se realizó una extracción de ADN siguiendo un protocolo de extracción de ADN propuesto por el fabricante para sangre total empleando High Pure Template Extraction Kit (Roche Applied Science, Mannheim, Germany) y posteriormente el ADN eluido se congeló a -80 °C hasta su uso.

4.8. DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS IGG MEDIANTE TÉCNICAS DE INMUNODIAGNÓSTICO CONVENCIONAL

Para la determinación de anticuerpos IgG en suero se han utilizado dos técnicas convencionales diferentes:

- 1) Inmunofluorescencia Indirecta (IFI): técnica realizada en primer lugar.
- 2) Enzyme Linked Inmunosorbent Assay (ELISA) indirecto: la técnica ELISA se realizó con dos ensayos comerciales distintos.

Con objeto de estudiar los posibles resultados discordantes en las muestras analizadas, las tres técnicas realizadas determinaban anticuerpos anti-*T. cruzi* IgG utilizando distintos antígenos en cada una de ellas.

4.8.1. Técnica de IFI

Se determinó el título de anticuerpos frente a *Trypanosoma spp.* mediante inmunofluorescencia empleando los reactivos suministrados comercialmente por MarDx, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Brevemente, la determinación inicial de anticuerpos anti-*T. cruzi* IgG se realizó mediante un test de inmunofluorescencia indirecta empleando epimastigotes de *T. cruzi* (cepa Corpus Cristi) fijados sobre los pocillos de un porta como antígeno. Todos los sueros obtenidos de los pacientes se probaron a una dilución inicial de 1:8 considerándose como positivos si la dilución con un título de anticuerpos era igual o mayor de 1:16. Para las muestras positivas se diluyó el suero del paciente hasta determinar el título de serorreactividad final. Todas las pruebas fueron examinadas por dos personas de manera ciega.

4.8.2. Técnica de ELISA indirecto

Se realizaron dos pruebas de ELISA indirecto con distintos antígenos cada una y distinta generación.

a) ELISA indirecto de segunda generación:

Se utilizaron los reactivos suministrados por la casa ORTHO, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Este ensayo utiliza como fase sólida pocillos revestidos con un lisado de células completas que contiene una mezcla de antígenos de *T. cruzi* y se procedió de acuerdo con las indicaciones del fabricante tanto para su realización como para su posterior interpretación.

b) ELISA indirecto de tercera generación:

Se utilizaron los reactivos suministrados por la casa DIA.PRO, siguiendo las instrucciones del fabricante.

En esta técnica los pocillos de la microplaca están recubiertos por antígenos recombinantes específicos de *T. cruzi*. Para la realización e interpretación de la técnica en todo momento se siguieron las indicaciones del fabricante.

4.9. DEFINICIÓN DE ESTATUS SEROLÓGICO

Utilizamos tres técnicas serológicas cumpliendo las recomendaciones de la OMS/OPS para diagnóstico de la enfermedad de Chagas en fase crónica porque además de ser las técnicas diagnósticas más rentables descritas en esta fase de la enfermedad (en la que no hay una parasitación elevada) tienen una sensibilidad y especificidad alrededor del 98 %. No se consideró oportuno el considerar únicamente la realización de una única prueba de inmunodiagnóstico para determinar el estatus serológico del paciente a pesar de recomendarse como tal por parte de la OMS/OPS para los estudios de seroprevalencia. Tal vez el desconocimiento de la situación previa en la CAPV nos impulsó a tomar una decisión más restrictiva pero a nuestro parecer más fiable y acertada.

Por lo tanto, se definió como seropositiva aquella paciente con dos pruebas convencionales siendo una de ellas la IFI, y seronegativa aquella paciente con dos pruebas convencionales negativas. Si ambas pruebas convencionales (IFI + ELISA indirecto de segunda generación) fueron discordantes se consideró el resultado obtenido en el ELISA de tercera generación para definir el estatus serológico de la paciente.

4.10. AMPLIFICACIÓN Y DETECCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS (ADN) DEL PARÁSITO MEDIANTE TÉCNICAS DE PCR

Como se ha mencionado anteriormente, la muestra de sangre total con EDTA se empleará para amplificación y detección de *Trypanosoma cruzi* mediante PCR.

Se realizó una PCR a tiempo real con sonda de hidrólisis en un LightCycler 2.0 empleando los cebadores (primers) «*cruzi1*» y «*cruzi2*» descritos en la bibliografía por Piron y cols. (117) que amplifican y detectan una porción repetitiva del ADN satélite de *T. cruzi*, modificando la sonda de hidrólisis empleada.

Se procedió a estudiar el límite de detección de la técnica, realizando diluciones seriadas en base 10 de un control positivo previamente conocido cuya concentración inicial fue de aproximadamente 400.000 epimastigotes/ml. Se realizaron las siguientes diluciones 1/10, 1/100, 1/1.000, 1/10.000, 1/100.000 y 1/1.000.000. A partir de la sexta dilución (≈ 4 epimastigotes/ml) ya no se obtenía una amplificación reproducible. Mediante este procedimiento se determinó la curva de calibración y el rango de linealidad de la técnica para poder establecer posteriormente un valor cuantitativo de los resultados obtenidos mediante PCR.

4.11. CONFIRMACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR PCR

Para la confirmación de la amplificación y detección de ADN de *T. cruzi* se utilizó un segundo esquema de PCR a tiempo real empleando un intercalador (SYBR Green) como fluoróforo en sistema LightCycler™ 2.0 (Roche Applied Science, Mannheim, Germany). Se calculó la temperatura de disociación del amplión obtenido tras la amplificación para verificar la especificidad de los resultados obtenidos con esta segunda técnica. Aquellas muestras cuya temperatura de disociación coincidía con la del control positivo empleado se secuenciaron con BigDye Terminator Kit v.3.1 en un secuenciador ABI 3130 Genetic Analyzer siguiendo las recomendaciones del fabricante.

En todos los casos positivos analizados el microorganismo identificado fue *T. cruzi*.

4.12. ENCUESTA Y DATOS RECOGIDOS

Cada una de las mujeres participantes en el estudio fue requerida para completar un cuestionario que fue realizado por el médico encargado de su asistencia. En el caso de las mujeres atendidas en la zona de actuación del Hospital de Basurto, la recogida de la encuesta y la extracción del suero se realizaban a la vez, mientras que las pacientes atendidas en la zona del Hospital de Cruces se les extrajo la muestra en una primera visita para concertar con ellas una segunda visita en la que se rellenaba el cuestionario. En ningún momento los entrevistadores conocieron los resultados obtenidos, de tal manera que se estableció una técnica de ciego simple asegurando la no introducción de sesgos durante la investigación.

4.13. VARIABLES RECOGIDAS

- 1) Variables socio-demográficas:
 - a. Fecha de nacimiento (edad).
 - b. País de origen y Región.
 - c. Estado civil.
 - d. Estudios y/o Profesión.
 - e. Vivienda en zona rural.
 - f. Años en España.
- 2) Variables del estudio (factores de riesgo y otras):
 - a. Diabetes mellitus.
 - b. Inmunodepresión (VIH), E.

- c. Enfermedad pulmonar crónica.
 - d. Cáncer.
 - e. Obesidad.
 - f. Desnutrición.
 - g. Drogadicción (ADPV).
 - h. Cirugía (fecha y tipo).
 - i. Donaciones (número, fecha, país).
 - j. Transfusiones (número, fecha, país).
 - k. Antecedentes de enfermedad de Chagas: aguda, crónica, diagnóstico asintomática, tratamiento, enfermedad en la familia.
 - l. Síntomas: enfermedad cardíaca, alteraciones gastrointestinales.
 - m. Embarazos (número, embarazo actual, abortos: nº, naturales o provocados).
 - n. Hijos: nº, enfermedades congénitas, edad último hijo.
- 3) Variables resultado:
- a. Título de anticuerpos frente a *Trypanosoma cruzi* determinados mediante inmunofluorescencia.
 - b. Resultado cualitativo de anticuerpos frente a *T. cruzi* determinados mediante dos técnicas de ELISA.
 - c. Resultado cuantitativo de la PCR realizada frente a *Trypanosoma cruzi* expresado copias/ml.

En el anexo se incluye una copia del cuestionario empleado.

4.14. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información clínica, epidemiológica y serológica recogida fue registrada en una base de datos y analizada posteriormente mediante el programa SPSS versión 18 para Windows. Para estimar la seroprevalencia se calculó la proporción de mujeres que tenían anticuerpos positivos según las pruebas de cribado (IP e IFI). Para obtener el perfil epidemiológico de las mujeres con mayor riesgo se estimó la seroprevalencia según el país de origen y otros factores de riesgo asociados a la enfermedad en las mujeres portadoras. Se comparó la proporción de casos para cada variable cualitativa mediante la prueba chi-cuadrado y en el caso de las variables continuas se compararon las medias mediante la prueba t-Student. Tras el estudio descriptivo se realizó un análisis simple para establecer la relación entre las variables explicativas del riesgo seleccionadas y la positividad en la serología y un análisis de regresión logística que permitiría ajustar por los posibles factores de confusión. Se consideraron estadísticamente significativos los valores con $p < 0,05$.

4.15. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Una de las limitaciones de este estudio es el sesgo de selección de la muestra, bien porque este colectivo no acude a su médico, bien por la negativa a firmar el consentimiento informado por su situación legal, bien porque la distribución de este colectivo no sea homogénea en toda la población. De entre los posibles diseños para minimizar los sesgos nos hemos decidido por un muestreo por conglomerados con probabilidades proporcionadas a la población atendida por cada uno de los centros adscritos al estudio. Además, se incluye a las consulta de ITS de Bombero Etxaniz y el Hospital de Basurto porque existe un colectivo importante de mujeres en edad fértil que son oriundas de Latinoamérica y que trabajan ejerciendo la prostitución. Considerando que estos factores se han mantenido estables en el periodo de estudio, los cambios en las tenden-

cias de seroprevalencia y en las características de las personas afectadas, pueden ser indicativos de cambios reales en la incidencia de estas infecciones en la comunidad y en los factores asociados con ellas pudiendo ofrecer una estimación fiables de la seroprevalencia de *T. cruzi* en la población latinoamericana que reside en la Comarca Sanitaria de Bilbao. Asimismo pudiera existir otro sesgo de selección debido a aquellos casos de ITS que son atendidos en las consultas de la sanidad privada y de los cuales carecemos de información.

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA

Las mujeres estudiadas tenían una edad media de $25,9 \pm 5$ años. Las mujeres gestantes nulíparas fueron el 12,4 % frente al 87,6 % observado en mujeres que habían tenido previamente al menos un hijo. Según la procedencia, 148 mujeres eran de Bolivia (54,8 %), 36 de Colombia (12,2 %), 25 de Paraguay (9,3 %), 17 de Ecuador (6,3 %), 16 Brasileñas (5,9 %), seis de Venezuela (2,2 %), seis de República Dominicana (2,2 %) y cuatro de Argentina (1,5 %), cifras que coinciden con los países con mayor porcentaje de latinoamericanos residentes en la Comunidad Autónoma del País Vasco (CAPV). (Ver tabla 5.1).

Tabla 5.1. **Distribuciones muestral y poblacional absoluta y relativa de las mujeres Latinoamericanas en edad fértil (15-44 años) en la zona del estudio. (Fuente de los datos poblacionales: INE)**

País	N poblacional	% poblacional	N muestra estudio	% muestra estudio
Argentina	428	2,57	4	1,48
Bolivia	5.022	30,18	148	54,81
Brasil	1.575	9,46	16	5,93
Colombia	3.203	19,25	33	12,22
Chile	154	0,93	0	0
Ecuador	1.309	7,87	17	6,30
Paraguay	2.136	12,83	25	9,26
Perú	674	4,05	11	4,07
República Dominicana	247	1,48	6	2,22
Uruguay	116	0,7	1	0,37
Venezuela	548	3,29	6	2,22
TOTAL	16.642	100	270	100

5.2. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA

En lo que respecta al lugar de residencia:

- 75 mujeres (27,78 %) refirieron que en su país de origen residían en zonas rurales, de las cuales, el 46,67 % (35) vivían en casas de adobe y techos de paja o similares. Entre los países con predominio de población residente en zonas rurales cabe destacar Bolivia (67,1 %), Colombia (10,5 %), Paraguay (6,6 %) y Brasil (5,3 %).
- 195 residían en zonas urbanas (72,22 %), la mayoría en casas de ladrillo.

El 20,37 % del total tenían antecedentes familiares de enfermedad chagásica en la familia (abuelos, padres, hermanos, tíos). Más del 50 % procedían de zonas rurales.

El 16,2 % de las mujeres habían sido donantes de sangre, 6,29 % habían sido transfundidas con anterioridad, si bien el 40 % de las mujeres encuestadas desconocían este dato. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de mujeres de zonas rurales transfundidas frente a las procedentes de zonas urbanas (17,4 %) ($p > 0,05$).

Respecto a la valoración del conocimiento acerca del vector y la enfermedad, el 70 % de las mujeres conocía el vector. El 91,7 % de las mujeres bolivianas estudiadas conocían el vector, el 62,6 % de las

brasileñas y el 50 % de las argentinas, aunque el número de mujeres argentinas estudiadas es tan sólo de cuatro. Ciento veinticuatro de las 182 mujeres que conocían la enfermedad y el vector presentaron resultados negativos para la serología IFI, lo que representó un 61,8% del total mujeres seronegativas. Sesenta y una de 66 mujeres (92,4 %) que presentaron serología positiva conocían la enfermedad, aunque en la mayoría de casos no sabían que la padecían por estar asintomáticas o pauciasintomáticas. Un 29,6 % de las mujeres seronegativas desconocían el vector de la enfermedad, reduciéndose este porcentaje al 1,9 % en las mujeres seropositivas, resultando la diferencia entre ambos porcentajes estadísticamente muy significativa ($p = 0,000$).

5.3. SEROPREVALENCIA DE PORTADORAS DE LA ENFERMEDAD

En 53 mujeres (19,62 % de las estudiadas) se obtuvo un resultado positivo en la serología de cribado con prueba de IFI. De ellas se confirmaron 51 casos positivos con las pruebas de ELISA, lo que significaba un 0,7 % de resultados falsos positivos empleando la IFI como técnica de cribado serológico. Ambas pacientes (2) se hallaron en el punto de corte de la técnica de IFI lo que dado la subjetividad de la interpretación de la técnica pudieran corresponder a resultados verdaderamente negativos. Sin embargo, cabe destacar que aunque esta técnica nos ha dado dos falsos positivos, no hemos encontrado ningún falso negativo. Además, al comparar la prueba ELISA tomando como patrón de referencia la IFI, hallamos una sensibilidad del 77,27 % y una especificidad del 100 %, con un valor predictivo positivo del 93,15 %. Con la aplicación de las citadas pruebas diagnósticas, la prevalencia de la infección por *T. cruzi* en inmigrantes latinoamericanas mujeres en edad fértil fue del 18,89 % (51 casos confirmados por dos técnicas). Esta prevalencia tan elevada se explica en parte por la composición de la muestra estudiada, ya que en nuestra muestra de la población hay un peso importante de las mujeres bolivianas ya que representa el 54,8 % de la muestra estudiada y son las que mayor prevalencia de la enfermedad tiene en su población de origen. Por tanto, este dato aunque real puede sobreestimar en cierto grado la prevalencia poblacional real de mujeres Latinoamericanas seropositivas en edad fértil en la CAPV ya que como hemos visto anteriormente la proporción de los oriundos de este país andino en la CAPV se sitúa en torno al 30 %.

La edad media de las mujeres gestantes seropositivas (32,0 años) era ligeramente superior a la edad de las mujeres seronegativas (29,0 años) aunque las diferencias no resultaron estadísticamente significativas ($p > 0,05$). El 72,5 % de los casos positivos tenían familiares que padecían o habían padecido la enfermedad. La prevalencia en mujeres con antecedentes familiares fue del 37,3 %, superior al 16,4 % observado en mujeres sin antecedentes familiares ($p = 0,001$).

La seroprevalencia de portadoras de la enfermedad según el país de origen se muestra en la tabla 5.2. Como se observa, entre los países con más de 10 mujeres revisadas, destacan por orden de frecuencia Bolivia, Brasil, Paraguay, Colombia y Ecuador. Las prevalencias del resto de países estudiados son bajas pero probablemente se corresponden con un bajo número de mujeres estudiadas. La prevalencia era mayor en las mujeres procedentes de zonas rurales (12,2 %) que en las de zonas urbanas (6,3 %) pero resultado no significativa ($p = 0,408$). Sin embargo, analizando el tipo de vivienda donde residieron resultó una variable explicativa de gran interés ya que la mayor seroprevalencia (16,0 %) se presentó en las casas de adobe y techo de paja, que es el lugar donde vive el vector, mientras que en las mujeres que residían en casas de ladrillo la prevalencia fue sólo del 3,6 % ($p = 0,002$). De hecho, sólo el 19,9 % de los casos positivos residieron en viviendas de ladrillo.

Tabla 5.2. Distribución de la población estudiada y seroprevalencia de la portadoras de la enfermedad

País	Mujeres estudiadas	Mujeres seropositivas	% respecto total de mujeres seropositivas	Prevalencia (en %)
Argentina	4	0	0	0
Bolivia	148	46	90,2	31,1
Brasil	16	2	3,9	12,5
Colombia	33	0	0	0
Ecuador	17	0	0	0
México	1	0	0	0
Nicaragua	2	0	0	0
Paraguay	25	3	5,9	12
Perú	11	0	0	0
República Dominicana	6	0	0	0
Uruguay	1	0	0	0
Venezuela	6	0	0	0
TOTAL	270	51	100	18,89

Tan sólo el 11,8 % de las mujeres seropositivas habían sido transfundidas respecto al 5,5 % de mujeres seronegativas transfundidas. La prevalencia en las 25 mujeres nulíparas analizadas en el presente estudio fue del 2,6 % frente al 21,76 % observado en resto de mujeres que habían tenido previamente al menos un hijo. Estas diferencias resultaron estadísticamente significativas ($p = 0,034$).

5.4. SITUACIÓN CLÍNICA DE LAS MUJERES Y FACTORES DE RIESGO

Algunas de las mujeres estudiadas, padecían diferentes afecciones reflejadas en la tabla 5.3. La sintomatología referida más frecuentemente fueron los problemas gastrointestinales seguida de las alteraciones cardiovasculares.

Tabla 5.3. Sintomatología referida por la mujeres estudiadas

Sintomatología	Nº mujeres sintomáticas	% respecto total mujeres estudiadas
Cardiopatía	28	10,4
Alteraciones del tracto gastrointestinal	54	20,0
Alteraciones neurológicas	7	2,6
Disnea	2	0,7
TOTAL	80	29,6

En el análisis estadístico bivalente, la clínica asociada positiva y significativamente a la seropositividad para el Chagas fue la cardiopatía, con un riesgo relativo de 5,25 (IC: 2,42-17,70) y las afecciones gastrointestinales con un riesgo relativo de 2,74 (IC: 1,66-10,19).

Sin embargo, en el análisis multivariante, que incluía las variables epidemiológicas, sociodemográficas y clínicas, asociadas significativamente a la serología positiva para el Chagas en el análisis anterior, se observa que las principales variables a considerar como marcadores de riesgo son, junto a la edad y la presencia

de antecedentes familiares, el haber vivido en un hábitat rural. Los antecedentes de transfusión y la residencia previa en casas de adobe, perdieron su significación estadística, sugiriendo su comportamiento como factores de confusión, al igual que ocurrió con la presencia de sintomatología cardíaca y gastrointestinal, aunque en estas últimas variables se rozó el umbral de significación estadística, lo que nos sugiere que tal vez con una muestra mayor ganaríamos potencia estadística y tal vez estas dos últimas variables no sean verdaderos factores de confusión sino que se hallen verdaderamente relacionados.

5.5. EMBARAZO Y RIESGO DE TRANSMISIÓN A SUS DESCENDIENTES DURANTE EL PARTO

La mitad de nuestras pacientes, 135, estaban embarazadas en el momento del estudio. La distribución por países y seroepidemiológica se resume en la tabla 5.4.

Tabla 5.4. **Distribución por países y seroepidemiológica de las mujeres gestantes en el momento de realizar el estudio**

País	Nº mujeres gestantes	% de mujeres gestantes respecto total	Nº de gestantes seropositivas
Argentina	2	1,48	0
Bolivia	63	46,67	11
Brasil	7	5,19	1
Colombia	19	14,07	0
Ecuador	11	8,15	0
México	1	0,74	0
Nicaragua	1	0,74	0
Paraguay	19	14,07	2
Perú	7	5,19	0
Uruguay	1	0,74	0
Venezuela	4	2,96	0
TOTAL	135	50,00	14 (10,37) %

Tal y como sucede en la muestra global, en este subgrupo la población boliviana es la más representada seguida por la colombiana y la paraguaya.

De las 51 pacientes seropositivas, 14 estaban embarazadas, lo que significa una prevalencia entre embarazadas del 10,37 %. Este valor es similar al del estudio realizado en la maternidad de un hospital de la ciudad de Valencia (9,3 %) pero superior al de otras maternidades que oscila entre el 1,75 % en Elche y un 4,8 % en hospitales comarcales de Valencia. Como se ha señalado anteriormente, quizás pueda ser debido a que casi la mitad de las embarazadas son de Bolivia país con la mayor prevalencia (alrededor de un 30 % en la población general de la CAPV).

Un dato interesante es la alta proporción de abortos (48,33 %) entre este colectivo de inmigrantes. De ellos, el 37,69 % fueron provocados y el 64 % naturales. En nueve mujeres se documentó abortos de ambos tipos. Un 40 % de las seropositivas han sufrido algún aborto espontáneo. La posibilidad de que estos abortos puedan ser debidos la propia enfermedad de Chagas es un hecho que se describe en la literatura como una de las posibles presentaciones clínicas de la misma. No obstante, carecemos de datos acerca de la posible infección por *T. cruzi* de estos fetos.

Sólo se ha detectado un caso positivo en las pruebas de cribado a los recién nacidos, habiendo sido tratado correctamente y observándose la negativización de anticuerpos y PCR transcurridos 12 meses. Ningún otro caso ha sido detectado empleando como cribado tanto parasitológicas como serológicas realizadas al nacer en aquellas pacientes gestantes en el momento de realizar el estudio.

6. CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS. ESTRATEGIAS PRESENTES ACTUALES Y FUTURAS

6.1. INTRODUCCIÓN

Pinto Dias en un artículo (117) nos hace un recorrido histórico describiendo las estrategias utilizadas para el control de la enfermedad:

Desde su descubrimiento, Carlos Chagas llamó la atención sobre la distribución continental del vector de la enfermedad y sobre el papel de los gobiernos americanos en la prevención de la nueva tripanosomiasis. A principios del siglo XX, sin fármacos efectivos contra la enfermedad, y todavía sin insecticidas para controlar el vector, la medida preventiva básica era mejorar las viviendas. En un principio, Chagas y sus colaboradores, y más tarde otros investigadores como Salvador Mazza y Rodolfo Talice, enfatizaron la correlación existente entre las viviendas de mala calidad y las infestaciones por triatomas en las áreas endémicas. En la década de los 40, diversos estudios pioneros llevados a cabo en Bambuí (Brasil), pueden considerarse como el inicio de la lucha moderna contra los triatomas domiciliarios, principalmente por la descripción de la acción efectiva del producto «Gammexane» (hexaclorociclohexano), en 1947 por Dias y Pellegrino y Romaña y Avalos. En la década de 1960 se iniciaron programas nacionales y regionales contra la enfermedad de Chagas en Brasil, Argentina, Venezuela, Chile y Uruguay. En los ochenta, nuevos insecticidas piretroides sustituyeron a los antiguos organoclorados y compuestos organofosforados, y, la aparición de la epidemia de SIDA estimuló fuertemente el control de los bancos de sangre a lo largo del continente. En la década de 1990 los países endémicos decidieron compartir sus esfuerzos contra la enfermedad, emprendiendo actividades de cooperación regionales, siendo pionera en la Iniciativa del Cono Sur (ICN). Esta región está constituida por seis países (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay), todos ellos altamente endémicos de enfermedad de Chagas en los últimos años, siendo el principal vector *Triatoma infestans*. Con la excepción de Brasil, donde otras especies nativas como *Panstrongylus megistus*, *T. brasiliensis*, *T. sordida*, *T. pseudomaculata* y *Rhodnius nasutus* también invaden y colonizan los domicilios, *T. infestans* se considera el vector fundamental en la Región, por lo que su erradicación representa el objetivo principal de la Iniciativa. Por otro lado, la posibilidad real de prevenir la enfermedad de Chagas transfusional a través del cribado serológico de donantes de sangre se convirtió en una tarea complementaria para la Iniciativa desde su inicio. Tres factores diferentes y básicos fueron el punto de inicio de la ICN:

- Factores técnicos: se disponía de un conocimiento suficiente sobre el control de los principales mecanismos de transmisión de la enfermedad de Chagas (vectorial y por transfusión de sangre), así como de las herramientas (insecticidas, el programa de estrategias, serología) para llevar a cabo las actividades en todas las áreas endémicas.
- Factores administrativos y políticos: por un lado, los datos epidemiológicos estaban demostrando la gran dispersión de la enfermedad en el continente y su elevado impacto médico y social, y por otro lado, ensayos realizados con éxito e incluso programas regionales y nacionales bien dirigidos, revelaron la viabilidad del control de la transmisión y reunieron créditos políticos incuestionables para sus ejecutores.
- El tercer factor fue el gran esfuerzo y la unidad de la comunidad científica de América Latina, que actuó como el principal patrocinador catalítico de la aplicación del programa en la Región.

En síntesis, la tarea era posible y varios ejemplos locales o regionales lo demostraban. Las principales herramientas y estrategias y un mínimo de diálogo regional ya existían. Sobre todo, la rutina regional de la OPS era muy adecuada para el funcionamiento de las iniciativas. Más aún, la OPS se involucró totalmente con el «sueño» y dedicó todos sus esfuerzos (incluyendo el apoyo financiero) para ayudar a las actividades de campo o administrativas. La estrategia básica fue reunir a los países bajo una circunstancia oficial (convocar a través de la OPS y la comunicación directa entre los ministros de salud) y comenzar por los países donde ya existían programas nacionales. Los elementos fundamentales serían un intenso diálogo, continuidad y buena coordinación. Las fronteras y la burocracia deberían estar completamente abiertas a la supervisión internacional. Cada país más avanzado asumió el deber de ayudar a otros países, en caso de necesidad.

En el taller sobre Chagas llevado a cabo en Río de Janeiro del 20 al 23 de febrero de 2006, uno de los puntos a tratar fue la epidemiología (165) y en él se describen las iniciativas que han surgido en los países sudamericanos:

Desde 1991, las Iniciativas Subregionales, con el apoyo de la Secretaría Técnica de la OPS y los programas subregionales, se desarrollaron con el objetivo de control de la enfermedad de Chagas en los países endémicos.

Estas iniciativas, en coordinación con los Programas Nacionales, han producido, horizontalmente, la cooperación entre los países y han generado estrategias y metodologías para la prevención, vigilancia y control. Apoyadas con la participación y la contribución de la comunidad científica de los países se llevaron a cabo una serie de acciones con resultados siendo evaluados de forma coordinada y complementaria.

Las siguientes iniciativas están todavía vigentes:

- a) Iniciativa del Cono Sur establecida en 1991, integrada por Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay, y Uruguay, con el propósito de eliminar *Triatoma infestans* e interrumpir la transmisión transfusional de América tripanosomiasis.
- b) Iniciativa para los Países de América Central (IPCA): se estableció en 1997, integrado por Belice, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua y Panamá, encaminada a interrumpir la transmisión vectorial y transfusional enfermedad de Chagas.
- c) Iniciativa Andina, (IPA), establecida en 1997, integrada por Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela para conseguir el control del vector y la interrupción de la transmisión transfusional de la enfermedad de Chagas.
- d) Iniciativa Intergubernamental de Vigilancia y la Prevención de la Enfermedad de Chagas en Amazonia (AMCHA), se creó en 2004, integrada por Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guayana Francesa, Guyana, Perú, Surinam, y Venezuela.
- e) Control, prevención y vigilancia de la Enfermedad de Chagas en México, desde 2003, bajo la responsabilidad de la Secretaría de Salud de México, en el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades.

6.2. CONTEXTOS PRECEDENTES Y REGIONALES

En la tabla 6.1. se indican los objetivos, resultados obtenidos y acciones a desarrollar de las distintas iniciativas:

Tabla 6.1. **Objetivos, logros, y mejoras a desarrollar por las distintas iniciativas**

	INCOSUR	IPCA	IPA	AMCHA	MEXICO
OBJETIVOS	Eliminar <i>T. infestans</i> peri-domésticos	Control intradomiciliar de la transmisión vectorial de <i>T. dimidiata</i>	Control vectorial	Control vectorial (nuevos métodos e instrumentos)	Eliminar vector domiciliario
	Eliminar otros triatomos domésticos	Eliminar a <i>Rhodnius prolixus</i>	-	-	-
	Eliminar la transmisión transfusión.	Eliminar la transmisión transfusión	Control transfusional	-	-
	-	-	-	-	Mejora de complicaciones clínicas: tratamiento y manejo

	INCOSUR	IPCA	IPA	AMCHA	MEXICO
LOGROS CONSEGUIDOS	Interrupción de la transmisión de la enfermedad tras la eliminación o reducción de <i>T. infestans</i>	Avances significativos en la eliminación de <i>R. prolixus</i> de América Central	Apoyo a la prevención, control, vigilancia y cuidado de la salud en las instituciones	-	Optimización de la oportunidad, la accesibilidad y los fármacos disponibles
	Mejora real de la calidad y la racionalidad de los programas nacionales	99 % de control de la transmisión transfusional	-	-	-
	Mejora del control de calidad en la serología	La cooperación técnica entre países con la formalización de las «Normas y Reglamento para el Diagnóstico, Tratamiento y Vigilancia»	-	-	-
	Coordinación de las actividades en las zonas fronterizas	Logros sustanciales en la coordinación inter-sectorial, fortalecimiento y ampliación la cooperación internacional	-	-	-
	Evaluaciones sistemáticas de los sistemas de los bancos nacionales de sangre	Extender el área de cobertura de tratamiento etiológico	-	-	-
	Cooperación técnica entre los países y con la OPS para el desarrollo de proyectos de control	El diseño de estrategias de diagnóstico sero-epidemiológicas, vigilancia entomológica y el tratamiento colectivo con la colaboración de la comunidad	-	-	-
	Proyectos de cooperación técnica entre países con apoyo de la OPS	Lograr, en dos años, una cobertura mínima del 50 % en el control vectorial de <i>T. dimidiata</i> en regiones endémicas y desarrollar una prueba serológica universal	-	-	-
	Mejora de los protocolos técnicos para la normalización y la realización de patrones de estrategias y métodos de control y vigilancia	-	-	-	-

.../...

CONTROL

.../...

SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR TRYPANOSOMA CRUZI EN MUJERES LATINOAMERICANAS EN EDAD FÉRTIL Y EN EL EMBARAZO EN LA CAPV

	INCOSUR	IPCA	IPA	AMCHA	MEXICO
LOGROS CONSEGUIDOS	Elaboración y edición de publicaciones técnicas, divulgación y difusión	-	-	-	-
	Integración y fortalecimiento de Mercosur	-	-	-	-
	Reducción de la incidencia, seroprevalencia y de mortalidad y morbilidad, incluidos los ingresos hospitalarios	-	-	-	-
MEJORAS A REALIZAR	-	Desarrollar estrategias alternativas para el control y vigilancia de <i>T. dimidiata</i> ;	Atención sanitaria (diagnóstico, manejo tratamiento)	Desarrollo de nuevos métodos e instrumentos de vigilancia y control también debe contemplar, las oportunidades existentes	Sistema de vigilancia epidemiológica
	-	Llevar a cabo la vigilancia de otras especies emergentes de triatomíneos	-	Red/sistema de vigilancia internacional, con guías para la vigilancia y prevención	Mejorar el conocimiento de los médicos sobre atención clínica, diagnóstico, manejo y tratamiento
	-	Cribado del 100 % en las transfusiones	-	Propuestas de diagnóstico y estudios clínicos de la enfermedad	Optimizar a nivel nacional las capacidades del centro sanitario, cuantificación de la prevalencia, estudios sobre la morbilidad y mortalidad en grupos específicos
	-	Apoyar políticamente los países con medidas eficaces y ayudar a introducirlas en otros	-	Investigación dirigida a la epidemiología, diagnóstico, y tratamiento de la enfermedad	-
	-	Mantener el apoyo internacional de cooperación	-	-	-
	-	Desarrollar la vigilancia entomológica animando a la comunidad a participar	-	-	-

	INCOSUR	IPCA	IPA	AMCHA	MEXICO
MEJORAS A REALIZAR	-	Planear vigilancia epidemiológica y educación preventiva;	-	-	-
		Suministrar medicamentos y tratamiento etiológico			
	-	Asegurar la sostenibilidad de los programas nacionales y de la Iniciativa	-	-	-

6.3. INICIATIVA DEL CONO SUR (ICS), DESTINADO A ELIMINAR *TRITATOMA INFESTANS* Y LA INTERRUPCIÓN TRANSFUSIONAL TRANSMISIÓN DE TRIPANOSOMIASIS AMERICANA

En el taller sobre epidemiología anteriormente citado (165) se describe muy bien esta iniciativa: INCO-SUR fue la primera «iniciativa» resultante de un número de eventos científicos y de los logros visibles en el control vectorial y transfusional de la enfermedad en varios países. El gran esfuerzo de la comunidad científica de América Latina que contribuyó con su experiencia y conocimiento sobre las estrategias de control, se sumó al mayor conocimiento de los responsables políticos sobre el tema. El papel de la OPS, en todo este proceso, en términos de integración, apoyo técnico, así como de subsistencia del desarrollo de un programa exitoso, fue fundamental. Oficialmente, se inició en 1991 con el objetivo de mantener y consolidar los programas ya existentes (Argentina, Brasil, Chile y Uruguay) e iniciar definitivamente otras actividades y programas (Bolivia y Paraguay, y más tarde, al sur de Perú).

Pinto Dias nos relata en su artículo los objetivos, resultados e impacto de la iniciativa en la región (165):

Los *objetivos* básicos de la ICS fueron los siguientes:

- Eliminar *T. infestans* de las viviendas y de ecotopos peridomésticos de áreas endémicas o probablemente endémicas.
- Reducir y eliminar la infestación doméstica de otras especies de triatomíneos en las mismas zonas ocupadas por *T. infestans*.
- Reducir y eliminar la transmisión de *T. cruzi* por transfusión de sangre a través de la mejora de la red de los bancos de sangre y la selección eficaz de donantes de sangre.

Según avanzaba esta iniciativa, se asociaron otros temas, tales como el control y vigilancia de las especies de vectores secundarios, un mejor cuidado de personas infectadas y la prestación de atención a la vigilancia/tratamiento de la transmisión congénita (165).

En los primeros 14 años de actividad, se llevaron a cabo un total de 14 reuniones intergubernamentales, además de 35 reuniones técnicas y evaluaciones internacionales de los programas nacionales de control. Entre otros, algunos de los *resultados* (117) con más éxito:

- Interrupción de la transmisión de la enfermedad tras la eliminación o reducción de *T. infestans* en extensas áreas:
 - Uruguay (país) en 1997.
 - Chile (país) en 1999.
 - Brasil (seis estados) en 2000.
 - Brasil (dos estados) en 2001.

- Argentina (cuatro provincias) y Brasil (dos estados) en 2002.
- Paraguay (un departamento) en 2003.
- Argentina (dos provincias) y Brasil (dos estados) en 2004.
- Brasil (un estado) en 2005.
- Mejora real de la calidad y la racionalidad de los programas nacionales, incluso en términos de estabilización operativa y metodológica de la epidemiología, homogeneidad de los precios internacionales (como los insecticidas en aerosol y, máquinas para pulverizar, y reactivos de diagnóstico).
- Mejora del control de calidad en la serología frente a la enfermedad de Chagas para los laboratorios nacionales de referencia de la Región.
- Coordinación de las actividades binacionales en las zonas fronterizas.
- Evaluaciones sistemáticas de los sistemas de los bancos nacionales de sangre.
- Cooperación técnica entre los países y con la OPS para el desarrollo de proyectos de control apoyados internacionalmente.
- Proyectos «CTP» (cooperación técnica entre países con apoyo de la OPS).
- Mejora de los protocolos técnicos para la normalización y la realización de patrones de estrategias y métodos de control y vigilancia
- Elaboración y edición de publicaciones técnicas, con posterior divulgación y difusión.
- Integración y fortalecimiento de Mercosur, en el nivel del Sub Grupo de Trabajo número 11 (Salud)

6.4. IMPACTO GENERAL DE ICS EN LA REGIÓN:

Pinto Dias nos comenta en su artículo (117):

Antes de nada hay que recordar que se ha podido mantener su función durante los años, principalmente debido a la OPS y a los equipos técnicos nacionales. A pesar de los cambios políticos las actividades de las Iniciativas no se han interrumpido nunca. Más aún, se han llevado a cabo nuevas iniciativas y un programa de mejora, como las otras iniciativas regionales y el manejo y tratamiento de las personas infectadas a lo largo del tiempo. Por ejemplo, en problemas como la transmisión congénita y la resistencia focal a los insecticidas habituales se están empezando a trabajar a través de la investigación inducida y de experimentos de campo programados y estimulados en el contexto de la ICS.

En términos de indicadores clásicos, después de la aplicación de la ICS la tasa de infestación declinó enormemente en áreas altamente endémicas de Bolivia y Paraguay, así como en grandes focos residuales situados en el norte de Argentina y en algunos estados como Minas Gerais, Bahía y Río Grande do Sul. En la mayoría de las áreas en la que se trabajó, la infestación de las casas generalmente disminuyó a niveles prácticamente inexistentes (5 % o menos), del mismo modo que también se redujo la densidad de triatominos y la infección natural.

- La consecuencia inmediata ha sido la drástica reducción de la incidencia de la enfermedad de Chagas en esas áreas, la desaparición de los casos agudos y la reducción de la prevalencia en la infancia. En las áreas donde coexisten especies nativas en focos selváticos y peridomésticos, tras la eliminación de *T. infestans* pueden aparecer la invasión esporádica o progresiva de triatominos secundarios. Este caso es particularmente más importante en Brasil, con las especies *P. megistus*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *T. sordida*, u otras, una situación que requiere una vigilancia epidemiológica permanente.

- A medio plazo se puede observar una reducción significativa y progresiva de la seroprevalencia, revelando una situación de no-transmisión. Dicha reducción se reflejará directamente en otras vía de transmisión más importantes (transfusión y congénita) por la disminución de la prevalencia en donantes de sangre y las mujeres embarazadas.
- A largo plazo (décadas), el impacto también podrá observarse en términos de mortalidad y morbilidad, incluida la disminución de los ingresos hospitalarios por enfermedad de Chagas.

En términos epidemiológicos, el indicador principal se toma de estudios serológicos, especialmente de los niños nacidos desde el inicio del programa. La reducción en la seroprevalencia en otros grupos de edad y en los donantes de sangre también nos da información útil. En cuanto a los bancos de sangre de la región se introdujo legislación específica en todos los países, siendo obligatoria la selección serológica de los candidatos a donar sangre. A finales del siglo XX, la proporción de bancos de sangre controlados en la región llegaba a más del 90 %, con la excepción de Bolivia (35 %). También es importante la reducción de los donantes seropositivos en todos los países. Los resultados también muestran que la curva de edad-prevalencia se ha movido hacia las personas de mayor edad, lo que significa que en 10-15 años el riesgo de adquirir la enfermedad de Chagas por una transfusión habrá desaparecido prácticamente en las áreas controladas. El mismo razonamiento se puede aplicar a la transmisión congénita, considerando la progresiva desaparición de individuos seropositivos entre las mujeres en edad fértil.

6.5. AMÉRICA CENTRAL INICIATIVA PARA LOS PAÍSES (IPCA) CON EL FIN DE INTERRUMPIR LA TRANSMISIÓN VECTORIAL Y TRANSFUSIONAL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

En el taller de epidemiología (165) nos describen la creación, objetivos y logros de esta iniciativa:

En 1997, en la XIII Reunión de Sector de la Salud de América Central (RESSCA), celebrada en la ciudad de Belice, se aprobó la resolución n° 13, indicando que «el control de la enfermedad de Chagas es una actividad prioritaria para los países de América Central», con la aplicación de un programa multinacional para interrumpir la transvectorial y transfusional de la enfermedad. El programa es conocido como el IPCA y fue lanzado en octubre de 1997 en la ciudad de Tegucigalpa, Honduras. En colaboración con la OPS, se creó la Comisión Técnica Intergubernamental actuando la OPS como Secretaría Técnica.

Los *objetivos* (165) de la IPCA son los siguientes:

- Eliminación de *Rhodnius prolixus* en América Central.
- El control intradomiciliar de la transmisión vectorial de *T. dimidiata*.
- Eliminación de la transmisión transfusional de *Trypanosoma cruzi*.

Los principales *logros* (165) del IPCA, desde su fundación, en 1997, hasta ahora son:

- Avances significativos en la consecución del primer objetivo, con la futura eliminación de *R. prolixus* de América Central.
- 99 % de control de la transmisión transfusional.
- La cooperación técnica entre países a través de los proyectos CTP/OPS/Chagas/El Salvador/Guatemala/Honduras, con la formalización de las «Normas y Reglamento para el Diagnóstico, Tratamiento y Vigilancia Epidemiológica en los tres países».
- Logros sustanciales en la coordinación inter-sectorial, fortalecimiento y ampliación de la cooperación internacional en los países miembros de la IPCA, con el apoyo de agencias bilaterales, como Agencia de Cooperación Internacional Japonesa (JICA), la Agencia para el Desarrollo Internacional Canadiense (ACDI), otros organismos multilaterales.

- Extender el área de cobertura de tratamiento etiológico tanto en áreas de transmisión vectorial interrumpida como en áreas de baja vigilancia.
- El diseño de estrategias de diagnóstico sero-epidemiológicas, vigilancia entomológica y el tratamiento colectivo con la colaboración de la comunidad.
- La aprobación de la Resolución nº 5 en la RESSCA XXI, celebrada en la ciudad de Belice, en septiembre 2005, relativa a la enfermedad de Chagas: «tomar responsabilidad en lograr, en el plazo de dos años, una cobertura mínima del 50 % en el control vectorial de *T. dimidiata* en regiones endémicas y desarrollar una prueba serológica universal para *T. cruzi* para ser utilizada por todos los bancos de sangre, públicos y privados».

Los retos (165) para el futuro próximo de IPCA son los siguientes:

- Desarrollar estrategias alternativas para el control y vigilancia de *T. dimidiata* llevar a cabo la vigilancia de otras especies emergentes de triatomos como *R. pallescens*, *T. nitida* y *T. ryckmani*.
- Mantener el 100 % cobertura de control de calidad de la transmisión transfusional con las pruebas serológicas.
- Apoyar políticamente a los países con medidas eficaces y ayudar a introducirlas en otros, iniciando estas actividades.
- Mantener el apoyo internacional de cooperación.
- Desarrollar la vigilancia entomológica animando a la comunidad a participar.
- Planear vigilancia epidemiológica y educación preventiva.
- Suministrar medicamentos y tratamiento etiológico.
- Asegurar la sostenibilidad de los programas nacionales y la Iniciativa de América Central.

6.6. INICIATIVA PARA LOS PAÍSES ANDINOS (ACI) PARA CONTROL VECTORIAL Y LA TRANSMISIÓN TRANSFUSIONAL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

De nuevo en el taller de epidemiología (165) nos describen la creación, características, objetivos y otras acciones llevadas a cabo por esta iniciativa:

El programa Subregional Andino de Chagas y la Iniciativa Andina de Chagas es una actividad cooperativa que incluye a Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela con características específicas:

- Una amplia zona geográfica distribuida ampliamente.
- Presenta una importante diversidad eco-biológica.
- Factores biogeográficos están influenciados por la latitud y la altitud.
- Muestra diversas situaciones epidemiológicas de la enfermedad de Chagas endémica.
- Existe diversidad social, económica, cultural y étnica.
- Diferentes características y estructura peri e intradomiciliaria.
- Diversos vectores de *T. cruzi* están implicados en la transmisión.
- Existen diversos patrones de desarrollo y programas de control/vigilancia enfocados a la enfermedad de Chagas.

Los principales objetivos (165) de la Iniciativa Andina de Chagas son el control vectorial y transfusional de la transmisión de *T. cruzi* y/o a algunos de sus miembros les han apoyado CDIA/CE, SSA/CE, ECLAT, el CIDA, el TDR/OMS y la Secretaría Técnica de la OPS.

Una característica (165) interesante de los cuatro países miembros es que son parte de los programas geoepidemiológicos Andinos y Amazónicos. Gracias al trabajo colaborador de grupos impor-

tantes e instituciones investigadoras junto con el programa subregional, será más fácil desarrollar una mejor cooperación técnica organizada y coordinada horizontal e internacionalmente.

Aunque la Iniciativa, fundada en 1997, ha atravesado períodos de discontinuidad, ha dado un fuerte apoyo a la prevención, control, vigilancia y cuidado de la salud en las instituciones para la enfermedad de Chagas, desarrollados por los países miembros (165).

El plan de control antivectorial se basó en una propuesta desarrollada por la Iniciativa, en acciones operativas y en una metodología para priorizar el concepto de riesgo.

Algunas especies de triatomíneos de la subregión son factibles de ser controlados o eliminados como importantes vectores epidemiológicos, por ejemplo, *R. prolixus* (Colombia y Venezuela); *T. dimidiata* y *R. ecuadorensis* (Ecuador), y *R. ecuadorensis* y *T. infestans* (Perú) ya que son especies estrictamente relacionadas con construcciones humanas.

En lo que la atención sanitaria de la enfermedad de Chagas se refiere, es decir, el diagnóstico, manejo y tratamiento de los pacientes, son necesarios grandes esfuerzos para optimizar los recursos del sistema nacional de salud, con miras a una mejor cuantificación de la prevalencia, la morbilidad y la mortalidad, así como mejoras en el tratamiento desde el punto de vista prescripción, oportunidad, accesibilidad y disponibilidad de fármacos.

La Iniciativa Andina de Chagas es un proyecto subregional vigente que sirve como herramienta fiable para que los países miembros recojan y validen sus avances en un programa de cooperación internacional integrado.

6.7. INICIATIVA INTERGUBERNAMENTAL PARA LA VIGILANCIA Y LA PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN AMAZONIA (AMCHA)

En el taller de epidemiología (165) nos describen las características, objetivos y otras acciones llevadas a cabo por esta iniciativa:

Se pensaba que la transmisión de *T. cruzi* al ser humano no se producía en la extensa área del Amazonas. Se la consideraba como una enfermedad de espacios naturales abiertos o como el resultado de las actividades humanas, y que en las áreas de sombra, como el territorio del Amazonas, estaba restringida a casos accidentales o episódicos, siendo el resultado de la incursión del hombre en el ciclo selvático del parásito. La transmisión endémica en el hábitat domiciliario habría sido una consecuencia de la degradación de las condiciones naturales y del desplazamiento de vectores y de reservorios de sus ecotopos primitivos que se habrían adaptado a las condiciones de la vivienda humana.

La zoonosis chagásica en el Amazonas se conoce desde los primeros informes. En 1924, Carlos Chagas identificó *T. cruzi* en monos de la región. La aparición de la enfermedad no dependía de las condiciones domiciliarias y los patrones de transmisión parecían diferir de aquellos en los que la endemidad ya estaba establecida.

A pesar de grandes cambios ambientales y las nuevas actividades ocupacionales que ocurrieron o que están sucediendo en el Amazonas, no ha habido evidencia de una colonización domiciliar asociada a un patrón de transmisión, como ocurre en las infecciones endémicas naturales.

Sólo se han descritos unos pocos vectores domiciliarios en zonas restringidas de algunos países: *T. maculata*, *P. geniculatus*, *R. neglectus*, y *R. stali*.

Con raras excepciones, no existe un gran conocimiento sobre los mecanismos de *transmisión*. Estos se resumen de la siguiente manera:

- a) la *transmisión oral* por la contaminación de alimentos con heces, con los propios triatomíneos infectados o por la contaminación con los reservorios infectados,
- b) la *transmisión vectorial domiciliaria*, sin colonización, por la incursión episódica o repetitiva de los vectores en las casas,
- c) la *transmisión vectorial extra domiciliaria*, por la incursión de personas en el bosque y por el contacto con triatomíneos salvajes, como ocurre con *R. brethesi*, en la extracción de «piaçaba».

Estos elementos crean un patrón epidemiológico particular que requiere un enfoque especial. Esto exige que el estudio y desarrollo de métodos y técnicas sea adaptado a la diferente dinámica biológica del parásito, en la región.

Se identificaron varias áreas en las que se presentaba una relación directa entre el riesgo acumulado de transmisión de *T. cruzi* y la edad de la gente, que estaba en consonancia con los patrones de la enfermedad endémica. Esta situación se produce principalmente donde se encuentran *R. robustus*, *R. pictipes* y *R. brethesi* que están en contacto directo con la población, sin eliminar, sin embargo, la importancia de otras posibles especies de vectores.

El desarrollo de nuevos métodos e instrumentos de vigilancia y control también debe contemplar, las oportunidades existentes, representadas por los recursos establecidos, tales como la vigilancia en curso de la malaria, que afecta a grandes poblaciones en la región del Amazonas, y tener en cuenta las dificultades operativas debido a la extensión del territorio y su inaccesibilidad.

Hay varias observaciones documentadas que demuestran la existencia de situaciones endémicas, con bajos los niveles de transmisión, pero con formas clínicas severas, similares a las descritas en Sucumbíos (Ecuador), Guanía (Colombia), Cayena y Cacao (Guayana francesa), y en la región del Alto y Medio del Río Negro y en el estado de Amazonas (Brasil).

Varios países han reconocido la enfermedad de Chagas como un problema emergente y la comunidad científica y organizaciones relacionadas con el control están movilizadas para buscar una acción coordinada para hacer frente a ella. Como una consecuencia concreta, en la I Reunión Técnica Internacional que se celebró en 2002 en Palmari, se establecieron algunas directrices para la investigación, vigilancia y evaluación de las posibilidades de control. En esta reunión, se estableció el AMCHA y se recomendó a la OPS/OMS como Secretaría Técnica. Además, en las reuniones de Manaus (Brasil) en 2004 y de Cayenne (Guayana Francesa) en 2005 se acordó lo siguiente:

1. Se requería una red/sistema de vigilancia internacional adaptado a la subregión amazónica, con guías para la vigilancia y prevención de la enfermedad de Chagas.
2. Se discutieron las propuestas de diagnóstico y estudios clínicos de la enfermedad.
3. Se necesitaba una investigación dirigida a la epidemiología, diagnóstico, y tratamiento de la enfermedad.

También se acordó que la estrategia para la aplicación de la iniciativa debiera basarse en una progresiva caracterización de la enfermedad y de los patrones de infección con evaluación del riesgo.

6.8. CONTROL, PREVENCIÓN Y VIGILANCIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN MÉXICO

Nuevamente, en el taller de epidemiología (165) nos describen la creación, características, objetivos y otras acciones llevadas a cabo por esta iniciativa:

La enfermedad se conoce en México desde 1891, donde Latreille detectó uno de los vectores más importantes en México y América Central: *T. dimidiata*. Hoffman publicó un artículo acerca de po-

sibles anfitriones de *T. cruzi* en triatomíneos en Veracruz. En 1936, Luis Mazzotti identificó los dos primeros casos humanos provenientes de Oaxaca, y varios triatomíneos infectados. En los últimos 15 años, el interés por la enfermedad ha aumentado y hoy hay por lo menos seis grupos dedicados a la investigación y dos a la atención médica.

Los aspectos (165) generales relacionados con la infección/enfermedad de Chagas en México son:

- a) 19 regiones geográficas limitadas por dos costas (Golfo de México y el Océano Pacífico), dos «cordilleras» que atraviesan el país de norte a sur, una meseta central pegada a la costa y dos penínsulas, Yucatán y Baja California, con características específicas e importante ecológica y biológica;
- b) patrones biogeográficos influenciados por la latitud y altitud;
- c) diversas situaciones epidemiológicas de la enfermedad de Chagas endémica, poco conocidos;
- d) diversidad social, económica, étnica y cultural, con predominio de las zonas rurales áreas y con rápido crecimiento de urbanizaciones no planificado;
- e) diferentes estructuras de viviendas con características peri e intra domiciliarias;
- f) diversos vectores de *T. cruzi* implicados en la transmisión;
- g) dificultad reconocida para establecer un diagnóstico final de la situación;
- h) vigilancia pasiva de la enfermedad, asociado a la investigación y con las preguntas/averiguaciones de las personas con autodiagnóstico de la enfermedad;
- i) control impulsado por las actividades de control contra la malaria que afectaron a la transmisión en los últimos años debido al uso racionalizado de insecticidas intradomiciliarios, reduciendo la malaria en un 90 % en los últimos 10 años.

México se ha adherido a las iniciativas, principalmente en la eliminación de la transmisión intradomiciliaria y ya ha promovido un plan nacional que refuerza los programas existentes.

Se animó a las autoridades a constituir un Grupo Nacional Técnico coordinado por el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiología y Control de la Enfermedad, y con la participación del Centro Nacional de Transfusión de Sangre, el Instituto Nacional de Cardiología y la Universidad Nacional Independiente de México.

La enfermedad de Chagas aquí no se puede asociar a un procedimiento de control anti-vectorial específico, pero durante casi 50 años, la extensión del control de la malaria ha demostrado un efecto positivo en ella, ya que casi todas las áreas conocidas de infección por triatomíneos coinciden con las regiones afectadas con malaria. Con un programa específico contra el paludismo, un programa propio para el control de la enfermedad de Chagas se hace necesario. El modelo para controlar la malaria integra acciones sanitarias, básicas y de la vivienda. Estas acciones se evaluarán para observar su impacto sobre los vectores de la enfermedad de Chagas. Además, las acciones básicas para el control de la malaria, el dengue, alacranismo, y, más recientemente, los vectores de Chagas, ahora serán evaluadas conjuntamente.

Algunas especies de triatomíneos consideradas como importantes vectores epidemiológicos se pueden controlar: *R. prolixus* (bajo vigilancia, ya que recientemente se han detectado un pequeño número de especímenes en tres localidades en Chiapas y Oaxaca) y *T. dimidiata*. Otras especies nativas de relevancia vectorial son: *T. barberi*, *T. gerstaeckeri*, *T. longipennis*, *T. mazzottii*, *T. picturata*, *T. pallidipennis*, y *T. phyllosoma*.

Con el fin de detectar infección/enfermedad de Chagas pasiva y activa se necesita un sistema de vigilancia epidemiológica. Es necesario mejorar el conocimiento de los médicos sobre atención clí-

nica, diagnóstico, manejo y tratamiento del paciente afectado por la enfermedad. Esta mejora debe ser establecida a nivel nacional para optimizar las capacidades del centro sanitario, y empezando por la cuantificación de la prevalencia, llevando a cabo estudios sobre la morbilidad y mortalidad en grupos específicos, por ejemplo de la muerte súbita prematura. Es necesaria una optimización de la oportunidad, la accesibilidad y los fármacos disponibles y esto parece haberse resuelto con las intervenciones de la OMS, OPS y la Secretaría de Salud de México.

Los *objetivos* (165) más concretos son: el control de los vectores de Chagas domiciliarios, control de la transmisión transfusional, y reducir mediante el tratamiento y manejo adecuado de los pacientes, todas las complicaciones clínicas.

La Iniciativa mexicana para controlar la enfermedad de Chagas tiene el apoyo de la cooperación técnica y apoyo médico de la OMS, la Secretaría Técnica de la OPS, y Grupo Nacional Técnico. También se conoce el interés de México y otros países de América Central en el desarrollo de acciones integradas. De acuerdo con esto, se deben desarrollar las siguientes *acciones* (165):

1. Identificación de los grupos de investigación y de instituciones con conocida capacidad para la prevención, control, vigilancia, y la atención sanitaria de Chagas.
2. Estimular un mayor desarrollo en las actividades operacionales vínculos con la mejora organizada y coordinada horizontal y la cooperación internacional entre los países miembros.
3. Mayor participación en el control de calidad de diagnóstico de la enfermedad.

6.9. UN VISTAZO AL FUTURO

Schofield en su artículo (145) nos relata lo que para él y sus colaboradores nos podemos esperar o se debe hacer en relación a la enfermedad de Chagas:

El escenario futuro del control de la enfermedad de Chagas debe continuar basándose en la idea de eliminar todas las poblaciones domésticas existentes de triatominos, pero después aceptar que, la reinfestación puede ocurrir o que triatominos selváticos pueden entrar en una casa y causar la transmisión de la enfermedad sin establecer una nueva colonia doméstica –como en la Amazonia. En tal escenario, las campañas para controlar el vector a gran escala del estilo de las iniciativas multinacionales se harán poco a poco menos relevantes al ir eliminando las infestaciones domésticas existentes. Sin embargo, se requerirá la vigilancia y las intervenciones locales contra las nuevas colonias domésticas establecidas. Además, estará justificada la vigilancia parasitológica mejorada, con la idea de ofrecer tratamiento específico a todos los nuevos casos de infección y probablemente a los casos crónicos asintomáticos. La clave del tema es cómo mantener la vigilancia parasitológica y entomológica, especialmente al declinar la incidencia de la nueva infestación e infección. Se ha escrito mucho sobre la importancia de la participación de la comunidad, y de hecho es un componente clave tanto para intervenciones iniciales como para la subsiguiente vigilancia, pero el interés de la comunidad decae cuando hay poco que informar, por lo que es necesario un enfoque adicional.

Quizás uno de los mayores logros de las iniciativas multinacionales contra la enfermedad de Chagas de la vigilancia y el control de la enfermedad y de sus vectores es que están actualmente en la agenda de todos los países endémicos, incluso en la de aquellos como Belice, Guyana y Surinam, donde el problema ha sido mínimo. Esto significa que cierto grado de vigilancia del vector y de la enfermedad se llevará a cabo en todos los países de modo que, con el adecuado cotejo de los datos, sería posible detectar las tendencias epidemiológicas, y los potenciales nuevos brotes de transmisión. Pero esta idea debe enfatizar la necesidad de una adecuada revisión de los datos disponibles a nivel regional y nacional, que hoy día suele perderse entre los informes oficiales y las publicaciones. No hay actualmente un sistema internacional –además de la revisión de artículos– que pueda monitorizar y cotejar los datos epidemiológicos a una escala continental.

En el cuadro tomado del artículo de Schofield (145) se detallan las acciones (fases) actuales y futuras para el control de la enfermedad de Chagas:

Cuadro 6.1. **Fases actuales y futuras en el control de la enfermedad de Chagas**

Fase 1	
1.1.	Eliminación de todas las poblaciones domésticas de Triatominae existentes; esto requiere una o dos rondas de pulverización, diseñadas para tratar todas las casas en las localidades infestadas en el caso de Triatoma infestans o Rhodnius prolixus, o de limitarlas solamente a las casas que realmente están infestadas con otros vectores
1.2.	Organización de redes de vigilancia de base comunitaria. Estas informan de la presencia de infestaciones domésticas residuales (o nuevas) a un puesto local de voluntariado, con la presentación de informes adecuados a las autoridades locales de salud, confirmación entomológica y el acuse por escrito del informe del cabeza de familia, seguido de una intervención selectiva donde se ha requerido o solicitado
1.3.	Cribado mejorado y estandarizado de los donantes de sangre (con seguimiento clínico y orientación psicológica para los que se les diagnostica la infección)
Fase 2	
2.1.	Continuación y apoyo a las redes de vigilancia comunitarias, con intervenciones selectivas llevadas a cabo por autoridades de salud locales
2.2.	Desarrollo de las redes comunitarias como sistemas de vigilancia de salud general conectada al sistema de atención primaria de esa localidad
2.3.	Microscopía de sangre rutinaria a todos los casos de fiebres (combinado con técnicas hemoconcentración cuando sea posible) para diagnosticar nuevas infecciones y ofrecer tratamiento específico cuando sea necesario
2.4.	Fomento de los equipos de campo universitarios para llevar a cabo proyectos de investigación diseñados para evaluar el progreso del control de la enfermedad de Chagas y estudiar la biología de los vectores no-domésticos en regiones determinadas (esto podría implicar el apoyo logístico de las autoridades locales de salud y de apoyo financiero de los consejos nacionales de investigación)
Fase 3	
3.1.	Desarrollo de una base de datos nacional para la vigilancia epidemiológica de la enfermedad de Chagas utilizando las técnicas del SIG (Sistemas de Información Geográfica), con notificación obligatoria de todos los nuevos casos de infección y de todas las localizaciones domésticas, peridomésticas y selváticas de poblaciones de Triatominae (estos informes podrían ser una condición del apoyo municipal de investigación para equipos de investigación académica y de apoyo nacional a los centros de salud locales)
3.2.	Desarrollo de la base de datos de Chagas y del sistema de información para otras patologías, idealmente vinculado a un « fuerza de despliegue rápido » de profesionales altamente cualificados capaces de apoyar emergencias de control del vector o intervenciones de salud pública en todas las partes del país

La fase 1 está muy avanzada en la mayoría de los países, y un pequeño número –en particular Brasil y algunos países de América Central– están avanzando con la fase 2. Sin embargo, no hay ningún país que haya comenzado con la fase 3 (145).

En lo que respecta a otros modos de transmisión, aunque el proceso de eliminación del vector tendrá un impacto significativo en la transmisión de la enfermedad de Chagas, las transmisiones transfusional y congénita que son independientes de esto, debieran dirigirse en un contexto de salud pública por los servicios regionales de salud. Para la transmisión congénita, el control de las mujeres embarazadas con

enfermedad de Chagas y la monitorización y tratamiento de sus hijos infectados se debiera considerar. Sin embargo, no hay técnicas accesibles económicas y simples que permitan descartar la infección congénita en el momento del nacimiento en aquellos niños a los que no se les detecta la infección parasitológica. El cribado en los bancos de sangre se ha establecido en todos los países de Latinoamérica utilizando métodos de diagnóstico con alta sensibilidad y especificidad pero la sostenibilidad ha de ser garantizada (132).

Desde el punto de vista de los Servicios de Salud, sería necesario asignar recursos a las distintas especialidades implicadas (microbiología, ginecología, enfermedades infecciosas, neonatología,...) para implementar las medidas propuestas en este informe y realizar guías y protocolos clínico-diagnóstico-terapéuticos consensuados para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad en sus distintas fases.

Asimismo, sería necesario profundizar en el conocimiento de la transmisión vertical de *T. cruzi* en nuestro medio. En este aspecto la creación de equipos de trabajo mixtos entre España y los países Latinoamericanos pudiera resultar en un incremento del conocimiento sobre la enfermedad que se plasmará en un avance de los distintos esquemas de diagnóstico y de tratamiento disponibles en la actualidad.

6.10. LA GLOBALIZACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS: UN NUEVO DESAFÍO PARA LA ELIMINACIÓN

Los grandes logros obtenidos contra la enfermedad de Chagas lo recogen en el artículo de Jannin y cols. (76):

El reconocimiento de esta exitosa lucha se reflejó en la resolución adoptada por los miembros de la OMS durante la 51 Asamblea de Salud Mundial en 1998, que requería la eliminación de la enfermedad. Según se iba progresando, la estrategia de eliminación iba cambiando poco a poco y los especialistas de la enfermedad de todo el mundo le pidieron un nuevo empuje. Para responder a esta demanda, el Director General de la OMS estableció en Julio de 2007 una Red de Trabajo Global de la OMS para la Eliminación de la enfermedad de Chagas, para así proponer una nueva estructura para alcanzar la meta de la eliminación.

Se han identificado cinco nuevos desafíos además de los esfuerzos actuales para interrumpir la transmisión:

- Asegurar la sostenibilidad de las actividades de control en los países de baja endemicidad.
- La emergencia de la enfermedad en territorios considerados hasta ahora sin enfermedad, como la Amazonia, con mecanismos alternativos de transmisión.
- La re-emergencia de la enfermedad de Chagas en territorios como el área del Gran Chaco.
- Asegurar un diagnóstico y tratamiento (a tiempo) para la población infectada, incluyendo tratamiento específico para los pacientes crónicos.
- La globalización de la enfermedad en los países no endémicos como EEUU, Canadá, Europa, Japón y otros, debido al aumento de movilidad de la población de América Latina al resto del mundo.

Este tema particular de la globalización se ha considerado como un problema crucial, y ante la petición de muchos países, la OMS decidió dar apoyo a varios países estableciendo una «iniciativa intergubernamental no-endémica». El primer encuentro tuvo lugar en París, 22-23 de noviembre de 2007 para evaluar la situación en todo los países no endémicos. La estructura de la nueva iniciativa se estableció en el segundo encuentro en Barcelona, 5-6 de febrero de 2007. Las principales metas de esta iniciativa establecieron una red dirigida a coordinar las acciones para que no se produzca la transmisión a través de la sangre y de los trasplantes, para prevenir la transmisión materno-fetal, cuidar los enfermos crónicos y tener procedimientos de diagnóstico y cribado.

Respecto al control de la enfermedad de Chagas, tal y como indican Teixeira y cols. (152) en su revisión, las infecciones por *T. cruzi* se han detectado en múltiples especies de mamíferos (Artiodactyla, Carnívora, Chiroptera, Didelphimorphia, Perisodactyla, primates, Rodentia y Xenartha). Esto implica que el riesgo de una enzootia es global y, por tanto, la falta de políticas de contención adecuadas como el consejo y cribado preparto, contribuirían a la perpetuación del problema latente existente en la actualidad. En este sentido sería de gran utilidad la posibilidad de disponer de una vacuna efectiva contra el parásito. No obstante, no hay datos bibliográficos disponibles sobre esta posibilidad, si bien diversos autores apuntan hacia la dificultad de desarrollar una vacuna tal y como ocurre con otros parásitos, como por ejemplo, *Plasmodium spp.* o *Leishmania spp.* Este hecho enfatiza aún más si cabe, la necesidad de adoptar medidas de prevención, control y contención mencionadas a lo largo de este documento.

6.11. MIGRACIÓN INTERNACIONAL Y CONSECUENCIAS EPIDEMIOLÓGICAS, SOCIALES Y DE CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS /INFECCIÓN EN LOS PAÍSES NO EN-DÉMICOS

En el taller de epidemiología (165) se dan directrices para que los países sin enfermedad de Chagas endémica hagan frente a esta infección:

En los países no endémicos la principal preocupación sobre la enfermedad radica en el diagnóstico y manejo de los pacientes, dependiendo de la magnitud y el país de origen de emigración. La evaluación puede hacerse a través del conocimiento de la epidemiología y las situaciones de morbilidad en los países de origen, teniendo en cuenta que los Estados Unidos, la Unión Europea, Canadá, Australia y Japón son los países de acogida para los emigrantes de América Latina. En estas regiones, con ausencia de triatominos domiciliarios, la infección se puede transmitir por transfusión de sangre y derivados, por trasplantes de órganos o por vía congénita.

Desde los países endémicos se han propuesto unas recomendaciones a los países no endémicos:

1. Garantizar que la enfermedad de Chagas no justifica exclusión cuando están en juego razones de salud pública o laboral.
2. Los donantes de sangre deben ser examinados con pruebas serológicas cuando los antecedentes epidemiológicos son compatibles con la hipótesis de infección. Cuando esto no sea posible, los donantes deben ser excluidos.
3. Las pruebas serológicas frente a *T. cruzi* han de realizarse a mujeres embarazadas cuyo expediente revele que son compatibles con la hipótesis de la infección y a los recién nacidos cuyas madres tengan resultados serológicos positivos.
4. Promover el libre acceso a diagnóstico y tratamiento, siempre que sea requerido.
5. Los países no endémicos deben registrar y utilizar reactivos validados para el diagnóstico.
6. Desarrollar módulos de adiestramiento en asistencia sanitaria a enfermedad de Chagas en las facultades de medicina, sobre todo en los países de acogida de emigrantes.
7. Los problemas relacionados con la migración de pacientes chagásicos serían menores si la medicación específica para el tratamiento de la enfermedad fuese más efectiva y esto debería también tenerse en cuenta, que la industria farmacéutica productora de medicamentos existe en esos países.

7. SEROPREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS: LATINOAMÉRICA

7.1. SITUACIÓN ACTUAL DE LA TRANSMISIÓN DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LOS PAÍSES ENDÉMICOS

En Sudamérica, gracias a las iniciativas surgidas en las diversas áreas, se va consiguiendo cumplir los objetivos marcados por dichas iniciativas (tabla 7.1) y reducir la incidencia de la enfermedad (tabla 7.2) (99,116).

Tabla 7.1. Situación actual de la transmisión de la enfermedad de Chagas en los países endémicos

País	Transmisión por <i>T. infestans</i>	Riesgo de transmisión por otras especies	Eliminación del vector	Cobertura cribado en bancos de sangre	Seroprevalencia en bancos de sangre
Países del Cono Sur			<i>T. infestans</i>		
Chile	Interrumpida	Inexistente, con domiciliación improbable	Posible a corto plazo	100 % (área endémica)	0,97 %
Uruguay	Interrumpida	Inexistente, con domiciliación poco probable	Posible a corto plazo	100 % (área endémica)	0,6 %
Brasil	Parcialmente interrumpida (>80 % área original de distribución)	Existente	Posible a medio plazo	Públicos: 100 % Privados: no conocida (95 % estimada)	Públicos: 0,6 % Privados: no conocida
Argentina	Parcialmente interrumpida	Inexistente, con domiciliación poco probable	Posible a medio-largo plazo	100 %	Públicos: 3,84 %
Paraguay	Mantenida, con niveles moderadamente reducidos	Inexistente, con domiciliación poco probable	Posible a medio-largo plazo	98 %	4,34 %
Bolivia	Presente, tendencia a la reducción en áreas trabajadas	–	–	23 %	44,5 %
Países Andinos					
Perú	–	–	–	Desconocido	0,14 %
Ecuador	–	–	–	>90 %	0,13 %
Colombia	–	–	–	100 %	2,10 %
Venezuela	–	–	–	100 %	0,60 %
Países de Centro América			<i>R. prolixus</i>		
Belice	–	–	–	100 %	–
Costa Rica	–	–	–	100 %	–
Guatemala	–	–	conseguida	100 %	0,85 %
El Salvador	–	–	conseguida	100 %	2,50 %
Honduras	–	–	conseguida	100 %	2,05 %
Nicaragua	–	–	conseguida	98 %	0,35 %
Panamá	–	–	–	–	1,40 %

Tabla 7.2. Incidencia por años en los países de la iniciativa del Cono Sur, 1983-2002

País	Edad (años)	Infección en 1983 (tasas x 1.000)	Infección en 2002 (tasas x 1.000)	Reducción de la incidencia (%)
Argentina	18	4,5	1,2	85
Brasil	7-14	18,5	0,17	96
Bolivia	1-4	33,9	ND	ND
Chile	0-10	5,4	0,14	99
Paraguay	18	9,3	3,9	60
Uruguay	6-12	2,5	0,06	99

Los esfuerzos realizados por las distintas Iniciativas, en la consecución de los objetivos, están logrando que las tasas de prevalencia de la enfermedad se vayan reduciendo, lo cual queda reflejado en los datos que se van publicando. Por países aparecen las siguientes publicaciones.

Argentina

Gürtler y cols. nos describen qué sucedió en el área del Gran Chaco, tras rociar las casas con insecticidas piretroides: «Se redujo rápida y enormemente la infestación domiciliar y la infección por *T. cruzi* en *T. infestans* y en perros y más gradualmente se observó al disminución en la seroprevalencia en los niños menores de 15 años. En este mismo estudio se observó dos o tres años después, que como no se había continuado con el control del vector la transmisión resurgió. Una nueva campaña y ésta continuada, suprimió el restablecimiento de colonias de chinches y conllevó a la interrupción local de la transmisión de *T. cruzi*.» (62).

Desde las iniciativas continuamente reclaman que los esfuerzos deben ser mantenidos, a través de acciones y vigilancia, para conseguir la completa erradicación de la transmisión de la enfermedad. En esa misma área, Moreno y cols. publicaron en el año 2010 las siguientes cifras de seroprevalencia en las que se observa cómo ésta aumenta con la edad en todas las áreas (100):

Tabla 7.3. Seroprevalencia por edad de *T. cruzi*. La prevalencia total se refiere a la prevalencia en el área total de la región estudiada

Años de edad	Sero+ en región Norte (%)	Sero+ en región Noroeste (%)	Sero+ en región Oeste (%)	Prevalencia total
0-4	0	2,9	0	1,15
5-9	0	2,3	0,5	1,31
10-14	1,2	3,5	0,4	2,14
15-19	2	7,3	5,8	5,45
20-24	6,5	7,3	8,6	7,2
25-29	5	19,3	19,7	13,87
30-34	10,1	16,5	22,2	15,06
35-39	11,4	12,8	23,7	14,16
>40	30,2	25,8	23,1	27,45
Total	5,4	7,9	7,5	6,95

Sero+ Seropositivos

Tomado de Moreno y cols. (100)

Los autores nos indican que «la seroprevalencia media total fue de 6,95 %, varias veces menor que la encontrada en esa provincia en 2003 (27,8 %) o en 2004 (53,2 %)» (100).

Alonso y cols. publican un estudio en 2009 (2), «Se realizó en poblaciones aborígenes en el noroeste de Argentina donde la seroprevalencia fue de 54,3 % (247/455); 49,6 % en la provincia de Formosa y 57,3 % en la de Chaco, aumentando con la edad pero con altos valores para los menores de 15 años. Estos datos muestran la magnitud de la infección chagásica entre los aborígenes de ciertas áreas de la región del Gran Chaco americano. Esta región presenta características eco-epidemiológicas propias por lo que se requieren intervenciones enfocadas a la propia región y no enfocadas a áreas con límites políticos-administrativos».

Bolivia

En este país la iniciativa lleva retraso con respecto al resto de países de INCOSUR; así en un estudio publicado en 2008 por Medrano-Mercado y cols. (94) «la seroprevalencia en la ciudad de Cochabamba en niños (5-13 años de edad) es de 25 % en la Zona Sur y del 19 % en la Zona Norte. Esta prevalencia obtenida es notablemente superior a la de otros países. También los autores quieren llamar la atención sobre el riesgo que tienen los niños de estas zonas de infectarse a pesar de ser áreas periurbanas. La mayoría de estas áreas están habitadas por personas procedentes del medio rural y se localizan triatomíneos infectados en las viviendas. Por lo que no se puede ya definir esta enfermedad como puramente rural puesto que en zonas urbanas también se han localizado nuevas infecciones».

Brasil

Costa y cols. (30) describen cómo «en el estado de Minas Gerais, Brasil, 13 años (1983-1995) después de la aplicación del programa nacional se ha reducido un 83,5 % quedando la prevalencia en un 2,3 %, siendo 0 % en los grupos de edad entre 1-6 y 7-14 años».

En 2001 un estudio de seroprevalencia llevado a cabo por Oliveira y cols. (108) en la región oeste del la amazonia brasileña, identificó infección en personas entre 16 y 72 años con una prevalencia de 0,6 % en áreas urbanas y 1,9 % en áreas rurales.

En 2002 Borgues-Pereira y cols. en el estado de Piauí evaluaron la situación epidemiológica encontrando una seroprevalencia de 1,9 % que variaba de 0,1 % en niños menores de cinco años al 6,6 % en personas mayores de 79 años. La seroprevalencia fue significativamente mayor en mujeres (2,1 %) y en mujeres que con historial de aborto espontáneo (5,4 %). En comparación con el estudio serológico nacional (1975-1980) se había reducido significativamente la seroprevalencia (4,0 % a 1,9 %), lo que indica la eficacia de las medidas de control del vector llevadas a cabo entre 1975 y 2002.

En 2007 de Godoy y cols. (33) publicaron un estudio en el que las personas nacidas después de 1983 no conocían el vector transmisor de la enfermedad de Chagas, sin embargo, las personas más mayores sí que lo conocían.

En 2008 Borgues-Pereira y cols. (17) en el municipio de Jaguaruana, estado de Ceará relatan que «la seroprevalencia era 3,1 %, siendo mayor en las personas con mayor edad (0,8 % en el grupo de edad entre 10 y 19 años hasta 11,8 % en los mayores de 70 años). De las personas con serología positiva un 11,8 % presentaba parasitemia positiva por xenodiagnóstico y un 75 % PCR positiva. La tasa de prevalencia es parecida a la encontrada en el área de Caatinga de Piauí y mayor que en el área de Sertao de Paraíba, aunque en todas ellas los vectores históricos sean *T. brasiliensis* y *T. pseudomaculata*».

Además de la vía vectorial, conocida desde 1960, está descrita la vía oral para la transmisión de la enfermedad de Chagas. Así, en 2006, de los 178 casos de Chagas agudos descritos en el estado de Pará, en 11 de ellos se implicó el consumo del fruto de la palmera «açai» (86).

Paraguay

En 2003 se publicó un estudio realizado por Ferrer y cols. (42) en el Gran Chaco paraguayo donde estudiaron la seroprevalencia en dos poblaciones: paleoamerindios (43,5 %) y los no-indios (2,5 %). La edad de las personas sujetas a estudio variaba entre 2 y 80 años y la infección por *T. cruzi* aumentaba con la

edad, era mayor en varones y se agrupaba en familias. La diferencia de prevalencia entre indios y no-indios se asoció a la diferente exposición entre los dos grupos a los factores de riesgo de la infección, como son el tipo de casa y la presencia de perros en los lugares donde se duerme.

En el resto de países latinoamericanos la enfermedad de Chagas ha estado infravalorada y poco a poco se ha ido tomando conciencia de su existencia y de la necesidad de tomar medidas para erradicarla. En algunos países se empiezan a tomar las medidas surgidas gracias a las iniciativas y, en otros, estas medidas se están iniciando gracias al impulso generado por los informes y publicaciones suministrados por la comunidad científica.

Colombia

La enfermedad de Chagas en este país, es una entidad poco sospechada pero no por ello inexistente. Entre 2002 y 2005 Nicholls y cols. (106) informaron de diez casos procedentes de tres zonas endémicas: Putumayo, Arauca, Casanare y Santander. Siete eran adultos entre 18 y 50 años y tres niños entre los seis meses y los dos años. Ninguno de los casos se sospechó clínicamente y la etiología del cuadro se realizó como diagnóstico diferencial del síndrome febril que presentaban.

En 2007 Hoyos y cols. publicaron (71) un estudio de seroprevalencia (n=122) realizado en el municipio de Morroa, departamento de Sucre, donde se obtuvo un 3,28 % de personas con anticuerpos anti-*T. cruzi*, pero ninguna con PCR positiva.

Ecuador

Entre 2001 y 2003 Black y cols. realizaron un estudio de seroprevalencia en tres provincias rurales de Ecuador: Manabí (5,7 %), Guayas (1 %), y Loja (3,6 %). Los autores indican que: «En las dos primeras provincias la seroprevalencia aumentaba al aumentar la edad pero en Loja la mayor prevalencia la presentaban los niños menores de 10 años. Estos resultados indican que en Ecuador existe la transmisión de *T. cruzi* aunque exista variedad geográfica en dicha transmisión».

Perú

Bowman y cols. en el 2008 publican un estudio (18) realizado en las comunidades periurbanas de Arequipa (Perú) donde «la seroprevalencia en niños fue de 4,7 %, aumentando el riesgo de infección un 12 % por cada año de vida, presentando los adultos la misma probabilidad de estar infectados que los adolescentes. La introducción de *T. cruzi* en asentamientos periurbanos es relativamente frecuente y las afueras de las ciudades son focos importantes de la transmisión en la actualidad tras la introducción del vector desde las zonas rurales a las urbanas, por los hábitos de vida (labores agrícolas en época de cosechas en lugares endémicos) y de la relación con los animales».

Venezuela

Feliciangeli y cols. en el trabajo (41) publicado en 2007 nos recuerdan que: «En Venezuela se han realizado diferentes acciones para lograr controlar la enfermedad de Chagas. Entre los años 1952 y 1998 se usaron insecticidas, en 2000 se reconstruyeron casi medio millón de casas, consiguiéndose una reducción de la seroprevalencia de 44,5 % al 9,2 %, sin embargo, la transmisión no se ha interrumpido y puede incluso aumentar».

Rodríguez-Bofante y cols. publican un trabajo (128) en el que se detallan las seroprevalencias encontradas en el país en diferentes años y lugares: «En el año 2000 el Ministerio de Salud y Desarrollo Social (MSDS) informaba de una incidencia y una prevalencia de esta infección en la población venezolana del 4 % y 13 % respectivamente. En el estado de Lara la situación no parece ser diferente entre los años 2000 y 2005 con frecuencias de entre el 8 % y el 14,1 % en las áreas rurales según esta institución, mientras que en estudios realizados por investigadores independientes han revelado prevalencias del 13,3 %, 16,3 % y 22 %. En el municipio de Andrés Eloy Blanco en el estado Lara (el de mayor nivel de pobreza del Esta-

do) la prevalencia fue de 6,9 % siendo la mayoría de los seropositivos individuos mayores de 40 años. Sin embargo, no es menos importante la existencia entre los seropositivos de un 8,33 % en menores de 10 años. Este hallazgo indica la transmisión activa de la infección durante la última década a pesar de los esfuerzos realizados por el MSDS en el combate de la enfermedad de Chagas».

En el año 2008 Rojas y cols. publicaron otro estudio (133) de este mismo estado, Lara, en el que se determinaba 1,52 % de seroprevalencia en el municipio Urdaneta. Todos los positivos eran mayores de 15 años y la mayor prevalencia se situaba entre los mayores de 60 años.

En el estado de Barinas la seroprevalencia en menores de 15 años fue 0,12 % y en la población general, con edades entre 8 y 102 años de 3,3 % según el estudio publicado en 2007 por Fiangeli y cols. (41).

En 2005 Serrano y cols. realizaron un trabajo (146) de campo descriptivo de corte transversal en dos comunidades rurales del municipio Costa de Oro, estado Aragua, en menores de 16 años encontrando una seroprevalencia de 1,02 %. En los datos de 1996-1999 la OMS informó de una seroprevalencia del 1 % en menores de 10 años registrada en el país por el Programa de Control de la enfermedad de Chagas, lo cual concuerda con los datos encontrados por estos autores.

Costa Rica y Nicaragua

En el año 2006 Zeledón y cols. publicaron un estudio (166) serológico en niños entre 7 y 14 años realizado en Costa Rica y Nicaragua (en las zonas fronterizas) donde se observó poca transmisión de la enfermedad de Chagas en Costa Rica (0,24 %) y más elevada en Nicaragua (6,7 %).

Panamá

En Panamá Saldaña y cols. realizaron un estudio (139) a 206 niños (3-14 años) para detectar anticuerpos frente a *T. cruzi*. Los resultados de seroprevalencia fueron 2,9 % para *T. cruzi* y 6,8 % para *T. rangeli*. La alta prevalencia de anticuerpos frente a *T. rangeli* da idea del estrecho contacto entre el hombre y el vector, y de ahí el gran riesgo de sufrir enfermedad de Chagas en este país.

México

Cruz-Reyes y cols. realizaron una recopilación de las 907 publicaciones efectuadas entre 1928 y 2004 sobre 19 temas diferentes (31). «En los 31 estados se han informado 16.979 casos con una prevalencia total de 5,88 %, variando entre 1,04 % en Baja California Sur y 18,99 % en Querétaro. Hay que señalar que parece que en los estados del norte hay más casos en humanos. La prevalencia en bancos de sangre es del 2,03 % variando entre 0,17 % en el estado de Chihuahua a 16,98 % en Morelos». Los autores, como otros, hicieron hincapié en que la enfermedad de Chagas en México existe y si se busca se encuentra.

Salazar y cols. en un estudio (138) epidemiológico transversal en la población menor de 18 años que vivían en el estado de Veracruz entre 2000 y 2001, confirmaron «la transmisión vectorial activa con una seroprevalencia de 0,91 % (IC95 %: 0,85 % a 0,94 %), variando entre 0,4 % y 5,2 % (IC95 %: 1,2 % a 9,0 %) en las distintas jurisdicciones sanitarias. Según otros estudios realizados en el estado, la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* varió entre 3 % en población abierta, 1 % en donantes del estado de Veracruz y 4 % en donantes provenientes de todo el país. El grupo de edad que comprende a los menores de 18 años puede hacer de grupo centinela a fin de evaluar la conveniencia de aplicar medidas más estrictas de control del vector y de vigilancia epidemiológica».

Becerril-Flores y cols. en 2007 publicaron un estudio (7) realizado en el estado de Hidalgo. Estudiaron la seroprevalencia de tres zonas: El Ahorcado (5,13 %), San Antonio Tezoquipan (4,76 %) y Caltimacan (1,94 %), con un rango de edad entre 8 y 63 años, las personas seropositivas más jóvenes vivían en Caltimacan. En este estudio encontraron tasas mayores que las del ensayo seroepidemiológico nacional realizado entre 1987 y 1989 (1,5 % en el estado de Hidalgo frente al 1,94-5,13 % de este estudio). Sin embargo, no se pueden comparar los

datos de ambos estudios porque se analizaron zonas diferentes, y también muestra una sensibilidad distinta las técnicas utilizadas en ambos estudios. De todos modos, los autores sugieren que la ausencia de medidas de control, entre otras causas, puede ser un factor por el que aumente la posibilidad de infección por *T. cruzi*.

En 2008 Lozano-Kasten y cols. (88) encontraron en Jalisco una seroprevalencia en bancos de sangre de la ciudad de Guadalajara de 1,2 % y del 15 % en la población general. Los autores comentan la necesidad de instituir medidas de control de la transmisión, así como promover la enseñanza en los profesionales de la salud, realizar una vigilancia epidemiológica eficaz y que los dirigentes sepan que la enfermedad comprende viviendas, vectores, pobreza, ignorancia y deficiencia de los servicios sanitarios.

En el año 2009 Juárez-Tobías y cols. (77) publicaron un estudio realizado entre los Amerindios Teenek procedentes de nueve comunidades de la región Huasteca en el estado de San Luís de Potosí para determinar la seroprevalencia en esta comunidad aislada. La media fue 6,5 %, variando entre 2 % y el 13 % en las nueve comunidades. Por edades la seroprevalencia variaba entre el 4 % (entre 25-44 años) y 14 % (mayores de 65 años). La iniciativa en México se ha implantado recientemente, a raíz de un estudio piloto realizado en Oaxaca que presentó resultados prometedores. Los autores insisten en que en la región de Huasteca, y en otras áreas endémicas, es necesaria la introducción de vigilancia epidemiológica, programas de control del vector y de la enfermedad, así como campañas informativas en las comunidades donde se ha documentado la circulación del parásito y del vector.

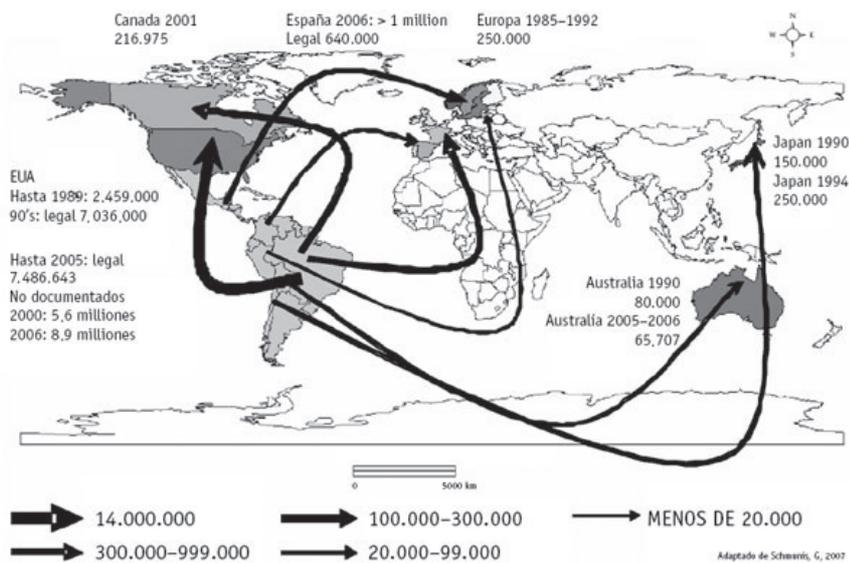
En un estudio publicado por Villagran y cols. (160) en 2009 de las áreas rurales del estado de Querétaro encontraron una seroprevalencia de 6,6 %, un valor superior al de la media nacional de seroprevalencia en México (1,6 %), pero menor que en la revisión realizadas con las publicaciones efectuadas entre 1928 y 2004.

7.2. PAÍSES CON INMIGRANTES LATINOAMERICANOS. PAÍSES NO ENDÉMICOS

El año pasado se cumplieron cien años del descubrimiento por Carlos Chagas. Mas en los últimos tiempos está sufriendo un notable cambio en su epidemiología. Las políticas de control realizadas en áreas endémicas han redundado en una notable reducción de la transmisión a la vez que se ha establecido un nuevo modelo urbano de transmisión para esta enfermedad que, tradicionalmente, estaba íntimamente ligada al entorno rural y a la pobreza. La migración humana desde las zonas endémicas a los países desarrollados, por razones económicas o políticas, ha convertido a la enfermedad de Chagas en un problema de salud global (121).

La enfermedad de Chagas en un principio era un problema de salud de América Latina pero hoy día se está convirtiendo en un problema de salud mundial. Para constatar esta realidad Schmunis y cols. presentan en su artículo (143) los siguientes datos: «En 2006, en Australia el 3,8 % de los 80.522 inmigrantes de 17 países endémicos probablemente estaban infectados con *Trypanosoma cruzi*. En Canadá en 2006, el 3,5 % de los 156.960 inmigrantes de América Latina se calcula que estaban infectados. En Japón, en 2007, había 80.912 inmigrantes de Brasil, 15.281 de Perú, y 19.413 de otros países de América del Sur, cuyo país de origen no fue identificado, una parte de los cuales podría estar también infectada. En 15 países de Europa en 2005, excepto España, el 2,9 % de los 483.074 inmigrantes legales de América Latina se estima estaban infectados por *T. cruzi*. En 2008, España recibió 1.678.711 inmigrantes de los países endémicos de América Latina, de los cuales 5,2 % estaban potencialmente infectados con *T. cruzi* y 17.390 pueden desarrollar la enfermedad de Chagas. Además, se estima que entre 24 y 92 de los recién nacidos en España de madres infectadas por *T. cruzi* pueden presentar infección congénita por *T. cruzi* en 2007 (la cifra varía dependiendo de la tasa de transmisión vertical con la que se calcule). En los EE.UU. se estimó que 1,9 % de los aproximadamente 13 millones de inmigrantes latinoamericanos en el año 2000, y el 2 % de 17 millones en 2007, estaban potencialmente infectados por *T. cruzi*. De éstos, 49.157 y 65.133 en 2000 y 2007 respectivamente, pueden tener o pueden desarrollar síntomas y signos de la enfermedad de Chagas crónica. Los gobiernos deben aplicar políticas de prevención de las donaciones de sangre y de órganos de los donantes infectados por *T. cruzi*. Además, se debe desarrollar una infraestructura que asegure la detección y el tratamiento de casos agudos y crónicos así como de los de infección congénita». (87)

Flujo de migraciones de América Latina hacia regiones no endémicas para la enfermedad de Chagas (Schmunis, G. 2007).



Número estimado de infectados y el número potencial de individuos que pueden tener o pueden desarrollar la enfermedad de Chagas en sus países de destino.
Tomada de Schmunis y cols. (143)

Figura 7.1. Movimientos migratorios de inmigrantes de países endémicos con *Trypanosoma cruzi*

7.3. SEROPREVALENCIAS ESTIMADAS

Diversos estudios realizados en los lugares de destino de los inmigrantes Latinoamericanos se han publicado, recogiendo las siguientes seroprevalencias (144):

Tabla 7.4. Seroprevalencias de inmigrantes en diversos lugares de destino

País	Año	Inmigrantes	Seroprevalencia (%)
Australia	2005-2006	65.255	16
Canadá	2001	131.135	9
España	2003	241.866	25
Estados Unidos	1981-2005	7,2 millones (legales)	5-47
		5,6 millones (ilegales)	6-59

Tomada de Schmunis y cols. (144)

Para realizar una estimación de la carga de la enfermedad de Chagas en cada país no endémico, es necesario estimar el número de inmigrantes por país de origen, puesto que en cada país de destino prevalecen una nacionalidades sobre otras. Después hay que conocer la prevalencia de la infección en cada país de origen. Al principio este dato se tomaba de la seroprevalencia en los donantes de sangre. En 2006, la OPS actualizó la prevalencia y la carga estimada de la infección en cada país, reconociendo que la precisión de los datos variaba por país. La aplicación de estos datos de prevalencia asume que la población inmigrante tiene el mismo riesgo que la población que vive en su país de origen. Teniendo en cuenta estas limitaciones, se aplicó la seroprevalencia de la OPS para estimar la carga de la infección por *T. cruzi* en varios países industrializados: (88)

7.4. AMÉRICA DEL NORTE, JAPÓN Y AUSTRALIA

Gascon y cols. (54) presentaron una visión de esta zona:

Estados Unidos no se puede considerar como país no endémico en el mismo sentido que países europeos o asiáticos, porque en la parte sur del país hay transmisión activa enzoótica de *T. cruzi* en mapaches, perros domésticos y otros animales y alberga vectores triatomínicos competentes. La transmisión autóctona a través de vector está documentada en siete casos. La rareza de la transmisión local parece estar debida a las mejores condiciones de las casas y vectores menos eficientes, pero muchas infecciones pueden no haberse detectado. No obstante, la inmensa mayoría de los individuos infectados en Estados Unidos (tabla) son inmigrantes que adquirieron la infección en sus países de nacimiento. Y es precisamente ese país donde más inmigrantes latinoamericanos residen, en 2005 se estimó que 22 millones de personas. De ellos, 74,3 % originarios de México, seguidos de los nacidos en El Salvador (6,4 %) y Guatemala (4,4 %). Según los métodos anteriormente descritos se ha estimado que 300.167 individuos están infectados.

En Canadá y Australia (tabla), el número total estimado de inmigrantes latinoamericanos es de 100.000 y 80.579, con 1.789 y 1.392 casos estimados de infección por *T. cruzi*, respectivamente (2006).

En Japón viven 37.100 latinoamericanos, el 84 % de Brasil, con un número estimado de 3.592 residentes infectados por *T. cruzi* (2006).

Tabla 7.5. **Inmigrantes latinoamericanos en Australia y Canadá por país de origen y número estimado de infectados por *T. cruzi***

País de origen	Australia, 2006		Canadá, 2006	
	Nº de inmigrantes	Nº estimado de infectados	Nº de inmigrantes	Nº estimado de infectados
Argentina	11.369	932	11.805	968
Bolivia	690	106	1.235	190
Brasil	7.491	97	12.500	163
Chile	23.305	653	10.595	297
Colombia	5.706	223	33.160	1.293
Costa Rica	310	13	2.295	99
Ecuador	1.508	18	5.650	68
El Salvador	9.400	573	14.975	913
Guatemala	313	25	5.085	402
Honduras	201	12	1.920	111
México	1.802	13	33.045	231
Nicaragua	672	11	2.145	36
Panamá	180	16	ND	–
Paraguay	341	32	1.550	144
Perú	6.322	190	10.435	313
Uruguay	9.376	113	3.480	42
Venezuela	1.536	61	7.085	283
Total	80.522	3.088 (3,8 %)	156.960	5.553 (3,5 %)

() Porcentaje estimado de inmigrantes infectados

Tomada de Gascon y cols. (54)

Tabla 7.6. **Número de inmigrantes latinoamericanos en los Estados Unidos por país de origen y número esperado de inmigrantes infectados por *T. cruzi*, e inmigrantes que necesitarán atención médica, 2000 y 2007**

País	2000			2007		
	Nº de inmigrantes	Nº estimado de infectados	Nº estimado inmigrantes, necesitarán atención médica	Nº de inmigrantes	Nº estimado de infectados	Nº estimado inmigrantes, necesitarán atención médica
Argentina	125.220	10.268	2.054	170.306	13.965	2.793
Bolivia	53.280	8.205	1.641	66.368	10.221	2.044
Brasil	212.430	2.762	552	344.929	4.484	897
Chile	80.805	2.263	453	88.271	2.472	494
Colombia	509.870	19.885	3.977	603.653	23.542	4.708
Costa Rica	71.870	3.090	618	87.220	3.750	750
Ecuador	298.625	3.584	717	402.294	4.828	966
El Salvador	817.335	49.857	9.971	11.108.289	67.606	13.521
Guatemala	480.665	37.973	7.595	683.807	54.021	10.804
Honduras	282.850	16.405	3.281	422.674	24.515	4.903
México	91.177.485	64.242	12.848	111.739.560	82.177	16.435
Nicaragua	220.335	3.746	749	233.808	3.975	795
Panamá	105.175	9.466	1.893	103.314	9.298	1.860
Paraguay	11.980	1.114	223	17.212	1.601	320
Perú	278.185	8.346	1.669	414.120	12.424	2.485
Uruguay	25.040	300	60	47.934	575	115
Venezuela	107.030	4.281	856	155.413	6.217	1.243
Total	121.858.180	245.787 (1,9 %)	49.157	161.689.172	325.671 (2 %)	65.133

() Porcentaje estimado de inmigrantes infectados

Tomada de Gascon y cols. (54)

7.5. EUROPA

De igual manera Gascon y cols. (54) también nos presentaron la población existente en Europa procedentes de Sudamérica.

- Italia tenía en 2008 unos 230.000 inmigrantes de los países endémicos de enfermedad de Chagas.
- En Francia el número estimado de latinoamericanos ha aumentado de 27.400 en 1999 a 105.000 en 2005.
- En Portugal viven 121.001 inmigrantes, el 46 % brasileños (2008).
- En Suiza viven 57.000 inmigrantes latinoamericanos (2008).
- España es el único país europeo que recoge en su censo el país de origen de los inmigrantes. (tabla 1).

A continuación se detalla el número de inmigrantes en países europeos:

Tabla 7.7. Inmigrantes legales en países europeos: nº estimado de infección por *T. cruzi* entre los inmigrantes y número de personas que necesitarán atención médica

Países	Nº de inmigrantes		Total	Nº estimado de infectados (2,9 %)	Nº estimado de enfermos de Chagas
	Sudamérica	América Central y México			
Austria	4.174	759	4.933	143	29
Bélgica (a)	7.972	1.102	9.074	263	53
Dinamarca	3.095	613	3.708	108	22
Finlandia	971	277	1.248	36	7
Francia (e)	25.357	3.950	29.307	850	170
Alemania	66.459	10.270	76.729	2.225	445
Grecia (b)	494	75	569	17	3
Italia (f)	167.197	11.599	178.796	5.185	1.037
Luxemburgo (c)	601	45	646	19	4
Holanda	19.714	1.638	21.352	619	124
Noruega	4.450	535	4.985	145	29
Portugal (d)	55.366	386	55.752	1.617	323
Suecia	15.778	1.815	17.593	510	102
Suiza	28.239	2.792	31.031	900	180
Reino Unido (b)	42.204	5.147	47.351	1.373	275
Total	442.071	41.003	483.074	14.010	2.803

Datos de 2005 obtenidos de Padilla y Peixoto, 2007, excepto los cálculos de los inmigrantes infectados estimados y aquellos que necesitarán atención médica. Excepciones a los datos de 2005: (a) datos de 2004; (b) de 2003; (c) de 2001; y (d) de 1999; (e) residencia permitida hasta 2004; y (f) residencia permitida hasta 2005

Tomada de Gascon y cols. (54)

Tabla 7.8. **Número estimado de inmigrantes latinoamericanos en España por país de origen, número estimado de infectados por *T. cruzi* y cuantos necesitaran atención, 2008**

Países	Nº de inmigrantes	Nº estimado de infectados	Nº estimado de inmigrantes que necesitarán atención médica
Argentina	196.447	16.109	3.222
Bolivia	236.023	36.348	7.270
Brasil	119.209	1.550	310
Chile	48.939	1.370	274
Colombia	284.043	11.078	2.216
Costa Rica	1.651	71	14
Ecuador	415.535	4.986	997
El Salvador	5.029	307	61
Guatemala	3.424	270	54
Honduras	21.520	1.248	250
México	23.673	166	33
Nicaragua	8.391	143	29
Panamá	2.228	201	40
Paraguay	66.950	6.226	1.245
Perú	123.173	3.695	739
Uruguay	61.407	737	147
Venezuela	61.069	2.443	489
Total	11.678.711	86.948 (5,2 %)	17.390

() Porcentaje estimado de inmigrantes infectados

Tomada de Gascon y cols. (54)

Sin embargo, los datos del cribado maternal realizado en hospitales de Valencia y Barcelona sugieren que la prevalencia de los bolivianos que viven en España es mucho mayor (17 % en Valencia, 27 % en Barcelona). Esto puede ser debido, como explican Gascon y cols. (54), a que principalmente vienen a nuestro país bolivianos de Cochabamba, Chuquisaca y Santa Cruz, donde la prevalencia de infección por *T. cruzi* en la población general es >20 %.

Schmunis y cols. nos explican (143) que estos datos por unos motivos pueden estar sobreestimados (se ha aplicado la seroprevalencia de 1990 y personas que se han incluido nacieron en los noventa) y por otros subestimados (se utilizan tasas de seroprevalencia actuales y muchas de estas personas nacieron en los setenta, cuando la tasa de infección era mayor en estos países).

7.6. REVISIÓN SEROPREVALENCIA Y CASOS APARECIDOS EN LITERATURA

En cada país receptor de inmigrantes van apareciendo publicaciones con los casos de enfermedad de Chagas así como con los distintos estudios de seroprevalencia que se van realizando, ya que en estos países receptores se empieza a tomar consciencia de la existencia de la enfermedad de Chagas dentro de sus fronteras.

Canadá

En Canadá, Schiper y cols. (142) publican los dos primeros casos de enfermedad de Chagas ocurridos en 1978: un inmigrante argentino nacido en Chile con fallo cardíaco congestivo y un niño con enfermedad subaguda de padres seropositivos diagnosticado postmortem.

En un estudio publicado en 2007 por Steele y cols. (149) y realizado en Canadá con 102 inmigrantes latinoamericanos encontraron una seroprevalencia baja, del 1 % (n=1, IC95 %: 0,2-5,3 %). En este estudio un tercio de los pacientes procedían de El Salvador, donde la seroprevalencia es del 6,4 %. Si se hubiesen incluido inmigrantes de países con mayor seroprevalencia como Argentina (12,5 %), Chile (12,2 %), Guatemala (9,4 %) o Brasil (8,3 %), que representaban menos del 25 % del estudio, probablemente la seroprevalencia hubiese alcanzado mayor valor. Por ello, Rodríguez-Morales y cols. (130) señalan que es importante incluir en los estudios de seroprevalencia la edad y las áreas específicas de residencia en los lugares endémicos y no endémicos.

Estados Unidos

Bern y cols. publicaron un estudio (10) en 2009 en el que recogían la carga que supone para Estados Unidos la enfermedad de Chagas, estimando que 300.176 individuos presentan la infección, con 30.000-45.000 casos de cardiomiopatía y hay anualmente entre 63-315 casos de infección congénita.

Meymandi y cols. en un estudio (97) realizado en la UCLA demostró que la enfermedad de Chagas es una causa común de cardiomiopatía en los inmigrantes latinoamericanos de EEUU, siendo la causa del 13,4 % de los casos en esta población.

Diaz, en su artículo (38) sobre riesgos de la enfermedad de Chagas, recoge los cuatro primeros casos de enfermedad de Chagas autóctona en Estados Unidos que se remontan a 1955 (un niño), 1984 (una señora de 56 años) y 1996 (dos niños) en Texas. El quinto caso se produjo en un niño de Tennessee y en 2007 el sexto caso en Nueva Orleans (Luisiana), una señora de 74 años.

Hanford y cols. nos indican (65) que: «A pesar de los paralelismos socio-económicos y las similares condiciones medioambientales entre Texas y la mayoría de América Latina, la enfermedad de Chagas en Texas no tiene gran relevancia. Sin embargo como el reservorio humano está aumentando debido a la inmigración, puede llegar a aumentar la incidencia de la enfermedad si no se toman las medidas adecuadas de prevención (intervención y educación) y resultará una carga para el sistema de salud».

Japón

Takeo y cols. (151) en 1999 publicaron el caso de un brasileño de 53 años que acude al Hospital Universitario de Nagasaki (Japón) con una enfermedad de Chagas cardíaca crónica, que se confirmó por la demostración de *T. cruzi* en sangre y la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*.

Europa

Melliez y cols. nos indican en su artículo que:

La seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en personas asintomáticas expuesta a *T. cruzi* en Europa es de entre 0,6 % y 4 %.

Se han publicado varios casos sintomáticos:

- 1988 en Francia hubo un caso de miocarditis aguda importado de Colombia.
- 1992 en España un caso autóctono de miocarditis aguda después de una transfusión sanguínea.
- 1996 en Suiza un caso de cardiomiopatía crónica importado de Bolivia.

- 1997 en Italia un caso de miocarditis aguda en un paciente brasileño.
- 2000 en Dinamarca un caso de Chagas crónico indeterminado en un paciente venezolano.
- 2005 en España dos casos: uno de un paciente boliviano con cardiomiopatía crónica y un caso autóctono con miocarditis aguda neonatal de madre boliviana.
- 2006 en Holanda un caso de cardiomiopatía crónica.

Italia

Guerri-Guttenberg y cols. (60) a propósito de que en Italia un 9,5 % de los inmigrantes son de origen latinoamericano, indican que la enfermedad de Chagas ha de considerarse como un problema de salud pública emergente, de modo que se necesitan guías clínicas y protocolos de salud para tratar esta enfermedad.

Suiza

Jackson y cols. (73) también indican que en Suiza, con varios casos diagnosticados de enfermedad de Chagas crónica, se hace necesario un cribado sistemático y el tratamiento de los individuos infectados para conseguir interrumpir la transmisión congénita y mejorar a largo tiempo el pronóstico.

Alemania

Frank y cols. publicaron en 1997 un estudio (46) realizado en Berlín a 100 personas, en el que obtuvieron una seroprevalencia del 2 %, y señalan que el cribado en latinoamericanos está indicado para reducir el riesgo de transmisión por transfusión sanguínea y transmisión congénita.

Francia

Melliez y cols. en su artículo (95) describen los nueve casos de enfermedad de Chagas importada habidos en Francia entre 2004 y 2006: un caso de miocarditis aguda (Guayana Francesa), cuatro casos de cardiomiopatía crónica (Bolivia) y cuatro casos de Chagas crónico indeterminado (Bolivia), con una edad media de 38 años (24-48) y la mayoría con antecedentes familiares de cardiomiopatía crónica.

Develoux y cols. (36) también nos describen los dieciocho casos que se recopilaron entre 2004 y 2007 en dos hospitales de París. Diecisiete provenían de Bolivia y uno de El Salvador; once presentaron Chagas crónico indeterminado, y siete cardiomiopatía crónica.

En 2009 Salamanca y cols. (136) estimaron que 1.464 (895-2.619) personas están infectadas por *T. cruzi* en Francia y que entre 63 y 555 pueden evolucionar a una cardiomiopatía.

Y en un estudio realizado por Lescure y cols. (84) entre junio de 2008 y junio de 2009 en el área de París, encontraron una seroprevalencia de 23,6 % entre 254 individuos, con una media de edad de 33 años (11-63). El 87,4 % eran bolivianos y el 100 % presentaba la forma crónica (23 % con manifestaciones cardíacas funcionales y 22 % con problemas gastrointestinales). La PCR fue positiva en el 61 % de los individuos seropositivos.

España

Portus nos detalla el estado de la enfermedad en nuestro país (121):

Los estrechos vínculos histórico-socio-culturales entre España y América Latina han propiciado que España sea uno de los principales países receptores de emigración de origen latinoamericano.

Hasta hace pocos años la enfermedad de Chagas era extremadamente rara en España, tanto por los pocos casos que se atendían en las consultas de medicina tropical de nuestro país como por los pocos casos graves publicados. La consulta de los trabajos recogidos en las bases de datos Medline y

Scopus hasta el año 2005 tan sólo ha aportado una cita de un caso grave de enfermedad de Chagas habido en España, consecuencia de una infección a través de un trasplante de médula ósea. Sin embargo, la situación ha cambiado notablemente en los últimos años y la reversión del flujo migratorio entre América Latina y España, que ha pasado a ser el mayor país receptor de emigrantes de esta procedencia de Europa, ha modificado notablemente el interés por esta enfermedad. La población inmigrante latinoamericana se ha visto multiplicada por cinco en el transcurso de los últimos años (desde 446.000 en 2001 a 2.409.977 en 2009, según datos del Instituto Nacional de Estadística).

Diversas aproximaciones realizadas para obtener la cifra estimada de infectados por *T. cruzi* en España, basados en la procedencia de los inmigrantes presentes en nuestro país y en la prevalencia de la infección en sus países de origen, sitúan el número de infectados entre 50-90.000. (Tabla 7.9.).

Tabla 7.9. **Estimación del número de infectados por *Trypanosoma cruzi* residentes en España, según diversos estudios**

País de Origen	Gascón et al. ⁴	Schmunis y Yadon ²
Argentina	11.882	16.109
Bolivia	16.106 (35.791)*	36.348
Brasil	1.436	1.550
Chile	653	1.370
Colombia	3.121	11.078
Costa Rica	15	71
Ecuador	7.833	4.986
El Salvador	238	307
Guatemala	115	270
Honduras	718	1.248
México	436	166
Panamá	0	201
Paraguay	1.735	6.226
Perú	1.102	3.695
Uruguay	568	737
Venezuela	1.654	2.443
Total	47.738 (67.425)*	86.948

*El cálculo se ha realizado a partir de las seroprevalencias halladas en hospitales españoles.

Tomada de Portus (121)

Las publicaciones por Comunidades Autónomas van apareciendo en la literatura recopilando la situación existente en ellas. En un principio se describieron los casos de enfermedad de Chagas que aparecían, así como las prevalencias globales:

- En 1992 se describe el primer caso mortal de Enfermedad de Chagas agudo en Europa tras un trasplante de médula ósea en Córdoba (161).
- Se ha publicado que un 3 % de los inmigrantes latinoamericanos que viven en España en 2003 eran positivos a *T. cruzi* (131).

Posteriormente al aumentar el interés por la enfermedad comienzan a aparecer estudios más pormenorizados:

- Rodríguez-Guardado y cols. en Asturias entre junio de 2006 y junio de 2008 realizaron un estudio (129) a la población inmigrante procedente de áreas endémicas para detectar anticuerpos frente a *T. cruzi*. De 64 pacientes analizados, 14 % presentaron anticuerpos, seis pacientes procedían de Bolivia, dos de Paraguay y uno de Brasil.
- Soriano y cols. entre marzo de 2006 a marzo de 2007 realizaron un estudio (148) en Barcelona que: «Comprendía dos grupos de población para estudiar la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas. En el grupo de los niños (entre 0 y 14 años, n=108) trece reaccionaron con una técnica inmunocromatográfica (ICT) y sólo tres presentaron anticuerpos con dos técnicas de ELISA, estos tres niños tenían entre 2-5 meses de edad y habían nacido en España de madres procedentes de Bolivia (Sucre y Santa Cruz). Realizado el análisis a los ocho meses los tres niños habían negatizado los anticuerpos (de procedencia materna). El grupo de mujeres en edad fértil (entre 15 y 45 años, n=116) presentó una seroprevalencia de 4,3 %, las cinco mujeres positivas procedían de Bolivia (Sucre, Santa Cruz y Cochabamba)».
- Un estudio descriptivo transversal realizado por Gonzalez y cols. (58) en la Unidad de Medicina Tropical y Salud Ambiental de Barcelona se realizó durante 2004-2006 a todos los pacientes procedentes de América Latina diagnosticados de enfermedad de Chagas. A 46 pacientes de 216 se les diagnosticó enfermedad de Chagas (21,3 %) y 17 tenían una prueba parasitológica positiva (PCR). 82.6 % eran mujeres. 42 procedían de Bolivia (52,38 % de Cochabamba), dos de Brasil, uno de Honduras, y uno de Chile.
- Muñoz y cols. en un estudio (103) realizado durante tres años en dos centros de enfermedades importadas en Barcelona, encontraron una seroprevalencia de 41 % entre los 489 adultos estudiados, distribuyéndose según país de origen de la siguiente forma:

Tabla 7.10. **Distribución según país de origen de los pacientes infectados de estudio publicado por Muñoz y cols.**

País de origen	N	Nº de infectados (%)
Bolivia	269	175 (65 %)
Ecuador	101	3 (3 %)
Colombia	29	2 (7 %)
Perú	19	3 (16 %)
Argentina	18	10 (56 %)
Brasil	14	2 (14 %)
Honduras	14	2 (14 %)
Paraguay	6	2 (33 %)
Venezuela	5	1 (20 %)
Nicaragua	4	0
Chile	4	2 (50 %)
Uruguay	3	0
México	2	0
El Salvador	1	0

Tomado de Muñoz y cols. (103)

Los autores comentan en su artículo (103) que estos datos de prevalencia pueden que estén sesgados y no puedan ser extrapolados a la población inmigrante general puesto que provienen de dos clínicas especializadas en enfermedades importadas.

- Gil-Brusola y cols. (56) realizaron en Valencia en un análisis retrospectivo de 10 meses del año 2007, se estudiaron 97 pacientes provenientes de Bolivia (54 %), Ecuador (22 %), Argentina, Perú, Paraguay, República Dominicana, Colombia y Venezuela (distribuidos equitativamente) con una seroprevalencia de 12,5 %, la mayoría procedentes de Bolivia y mujeres en edad fértil.
- Haro y cols. realizaron en Sevilla en un estudio (66) prospectivo observacional de todos los pacientes atendidos en el hospital Virgen del Rocío diagnosticados de enfermedad de Chagas entre 2005 y 2009. Realizaron pruebas serológicas a 150 pacientes presentando un 22 % anticuerpos frente a *T. cruzi*: treinta y dos Bolivianos (veintidós de Santa Cruz, nueve de Cochabamba y dos de Chuquisaca). Un 66,7 % (veintidós) de los pacientes presentaron una PCR positiva en sangre. Dieciseis se encontraban en la fase crónica indeterminada (asintomática) de la enfermedad. El resto quince tenía manifestaciones cardíacas y dos enfermedad diseminada (transmisión materno-fetal y receptora de trasplante hepático).

Esta es la situación actual de la enfermedad de Chagas en los distintos países, endémicos o no, en donde la seroprevalencia va disminuyendo por las Iniciativas (países endémicos) o surgiendo (países no endémicos) por la llegada de inmigrantes.

Otras vías de transmisión como la vertical, transfusional o por trasplante de órganos tienen un importante papel en el mantenimiento de la enfermedad en aquellas áreas geográficas en las que los programas de control llevados a cabo han reducido, o incluso eliminado, la transmisión vectorial, así como en la diseminación de la enfermedad a áreas no endémicas (121).

En ausencia de vectores triatomíneos, la transmisión de la enfermedad de Chagas en áreas no endémicas se realiza a través de la transfusión sanguínea, trasplante de órganos y transmisión vertical, aparte de otras vías más o menos anecdóticas como pueden ser los accidentes de laboratorio o la praxis clínica (121).

El cribado a gran escala de la enfermedad de Chagas en los bancos de sangre constituye otro de los pilares fundamentales del control en área endémica. Dicho cribado se inició en los países endémicos en la década de los 80 después de la emergencia del SIDA y aun cuando en la actualidad alcanza la totalidad de las donaciones en la mayoría de los países endémicos, la cobertura es todavía muy fragmentaria en países como Bolivia (86 %) y Chile (75 %) (121).

Las medidas de control en los países de origen han tenido efectos en la epidemiología de los países no endémicos. El control de los vectores y el cribado de los bancos de sangre han disminuido la transmisión con menores tasas de infección entre los niños y jóvenes y la población estimada en riesgo de transmisión vectorial disminuyó de 100 millones en 1990 a 60 millones en 2006. El control efectivo del vector ha reducido la tasa de reinfección. Algunos autores piensan que la reinfección es el factor principal en la severidad de la morbilidad que aparecía en décadas anteriores, y que la eliminación de la reinfección ha disminuido la severidad de la enfermedad de Chagas crónico y en las infecciones congénitas. Por lo que estos autores sugieren que en lugares sin transmisión vectorial (por ejemplo, países no endémicos) deberían tener menores tasas de morbilidad. Pero no existen datos que apoyen o desmientan estas hipótesis (54)

8. SITUACIÓN EN BANCOS DE SANGRE

8.1. ASPECTOS LEGALES DE LA DONACIÓN DE SANGRE EN RELACIÓN CON LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Hernández en su artículo (69) nos relata la situación actual existente en el mundo respecto a qué se está haciendo para eliminar la transmisión transfusional:

Los países con normativa específica para prevención de la transmisión de la enfermedad de Chagas a través de las transfusiones se pueden dividir en dos grandes grupos:

1. Integra a la totalidad de los países de Centro y Sudamérica continentales, en los que la enfermedad es endémica.
2. Constituido por los países que son receptores de emigración procedente de las zonas endémicas. Este grupo está formado, fundamentalmente, por los norteamericanos (EE.UU. y Canadá) y por los componentes de la Unión Europea.

Las legislaciones a aplicar en uno y otro grupo son diferentes. Fundamentalmente porque en los países endémicos se exige un cribado analítico de las donaciones en orden a eliminar los portadores del parásito de la donación de sangre (aún hoy en día las transfusiones se consideran la segunda causa, en importancia, de la transmisión de la enfermedad en Centro y Sudamérica), y en los países no endémicos, receptores de emigración las medidas preventivas se dirigen, por ahora, a eliminar de la donación a los posibles portadores, a través de la Historia Clínica de los candidatos a donantes, estando actualmente en estudio la inclusión de un cribado para los donantes de riesgo.

8.1.1. Países endémicos

En gran parte de los 19 países donde se reconoce la endemia de Chagas, los datos de prevalencia en donantes de sangre son heterogéneos; los datos se refieren, generalmente, a medias en el país y las diferencias entre las áreas urbanas y rurales son considerables, debido a lo cual el establecimiento de comparaciones, es cuando menos, poco significativo.

Si bien, en teoría, el cribado de las donaciones de sangre mediante la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* es obligatorio en todos los países, el porcentaje de cobertura es, asimismo, heterogéneo a pesar de que en los últimos años ha aumentado considerablemente, algunos países todavía no han alcanzado el 100 %.

Díaz-Bello y cols. nos explican (39) lo que sucedió en 1991, durante el encuentro del Programa Iniciativa del Cono Sur, donde se definieron los parámetros para el control serológico pre-transfusional en todos los países de América Latina. En ese encuentro también se especificó que para el diagnóstico se deben utilizar al menos dos métodos serológicos con principios diferentes con el fin de disminuir el riesgo de transmisión, ya que utilizar diferentes métodos aumenta la probabilidad del diagnóstico. Debido a que antígenos de *T. cruzi* son compartidos por otros parásitos, el diagnóstico serológico de la infección por *T. cruzi* es complejo, tanto por resultados falsos positivos como por falsos negativos.

8.1.2. Países receptores de emigración

Hernández (69) nos informa de la normativa vigente en los distintos países.

8.1.2.1. Estados Unidos y Canadá

La normativa en estos países tan solo elimina definitivamente de la donación a las personas que hayan padecido la enfermedad de Chagas. Las diferentes agencias que intervienen en la donación de sangre

(Asociación Americana de Bancos de Sangre, Cruz Roja Americana, Bancos de Sangre Comunitarios, Cruz Roja Canadiense) hacen rellenar cuestionarios a los candidatos a donante para detectar a posibles portadores asintomáticos, aunque se han demostrado ineficaces en identificar algunos donantes infectantes. De hecho, tanto en Estados Unidos como en Canadá, se han publicado al menos ocho casos de Chagas transfusional en los últimos años.

8.1.2.2. Unión Europea

Las normativas nacionales se han de adaptar a las directivas europeas y, en este sentido, la aparición de la última directiva europea, aplicable a partir de febrero de 2005, ha supuesto un retroceso con respecto a las últimas recomendaciones del Consejo de Europa, vigentes desde 1995. En estas últimas a parte de excluir de manera permanente la donación a las personas con historia de enfermedad de Chagas, se recomendaba que los que hubiesen residido en áreas endémicas deberían ser excluidos de la donación de glóbulos rojos. Por otra parte, y como medida preventiva de paludismo, se recomendaba que los viajeros procedentes de áreas tropicales no efectuaran donaciones de sangre durante los seis meses posteriores a su regreso siempre y cuando no hubieran sufrido accesos de fiebre o enfermedades no aclaradas, en cuyo caso la exclusión sería permanente. Al coincidir algunas áreas endémicas de paludismo con endémicas de Chagas, esta medida contribuía a la prevención del Chagas transfusional. La última Directiva mantiene la exclusión permanente de las personas diagnosticadas de Chagas, pero no especifica medidas concretas para residentes en zonas endémicas o viajeros procedentes de las mismas.

La legislación europea que es más restrictiva en orden a prevenir la transmisión transfusional de *T. cruzi* es la británica, vigente en *Reino Unido e Irlanda* que elimina definitivamente de la donación de sangre no sólo a los que hayan padecido la enfermedad, sino a cualquier persona nacida en Centro y Sudamérica, a los hijos de madres nacidas en los mismos países, a los que hubiesen recibido transfusiones en los mismos y a los que hubiesen vivido o trabajado en comunidades rurales Centro y Sudamérica por un periodo de cuatro meses o superior. En todos los casos aceptan la donación siempre y cuando el candidato donante en las anteriores condiciones se demostrase negativo para una prueba serológica, validada, en un plazo superior a los seis meses de la última exposición. De hecho, la medida anterior representa un cribado de las personas de riesgo.

Francia: Assal y cols. recogen en su artículo (4) que en 2007 debido al incremento de la prevalencia de la enfermedad de Chagas en la Guayana Francesa, las autoridades sanitarias decidieron interrumpir la donación de sangre en este territorio e implementar un cribado para *T. cruzi* en los donantes con riesgo de padecer la enfermedad. El cribado (dos pruebas de ELISA con antígenos recombinantes una y crudos la otra) se realizará en donantes de sangre de riesgo: personas nacidas en o de madre nacida en zona endémica y donantes que han viajado a América Latina independientemente de la duración de su estancia.

España: desde 2005 queda regulado por ley la donación de sangre y derivados de personas procedentes de América Latina debido a la posible infección por *Trypanosoma cruzi*. El Real Decreto 1088/2005 (1), de 16 de septiembre, establece los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión.

Así, en su anexo II, Criterios de selección de donantes de sangre total y componentes sanguíneos, Sección B, Criterios de exclusión de donantes se establecen: 120

Los criterios de exclusión permanente para donantes homólogos y se incluyen:

- A los que padecen o han padecido enfermedades infecciosas como:
 - Hepatitis B.

- Hepatitis C.
- Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida o ser portador del VIH I/II.
- Infección por Virus Linfotrópico Humano de células T (HTLV I/II) o ser portador de anticuerpos anti-HTLV I/II.
- Babesiosis*.
- Kala Azar (Leishmaniasis visceral)*.
- Tripanosomiasis americana por *Trypanosoma cruzi* (enfermedad de Chagas)*: los donantes nacidos, o hijos de madres nacidas, o que han sido transfundidos en países donde la enfermedad es endémica, podrán ser aceptados si una prueba validada, dirigida a la detección de portadores de la enfermedad, resulta negativa

Si la donación se destina exclusivamente al fraccionamiento del plasma, no se requieren las pruebas y los periodos de exclusión señalados con un asterisco (*).

- Personas con antecedentes de haber sido transfundidas en el Reino Unido o en países donde son endémicos: paludismo, sida, infección por HTLV y enfermedad de Chagas.

En el anexo III, Requisitos de verificación para las donaciones de sangre total y componentes sanguíneos, se establece:

- En las donaciones de sangre total, donaciones por aféresis y autodonación de predeposición, se realizarán las pruebas analíticas necesarias para detectar portadores de otros agentes infecciosos en determinados donantes por sus circunstancias epidemiológicas concretas.
- Las técnicas utilizadas en estas pruebas deberán tener, en cada momento, un nivel óptimo de sensibilidad y especificidad, y los reactivos empleados en ellas cumplirán la normativa sanitaria nacional.

Y por último, en el anexo IV, Criterios de interpretación de las pruebas de detección de agentes infecciosos en las donaciones, para asegurarse de que sólo se aceptan donaciones negativas (incluyendo algoritmos de interpretación de resultados de pruebas de cribado y confirmatorias) así como informar y orientar al donante positivo adecuadamente para que reciba el tratamiento conveniente y la realización del seguimiento adecuado.

A partir de este momento, la mayoría de los centros de transfusión de España han implementado el cribado selectivo mediante la detección de anticuerpos frente a *T. cruzi* en la sangre de los donantes procedentes de zonas endémicas. Algunos centros, sin embargo, prefieren rechazar automáticamente los donantes de dicha procedencia, sobre todo en aquellos casos en los que la población de América Latina residente en su área de influencia es escasa. Son objeto de cribado los donantes nacidos en países endémicos, los hijos o nietos de madres nacidas en países endémicos o que hayan recibido transfusión sanguínea en algún país endémico. El Real Decreto no incluye las personas nacidas en España que han residido en áreas endémicas, aun cuando algunos centros de transfusión las incluyen en el cribado (121).

Al igual que en España otros países han adoptado igualmente leyes reguladoras de donación respecto a las personas de origen latinoamericano.

En Estados Unidos, la FDA aprobó a finales de 2006 un ensayo ELISA (Ortho) para la realización del cribado de sangre de personas nacidas o hijos de mujeres nacidas en Latino América.

8.2. CONSECUENCIAS DE LAS DONACIONES (SANGRE Y ÓRGANOS) INFECTADAS POR *T. CRUZI*

Len y cols. explican (83) la situación en la que se encuentran los receptores de trasplantes: «El tratamiento inmunosupresor que recibe el receptor de un trasplante de órgano sólido dificulta la respuesta defensiva frente a la infección. La transmisión de la misma desde un donante puede provocar la disfunción o pérdida del injerto e, incluso, la muerte del receptor si no se establecen las medidas preventivas oportunas. Este riesgo potencial debe ser evaluado minuciosamente con la intención de optimizar el uso de órganos, especialmente en aquellos casos procedentes de donantes infectados, sin aumentar la disfunción del injerto y la morbimortalidad en el receptor».

Como ya se ha comentado, Leiby y cols. recalcan en su artículo (80) que: «En algunos países se realiza una encuesta antes de la donación para excluir a las posibles personas infectadas, pero las preguntas sobre el lugar donde se ha vivido, no sólo adolecen de falta de sensibilidad para identificar todos los donantes positivos, sino que también los donantes dan respuestas no creíbles o inconsistentes».

Díaz-Bello y cols. nos indican en su artículo (39) como reconocer a un paciente infectado: «La determinación de anticuerpos es el único método eficaz para descartar a los pacientes infectados. Aunque sensibles, las técnicas disponibles para el serodiagnóstico de la infección por *T. cruzi* no son 100 % específicas y debido a que no existe ningún método "patrón de oro", la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la realización de tres pruebas serológicas para la determinación de anticuerpos anti-*T. cruzi*. Por lo general, los bancos de sangre utilizan una sola prueba diagnóstica para determinar si un donante va a ser aceptado o no».

De nuevo Leiby y cols. en otro artículo (81) nos señalan las características de detección del parásito: «El número y volumen de muestra necesario para tener una probabilidad razonable de detectar parasitemia varía entre las personas, las cepas de *T. cruzi* y los métodos de detección. Los resultados variables de muestras seriadas pueden reflejar fluctuaciones en la densidad del parásito o bajas parasitemias que, por casualidad, se detectan intermitentemente. Aunque los donantes con parasitemia demostrable continua pueden tener un mayor potencial de transmisión, es prudente asumir que un inóculo bajo podría causar la infección».

En el medio ambiente *T. cruzi* puede sobrevivir 250 días pero puede sobrevivir entre 10 y 18 días bajo las condiciones de los bancos de sangre donde se añaden algunos conservantes a la sangre (67).

Díaz-Bello y cols. nos señalan las características de contagiosidad en transfusiones (39): el riesgo de infección después de la transfusión de una unidad de sangre infectada con *T. cruzi*, depende principalmente de la cantidad de sangre transfundida, la concentración del parásito en la unidad de sangre transfundida y del estado inmunológico del receptor.

Afortunadamente, sólo una fracción de los receptores de sangre infectada se contagiará, por ejemplo, entre el 12 y el 20 % en Argentina, Brasil y Chile, y hasta el 48 % en Bolivia. Sin embargo, este riesgo puede ser incluso menor: en Estados Unidos, se ha informado que 11 personas que habían recibido unidades de sangre serológicamente positivas para *T. cruzi* permanecieron seronegativas (144).

Sobre la clínica que presenta un paciente infectado en un trasplante Ramos-Echeverría y cols. señalan: «La infección chagásica iatrogénica tiene características particulares: de 10 a 20 % de los infectados permanecen asintomáticos; los que manifiestan enfermedad tienen un periodo de incubación más largo que el que ocurre en la enfermedad transmitida por vector; en la forma iatrogénica es en promedio de 40 días pero puede ser hasta de tres meses; la enfermedad se expresa menos, suele haber fiebre y visceromegalia. Si no se piensa en esta posibilidad diagnóstica, el caso se confunde con infecciones virales asociadas a la transfusión».

Len y cols. (83) llaman la atención sobre algunos puntos del trasplante de órganos: «La infección crónica (título de IF >1/40) contraindica el trasplante de corazón. En los casos de trasplante renal en los que se han utilizado donantes con infección crónica en receptores seronegativos, se ha observado una tasa de transmisión del 35 % y la aparición de enfermedad aguda hasta 14 meses tras el procedimiento. La mayoría se curaron tras la administración de benznidazol».

8.3. SEROPREVALENCIAS

La transfusión puede considerarse la segunda causa más frecuente de transmisión de *T. cruzi*.

8.3.1. Áreas endémicas

Hernández en su artículo (69) recoge los datos de estos países: «En los últimos años, la mayoría de los países latinoamericanos ha implantado políticas para prevenir la transmisión de la enfermedad de Chagas transfusional. Cuatro países criban el 100 % de los donantes para *T. cruzi* en 1993-1995; cinco, en 1997; y en tres de ellos (Brasil, Chile y Uruguay) la transmisión transfusional de la enfermedad está oficialmente erradicada desde 2000, 1999 y 1997, respectivamente. Schmunis y cols. (144) recogen datos posteriores: siete, en 2001-2002; y ocho, en 2004. Otros cuatro países cribaron más del 99 % de los donantes en 2004 (Tabla 8.1.)».

Tabla 8.1. América Latina, 1993-2004; número de países con cribado serológico para *T. cruzi* en los donantes de sangre

Porcentaje de donantes cribados ^a																		
1993/1995					1997					2001/2002					2004			
100	>80	>70	>50	<50	100	>99	>70	>50	<50	100	>99	>90	>70	<50	100	>99	>75	<50
-	<90	-	<70	-	-	-	<80	<70	-	-	-	<98	<90	-	-	-	<90	-
ARG	PAR	CHI	NIC	BOL	ARG	HON	CHI	NIC	BOL	ARG	COL	GUT	BOL	PAN	ARG	COL	BOL	MEX
HON	-	GUT	ECU	COL ^b	ELS	COL	ECU	PER	COR	BRA	PAR	NIC	CHI	COR	BRA	GUT	CHI	PAN
URU	-	-	-	COR ^c	PAR	-	-	-	PAN ^d	ECU	PER	-	-	MEX	COR	HON	PER	-
VEN	-	-	-	ELS	URU	-	-	-	-	ELS	-	-	-	-	ECU	PAR	-	-
-	-	-	-	PAN	VEN	-	-	-	-	HON	-	-	-	-	ELS	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	URU	-	-	-	-	NIC	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	VEN	-	-	-	-	URU	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	VEN	-	-	-

a: Brasil y México publicaron la cobertura del cribado por primera vez en 1999;

b: cobertura del cribado, 1,43 %;

c: cobertura del cribado, 0 %;

d: cobertura del cribado, 0,7 %

ARG: Argentina; BOL: Bolivia; BRA: Brasil; COL: Colombia; COR: Costa Rica; CHI: Chile; ECU: Ecuador; ELS: El Salvador; GRY: Guatemala; HON: Honduras; MEX: México; NIC: Nicaragua; PAN: Panamá; PER: Perú; URU: Uruguay; VEN: Venezuela.

Tomado de Schmunis y cols. (144)

Con posterioridad, se ha instaurado el cribado exhaustivo en donantes de sangre en la mayoría de los países americanos (Tabla 8.2) (145) y la distribución de los vectores domésticos se ha reducido drásticamente, interrumpiéndose la transmisión en vastas áreas.

Tabla 8.2. Cribado de donantes de sangre para *T. cruzi* en Latinoamérica^a

	Cobertura (%)	Seropositivos (%)
Países del Cono Sur		
Argentina	100	4,5
Bolivia	86	9,9
Brasil	100	0,61
Chile	75 ^b	0,47
Paraguay	99	2,8
Uruguay	100	0,47
Países del Pacto Andino		
Colombia	99	0,98
Ecuador	100	0,15
Perú	99	0,26
Venezuela	100	0,67
América Central		
Belice	100	0,4
Costa Rica	100	0,34
El Salvador	100	2,46
Guatemala	100	0,79
Honduras	100	1,4
Nicaragua	100	0,49
Panamá	98	0,9

a: Tabla revisada con los informes de las Comisiones Intergubernamentales de 2006

b: 98 % en regiones endémicas

Tomada de Schofiel (145)

La prevalencia media de la infección entre los donantes de sangre, oscila entre el 0,3 % (Nicaragua) y el 15 % de Bolivia (aunque algunas publicaciones la elevan en dicho país al 28 %). Existe un grupo de países con prevalencias bajas, entre el 1 y el 3 % (Costa Rica, Ecuador, El salvador, México, Panamá y Perú) y otro grupo que oscilan entre el 4 y el 11 % (Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Guatemala, Honduras, Paraguay, Uruguay y Venezuela). De todos modos, las anteriores cifras se han de tomar a título orientativo, dado que a veces no representan todo un país, sino a zonas concretas y entre ellas no son coincidentes en el tiempo (69). Los mayores factores de riesgo para la infección humana son el lugar de nacimiento o de residencia, un bajo estatus socioeconómico, y el número de transfusiones sanguíneas (67).

Los distintos países tienen sus propias estrategias para la realización del cribado en donantes y realizan estudios para determinar el impacto de estas estrategias:

Colombia

Beltrán y cols. recogen en su artículo (8) la realidad de este país y explican cómo:

La seguridad de las transfusiones sanguíneas en el país ha mejorado considerablemente en los últimos años, debido a la implementación de estrategias como las siguientes:

1. la obligatoriedad del cribado para anti-*T. cruzi* en todas las unidades de sangre para transfusión desde 1995;
2. la inclusión en la encuesta de selección del donante de preguntas relacionadas con el posible contacto que tenga el individuo con la enfermedad o con el vector, por ejemplo: «¿Conoce o ha sido picado por un insecto llamado pito, chupasangre, tábano, chipo, rondador, vinchuca o chinche besador o picado?»; «¿Ha padecido enfermedad de Chagas?», o «¿Ha vivido en zona endémica para el insecto vector?», cuya respuesta afirmativa excluye a la persona;
3. la captación de unidades de sangre de donantes voluntarios y, más recientemente, voluntarios habituales;
4. el incremento en la cobertura del cribado para este marcador;
5. la implementación de la técnica de ELISA para el cribado de donantes y la evaluación a través del Programa de Evaluación Externa del Desempeño de Serología, PEED, que permite a los bancos de sangre comparar los resultados reales o del laboratorio organizador con los suyos, y tomar las medidas de corrección pertinentes (autoevaluación), y, además, recibir asesoría y capacitación;
6. la confirmación de los casos reactivos detectados por el banco de sangre por parte de los Laboratorios de Salud Pública (LSP) y la remisión de los casos positivos a los centros asistenciales para asesoría, tratamiento o manejo clínico pertinente, y finalmente:
7. las acciones de vigilancia y control sobre la infección y el vector realizados por los centros de investigación, el INS y los entes territoriales que participan en el Programa Nacional de Prevención y Control de la Enfermedad de Chagas y Cardiopatía Infantil.

Esta combinación de estrategias permite reducir el riesgo de infección vía transfusión y cortar la cadena de transmisión de la infección.

Así, en 2003 realizaron un estudio en el que se evaluó el comportamiento de algunas estrategias de control de la infección en donantes y se estimó el riesgo transfusional por enfermedad de Chagas.

Los bancos de sangre del país captaron 482.371 unidades, 99,91 % fueron analizadas para anti-*T. cruzi*, resultando reactivas 0,42 %. Casanare presentó la mayor reactividad con 107/1.487 (7,2 %), de los cuales se confirmaron como positivos 75. En el Programa de Evaluación Externa del Desempeño de Serología (PEED) participaron 45,5 % bancos, la totalidad de los cuales utilizó ELISA para cribado; se hallaron 1,1 % resultados falsos positivos y ningún falso negativo. En 12 departamentos que analizaron 338.563 unidades para anti-*T. cruzi*, 1.298 casos fueron notificados como reactivos y 1.108 (85,4 %) se confirmaron por la prueba de IFI, registrando una positividad de 0,33 %.

Por ello, aunque la cobertura del cribado llegó a 99,91 %, existe aún riesgo de infección por *T. cruzi*. Los casos de *T. cruzi* en donantes oscilan entre 0 y 50 por cada mil, y como ya se mencionó, Casanare es el departamento con mayor riesgo de adquirir Chagas transfusional.

Chile

La situación del país está perfectamente recogida en un documento (26) del Ministerio de Salud:

Hoy en Chile, el cribado para *T. cruzi* es la mayor fuente de identificación de infectados por *T. cruzi*. El cribado en bancos de sangre es obligatorio entre la Región de Arica-Parinacota (I^a) y la Región Del Libertador Bernardo O'Higgins (VI^a), lo que no asegura que en el resto del país no existan donantes chagásicos, dada la migración rural urbana y de norte a sur dentro del país. La prevalencia de donan-

tes confirmados por el Laboratorio de Referencia del Instituto de Salud Pública entre los años 2000 y 2005 osciló entre 0,5 y 1,6 %.

El cribado de bancos de sangre en Chile se realiza determinando la presencia de anticuerpos IgG contra el parásito *T. cruzi*, mediante técnica de ELISA comercial y responde a un proceso que requiere confirmación con la técnica de referencia, que es la inmunofluorescencia indirecta para IgG *T. cruzi* (IFI *T. cruzi*). Si el resultado del cribado es positivo, se debe eliminar la bolsa de sangre de este donante, y enviar la muestra a confirmar al Instituto de Salud Pública (ISP) o a un centro autorizado por éste. La confirmación por técnicas de biología molecular (PCR para ADN de *T. cruzi*) de la parasitemia casi constante en los infectados chagásicos fundamenta la necesidad de que los bancos de sangre informen a sus donantes sobre su condición, para que tomen las medidas de control y terapia pertinentes, y para que no donen sangre de nuevo.

La carta tipo de notificación al donante positivo (cuadro) indica la posibilidad que este donante tiene de derivación a médico para estudio y tratamiento.

Facsímil de carta informativa al donante chagásico

Servicio de Salud : _____
 Establecimiento : _____
 Sr. _____ 200- _____
 Dirección _____
 Comuna _____

PRESENTE.

Le agradecemos su donación a nuestro Banco de Sangre el día _____ de _____ de 200 _____. Como es de su conocimiento, la sangre de todos los donantes de sangre se examina para detectar si son portadores de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*, parásito que causa la enfermedad de Chagas. El resultado de este examen en su sangre fue POSITIVO.

Esta enfermedad es bastante frecuente en Chile y se transmite principalmente a través de un insecto que se conoce como "vinchuca" (*Triatoma* spp). Aunque usted no presente actualmente síntomas, es recomendable que se informe sobre esta enfermedad y se someta a un estudio clínico y su posterior tratamiento.

Se le ofrece la posibilidad de consultar con un profesional Médico Especialista en forma gratuita, para lo cual usted puede solicitar hora en el establecimiento de la Red de Salud que lo corresponda.

Sin otro particular, lo saluda atentamente

Dr. _____
 Director Banco de Sangre
 Hospital _____

Entre 2000 y 2004 Galaz y cols. (50) determinaron la seroprevalencia (mediante ELISA) a 30.309 donantes de sangre chilenos. A 75 donantes ELISA positivo y a 79 ELISA negativos les realizaron una encuesta sobre antecedentes personales y familiares sobre picadura por vinchuca. También les realizaron una extracción de sangre para realizar una PCR y xenodiagnóstico. La frecuencia anual de donantes seropositivos varió entre 0,31 % y 0,45 %. 26 % de los seropositivos y 6 % de los seronegativos comentaron picadura por el vector; esta diferencia fue estadísticamente significativa. La PCR y el xenodiagnóstico fueron positivos en 52 (69 %) y 16 (21 %) de los donantes seropositivos respectivamente. El xenodiagnóstico fue positivo en cinco pacientes con PCR negativa. En las regiones donde no se hace cribado en donantes de sangre se encontró una seroprevalencia de 0,15 % y en las zonas no endémicas de transmisión vectorial la prevalencia varía entre 0,6 y 1,5 por 1000, estimándose con esto una cifra de 1 por cada 1.000 para bancos de sangre en estas zonas. De todos modos, la seroprevalencia en hemodonantes va disminuyendo a lo largo de los años 2,97 % en 1968, 2 % en 1982 y 0,31 % en 2004, sin que por ello deje de existir la posibilidad de infección por una transfusión.

México

En este país hay varios estudios previos sobre la prevalencia de anticuerpo anti *T. cruzi* entre donantes de sangre (123):

- El primero realizado en la ciudad de Oaxaca, antes de que hubiera una norma técnica relativa al manejo de bancos de sangre y prohibición de la donación remunerada (1987), y mostró una prevalencia global de 4,4 %, 13 positivos de 298 donantes testados, al considerar cualquier prueba positiva entre las tres usadas, que fueron fijación de complemento, hemaglutinación indirecta y aglutinación directa. De forma individual, esas pruebas mostraron prevalencias de 2,7 %, para fijación de complemento, 2,0 % y 2,0 % para las pruebas de aglutinación. Se ha informado que en Oaxaca existe el mayor número de individuos con serología positiva a *T. cruzi* (1986).
- En Puebla se realizó otro estudio en una institución de segundo nivel de atención, en donde se incluyeron donantes remunerados y se usó una prueba de hemaglutinación, la seroprevalencia fue de 14 % (O. Velasco, comunicación personal).
- En 1987 la prevalencia de anticuerpos donantes de tres instituciones (dos Institutos Nacionales y el Hospital General de ciudad Nezahualcóyotl); en estudio fue 1,1 %. El grupo era relativamente pequeño, no se realizó cuestionario sobre los factores de riesgo, y se usaron pruebas serológicas diferentes a las empleadas ahora.

Datos de la Encuesta Serológica (ENSE) realizadas entre 1987 y 1989 indicaban que 1,6 % de la población mexicana estaba infectada por la enfermedad de Chagas y que la transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre ocurría en casi todos los estados, si bien en zonas de diversa extensión (64).

- Se ha informado que entre 1.200 donantes estudiados en la zona oriente de la Ciudad de México, usando una comercial de hemaglutinación, la seroprevalencia fue de 1,5 %, sin diferencia atribuible al origen de los donantes. Se observó también que esa seroprevalencia es mayor que la encontrada en el mismo grupo para HBsAg, VDRL o VIH (1991).
- En el Congreso Iberoamericano de Bancos de Sangre y Medicina Transfusional, (1991) se informaron otros estudios con prevalencia variable entre 0 % y 7,6 %, las más altas entre donantes de Oaxaca, Tamaulipas y Guanajuato.
- En 1993 se publicó un estudio realizado con el objeto de conocer la seroprevalencia de anticuerpos IgG anti *Trypanosoma cruzi* se; investigaron 1.076 donantes de sangre del Instituto Nacional de Cardiología «Ignacio Chávez». Los anticuerpos se detectaron con técnicas ELISA-DOT, ELISA y Western blot. A todos los donantes se les aplicó un cuestionario sobre su lugar de nacimiento y residencia los primeros años de vida. La prevalencia de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi*, confirmada con una prueba de alta especificidad, en la población estudiada fue 0,28 %, cifra superior a la detectada para otros agentes infecciosos. Todos los donantes positivos son de origen rural, dos del estado de Guanajuato y uno de Puebla en 1993. La investigación de anticuerpos contra *T. cruzi* debe ser incorporada a las actividades de control y seguridad biológica de los bancos de sangre.
- En el Instituto Nacional de Cardiología, en base a estos resultados y al riesgo de infección post-transfusión calculado por días, podría esperarse que el número de casos posibles de infección chagásica iatrogénica por transfusión se sitúe entre tres y ocho casos por 10 mil transfusiones. Sin embargo, no se han visto casos clínicos. Esto no sorprende, por las características de la infección chagásica iatrogénica.

Entre 1994 y 1996 Guzman y cols. (64), estudiaron 64.969 donantes de sangre de las 18 entidades federativas participantes. En total se detectaron 996 personas positivas a las pruebas de cribado de anticuerpos contra *T. cruzi*, lo cual representa una prevalencia de infección chagásica entre los individuos estudiados en los centros estatales de transfusión de México igual a 1,5 % (IC95 %: 1,44 a 1,63). La seropositividad osciló entre 0,2 y 2,8 %, y en el estado de Hidalgo la prevalencia fue 14 veces mayor que en el estado de Chihuahua. De los sueros negativos estudiados en el Laboratorio de la Enfermedad de Chagas (LECh), 0,2 % fueron negativos falsos. La concordancia observada de los resultados finales entre los laboratorios de los bancos de sangre y el LECh fue de 92 %, con un índice kappa igual a 0,87 (IC95 %:

0,862 a 0,877). De los 996 sueros positivos por cribado (realizado por hemaglutinación indirecta), 647 se confirmaron por IFI, es decir, el 64 % de los individuos positivos a la HAI.

La prevalencia de infección en este estudio (64) (1,5 %) es una cifra casi idéntica a la estimada en la ENSE (1,6 %). Este resultado sugiere que de las 850.000 unidades de sangre que se recolectan en el país cada año (21), 12.750 están infectadas por *T. cruzi*. Por ese motivo, si no se realiza el cribado serológico, 15 % de los receptores de sangre o 1.912 personas se encontrarían en alto riesgo de infección. Sin embargo, como en México se obtienen en promedio de 2,6 a 3,5 productos derivados de cada unidad de sangre, el número de personas infectadas puede incluso aumentar a más del doble de dicha cifra.

Ramos-Ligonio y cols. realizaron un estudio (124) en Hospital General Regional del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en la ciudad de Orizaba, Veracruz. Determinaron la prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donantes mediante la búsqueda de anticuerpos anti-*T. cruzi* por ELISA, Western blot e IFI, utilizando una proteína recombinante (MBP:Hsp70) y un extracto crudo de epimastigotes. Las muestras fueron obtenidas entre los meses de octubre de 2001 a enero de 2002. Los 420 donantes de sangre analizados fueron seronegativos para HBV, HCV, BrA (*Brucella* spp.), VDRL y HIV. Después del cribado de los 420 donantes, se identificaron dos individuos seropositivos por las pruebas de ELISA, Western blot e IFI, con una seroprevalencia de 0,48 %. Estos resultados (prevalencia 0,48 %) concuerdan con los datos obtenidos en 1999 por el grupo de Monteón-Padilla y cols., donde emplearon el mismo antígeno recombinante MBP:Hsp70 (pMal-E63). Dicho estudio obtuvo una seropositividad de 0,30 % en pacientes del banco de sangre del Instituto Nacional de Cardiología en la ciudad de México, más alta aún que para VIH, VDRL, hepatitis B y C. Existen informes que expresan la necesidad de llevar a cabo una evaluación de la distribución y la prevalencia de esta infección en México.

Sánchez-Guillén y cols. registraron en 2002 una prevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* de 8,5 % y de 9 % con las técnicas de IHA y ELISA, en bancos de sangre de las clínicas y hospitales del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en la ciudad de Puebla (124).

Se han capturado ejemplares de *Triatomas* en domicilios de la región (Ixtaczoquitlán, Ayojapa I y II, Chicomapa, San Vicente, El Palmar, Mochichino, Tuxpanguillo, Tezonapa, Ixhuatlancillo, etc.) con infección natural, lo cual indica la posibilidad de la transmisión vectorial del parásito (124).

Galavíz-Silva y cols. en el estudio (49) publicado en 2009 determinaron la seroprevalencia entre donantes de sangre en el Hospital Cardiológico, Seguridad Social del Instituto Mexicano, Nuevo León, por ELISA e HAI. Seleccionaron 1.000 donantes con una seropositividad de 2,08 %, más exactamente el 2,59 % procedían de Nuevo México, el 2,07 % de Coahuila y 3,96 % de Tamaulipas. Esta seroprevalencia es mayor que la del estudio realizado en 1998, 0,5 %. Lo que corrobora la importancia de realizar un programa de vigilancia para detectar y prevenir la transfusión de *T. cruzi* de donantes asintomáticos en los bancos de sangre situados en ciudades urbanas consideradas como no endémicas. Resultados similares, con seroprevalencias mayores que las publicadas con anterioridad se han visto en las ciudades de Tijuana, Mexicali, Ensenada, y Tecate, en las que los trabajadores se identificaron como originarios de «Mixteca Oaxaqueña» donde cada año > 100.000 personas emigran a otras ciudades pero sólo el 25 % vuelve a su ciudad de origen. Publicaciones recientes han mostrado una seroprevalencia de 7,7 % en donantes de sangre de Puebla (otra área no endémica); más aún, en el área urbana de Morelos, se publicó una seroprevalencia del 20 %. Estos resultados contrastan enormemente con la baja prevalencia publicada en 1992 (1,6 % y 0,1-1,5 % en Puebla y Morelos, respectivamente). De esta forma, podríamos sugerir que el fenómeno de la migración rural a ciudades turísticas o industriales disemina la enfermedad de Chagas por todo el país e incrementa el riesgo de transmisión a través de transfusiones de sangre en las áreas urbanas.

En muchos países latinoamericanos los test serológicos son obligatorios (por ejemplo Chile), sin embargo, en México estas medidas sólo se aplican en áreas endémicas, de acuerdo a las guías del Estándar Mexicano Oficial, aunque las áreas endémicas no están especificadas. Por lo tanto, hay una necesidad para los sistemas de salud para desarrollar un programa para el cribado de los donantes de sangre para *T. cruzi* (104).

Al inicio de este siglo, en México se ha aprobado una ley para el cribado de muestras que permite determinar la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*, así como programas de vigilancia epidemiológica en diversas partes del país; sin embargo, en algunas entidades todavía no se llevan a cabo (124).

Venezuela

Díaz-Bello y cols. (39) con el objetivo de establecer el diagnóstico confirmatorio de *Trypanosoma cruzi* «realizaron al menos dos pruebas serológicas (ELISA, Reacción de Hemoaglutinación Indirecta, RHI, o Reacción de Fijación de Complemento, RFC) a donantes provenientes de bancos de sangre de centros asistenciales públicos y privados de Venezuela que acudieron durante 48 meses entre los años 1997-1998 y 2003-2004 a la Sección de Inmunología del Instituto de Medicina Tropical en Caracas, Venezuela. Se evaluaron doscientos cincuenta y cuatro donantes referidos de diferentes bancos de sangre por presentar anticuerpos anti-*T. cruzi* en pruebas de despistaje. Se confirmó la presencia de anticuerpos en 129/254 (50,79 %) de los individuos por las técnicas de ELISA-IgG o RHI y RFC. El «xenodiagnóstico artificial» fue positivo en 10/118 (8,5 %) personas con serología positiva. De ciento veintinueve donantes encontrados reactivos por técnicas serológicas, sesenta y ocho eran residentes de la región capital y sesenta y uno del interior del país. Asimismo, ciento trece nacieron en el interior del país, ocho en Caracas y ocho en Colombia. En doce individuos confirmados serológicamente se constató la donación de sangre en mínimo cuatro ocasiones antes de detectar la infección. El presente estudio resalta la importancia de la búsqueda activa de individuos con Enfermedad de Chagas a través de la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* en la evaluación integral de donantes de sangre para descartar el riesgo de transmisión a otras personas. Muchos de estos donantes con anticuerpos anti-*T. cruzi*, la gran mayoría clínicamente asintomáticos, habían donado sangre en varias ocasiones previas al diagnóstico».

En todos estos estudios se propone la realización rutinaria del cribado serológico de donantes de sangre por medio de técnicas inmunológicas con alta sensibilidad y especificidad para reducir el riesgo de contaminación por transfusión sanguínea (124).

Finalmente, el empleo de varias técnicas serológicas asegura la confiabilidad de los resultados; se recomienda la inclusión de antígenos recombinantes para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* si se realiza en paralelo con una prueba convencional, como es el caso de la prueba de ELISA y de IFI, con lo que se puede obtener la especificidad deseada con el antígeno recombinante y la sensibilidad requerida empleando un extracto crudo del parásito (124).

Se ha considerado que vale la pena la inclusión de un estudio serológico simple, económico y con especificidad suficiente para identificar en prueba de rastreo al donante «peligroso» en los bancos de sangre locales; el suero de estos donantes sería investigado con pruebas más complejas, incluyendo tal vez, electroinmunotransferencia (WB) para decidir si se trata de positivos verdaderos (123).

8.3.2. Países no endémicos

Reesink y cols. (125) reflejan muy bien la situación de los países en los que no existe vector transmisor de la enfermedad de Chagas:

Las infecciones por protozoos son endémicas en muchos países tropicales con bajos ingresos, afectando a millones de personas. La malaria, la tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas y las enfermedades adquiridas a través de picaduras (Babesia) pueden ser transmitidas eficientemente a través de la transfusión de componentes celulares sanguíneos. En áreas no endémicas como Europa éstas son enfermedades importadas debido a viajes a áreas endémicas o la migración de personas autóctonas de esas áreas. Un Foro Internacional mostró que en Europa y Estados Unidos la prevención de las infecciones protozoarias asociadas a transfusión depende principalmente de la selección de los donantes utilizando cuestionarios. En varios países se les pregunta a los donantes sobre el riesgo de infección por *T. cruzi*. En algunos países se excluye a donantes que han nacido (o lo hayan hecho sus madres) en Sur o Centro América, si han recibido transfusiones de sangre en esas áreas o han vivido en áreas rurales de países endémicos más de cuatro semanas.

Según se muestra en la tabla 8.3. entre el 1 % y el 6 % de los donantes en áreas endémicas fueron reactivos en los test de cribado, pero casi todos los estudios publicados no indican las pruebas confirmatorias. Esto significa que la prevalencia o incidencia real entre los donantes en áreas endémicas no es conocida. Sólo en Estados Unidos 0,15 % de los donantes reaccionaron con una prueba ELISA, de los cuales 0,003 % fueron confirmados.

En el Foro Internacional se indicó que sólo en Irlanda, Canadá y Brasil se les pregunta a todos los donantes por el riesgo de infección por *T. cruzi*. (tabla 8.4). En Francia, España y Japón sólo se realiza esta pregunta cuando provienen de áreas de riesgo.

Las mayoría de los países no considera el cribado universal de *T. cruzi*. En España se realiza el cribado sólo en donantes procedentes de Sudamérica. En Estados Unidos se ha considerado definitivamente cuando la FDA ha aprobado un test. (tabla 8.5).

Tabla 8.3. Prevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en donantes de sangre

	Donaciones (n)	Ac <i>T. cruzi</i> + ve (%)	Confirmación (%)
Argentina	498.380	5,60	-
Brasil	1.099.601	0,70	-
Chile	163.979	1,33	-
México	3.419	1,28	?
Estados Unidos	100.089	0,15	0,003

Tabla 8.4. Pregunta a los donantes sobre el riesgo de *T. cruzi*

	Todos los donantes	Sólo áreas de riesgo
Irlanda	Sí	–
Francia	–	Sí
Estonia	–	–
Italia	–	–
España	–	Sí
Israel	–	–
Túnez	–	–
Japón	–	Sí
Canadá	Sí	–
Estados Unidos	–	–
Brasil	Sí	–

Tabla 8.5. Países donde se realiza el cribado de *Ac T. cruzi*

País	Cribado
Irlanda	–
Francia	–
Estonia	–
Italia	–
España	? Inmigrantes (Sudamérica)
Israel	–
Túnez	–
Japón	–
Canadá	?
Estados Unidos	Si, si la FDA lo aprueba
Brasil	Realizado de rutina

Tomadas de Reesink y cols. (125)

En Europa no se informaron casos de infecciones por *T. cruzi* transfusionales durante 10 años (1995-2004), sin embargo, con posterioridad han aparecido casos, entre otros países, en España (2005 y 2007). En Norte América se han informados varios casos de infecciones por *T. cruzi* transfusionales. Una vez instaurado el test, algunos autores confiaban en encontrar 50 casos de donantes infectados al año».

Estados Unidos

Cuando a finales de los años ochenta comienzan a producirse en Estados Unidos los primeros casos de enfermedad de Chagas debido a transfusiones de sangre, empieza a surgir la voz de alarma entre la comunidad científica sobre la necesidad de hacer algo al respecto.

En 1990, en una carta al director de Theis (153) se especifica que ya en 1985 se había advertido sobre la posibilidad de la infección vía transfusional. En muchas grandes áreas metropolitanas de los Estados Unidos, la población inmigrante latinoamericana ha alcanzado un número importante y la posibilidad de que realicen donaciones de sangre no se debe despreciar. Es cada vez más importante que se obtenga la historia del país de origen y de que la posibilidad de infección por *T. cruzi* sea evaluada serológicamente donde la historia del donante sea compatible con la exposición. La recomendación de Kirchhoff de eliminar a los donantes provenientes de áreas endémicas no es una solución práctica. Primero, la transmisión de *T. cruzi* sucede tanto en áreas urbanas como rurales y esperar que el personal del banco de sangre pueda detectar a los «pacientes de riesgo sustancial» es irrealista. Y segundo, rechazar las donaciones de todas las personas procedentes de Latinoamérica podría ser visto como una discriminación étnica, y en algunos lugares donde la población latinoamericana es elevada podría resultar en la disminución drástica de las reservas de sangre. Por lo tanto, ya a principios de los noventa se aconsejó tomar acciones, mientras las infecciones por *T. cruzi* post-transfusionales raramente aparecían, para desarrollar métodos serológicos más simples y disponibles para el cribado de los donantes de sangre procedentes de áreas endémicas de enfermedad de Chagas.

En 1991 se introdujo un cuestionario para cribar a los donantes de sangre; aquellos que relataban un historia de enfermedad de Chagas eran rechazadas, pero la mayoría de las personas con enfermedad de Chagas no conocen su infección (150).

Leiby y cols. (80) realizan un estudio a todos los donantes de sangre de la Región Suroeste de la Cruz Roja Americana, durante un periodo de 10 meses para detectar anticuerpos anti-*T. cruzi* mediante ELISA y los resultados positivos se confirmaron mediante RIPA (radioimmunoprecipitation assay). De las 100.089 donaciones, 150 fueron positivas y 2 (0,03 %) fueron confirmadas como positivas. Los tres donantes procedían de Waco, Texas, donde la seroprevalencia estimada es de uno por cada 7.700. De estos tres donantes, dos no informaron sobre factores de riesgo: habían nacido en Estados Unidos, no habían viajado a áreas endémicas. Ambos tenían historiales familiares extensos de enfermedad cardíaca y complicaciones. Los donantes seropositivos para *T. cruzi* están presentes en poblaciones con bajo o moderado riesgo, aunque con tasas bajas. La presencia de donantes de sangre seropositivos sin los factores de riesgo identificables, va en contra del uso de preguntar como cribado el lugar de nacimiento o residencia y también sugiere que otras rutas de transmisión, incluyendo la congénita, se deben considerar para conseguir aumentar la seguridad de la sangre.

Gale y Kirchhoff (1996) estimaron el riesgo entre los donantes de sangre en California a través de un cuestionario suministrado a 18 centros de sangre de todo el estado. Observaron que 427 (2,4 %) de los 17.521 donantes participantes habían vivido en áreas endémicas durante más de un año. Cuando se incluyeron más factores de riesgo (casas con paredes de adobe, tejados de palma y/o haber recibido transfusiones de sangre en un país endémico) la tasa total de riesgo fue 0,33 %, pero variaba dependiendo de los centros (de 0,13 a 5,59 %). Algo parecido estimaron previamente Leiby y cols. (1997), que por lo menos el 2,5 % de los donantes nacionales tenían riesgo geográfico, pero, de nuevo, esta tasa variaba regionalmente (80).

Gale en 1997 publica la falta de los donantes de California en informar del riesgo de estar infectados por *T. cruzi*; 35 % (235/672) no informó sobre el riesgo en una o más ocasiones al donar. Esta información errónea permitió que se escapasen de testar 19 % (384/2.062) de las unidades de sangre. La alternativa de rechazar a todos los donantes provenientes de áreas geográficas de riesgo, resultaría en una pérdida inaceptable de potenciales donantes en algunas localidades (por ejemplo, hasta el 12 % de donantes de Miami); y la pregunta utilizada para identificar a personas con riesgo de padecer enfermedad de Chagas apunta directamente a los latinoamericanos y podría considerarse como ofensiva y/o discriminatoria. Así, las estrategias que incluyen preguntas sobre factores de riesgo parecen impracticables, lo que sugiere que hay que considerar otras estrategias, incluyendo el cribado universal de todas las donaciones (80).

Leiby y cols. en otro artículo (81) nos relata el estudio que realizaron desde noviembre de 1997 hasta septiembre de 2000 en los Servicios Regionales de Sangre del sur de California de la Cruz Roja americana; se llevó a cabo un estudio para afirmar que los donantes de sangre de Estados Unidos seropositivos para *T. cruzi* tenían infección persistente con parasitemia demostrable mucho tiempo después de adquirir la infección. A 52 seropositivos (positivos por dos métodos) se les pidió hasta tres muestras de sangre para realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el hemocultivo; de la mayoría de los participantes (67 %) sólo se obtuvo una muestra. Al evaluarlos después de dos décadas de su emigración, 33 donantes (63 %) presentaron PCR positiva; tres también tuvieron el cultivo positivo. De estos donantes 51 (98 %) la mayoría (80 %) procedían de México (n=25) o de El Salvador (n=16). Los tres cultivos positivos procedían del El Salvador, Argentina y Colombia.

Nocwicky y cols. (107) informan en su artículo del cribado realizado a los donantes de órganos del Sur de California entre mayo de 2002 y abril de 2004, mediante la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*. A las 404 muestras se realizó un ELISA (seis positivos) y tres de ellos fueron posteriormente repetidamente positivos. Uno de ellos se confirmó mediante IFI (0,25 % de seroprevalencia). Los datos de este estudio contrastan con otros publicados: Bryan y cols. en el Oeste Medio no encontró donantes con anticuerpos frente a *T. cruzi* durante un periodo de 6,5 años (2004). Barret y cols. cribaron 8.000 donantes de sangre al azar en el Sudeste sin muestras con anticuerpos anti-*T. cruzi* (1997 y 1998). Estas discrepancias, comentan los autores, son probablemente debidas a las diferencias en la composición de la población, ya que el Sur de California tiene una gran población inmigrante latinoamericana.

En dos estudios realizados en Estados Unidos con donantes de sangre de California, Arizona (2006-7/ MMWR) y Texas (Trasnfusión 2007), se informó de una seroprevalencia de 0,02 % y 0,03 %. Un estudio previo llevado a cabo en Los Ángeles y Miami identificaron un 7,3 % y 14,3 % de los donantes con riesgo de enfermedad de Chagas, con 0,2 y 0,1 % de seroprevalencia de la infección por *T. cruzi* respectivamente en esas poblaciones de riesgo (120).

Nowicki y cols. en su trabajo (107) citan un estudio de 1.024 donantes de sangre en el banco de sangre estatal de Los Ángeles; mostró una reactividad frente a *T. cruzi* de 1,1 %, y una reactividad conformada de 0,1 %. Los donantes procedentes de áreas endémicas suponían el 38 % de los donantes estudiados.

Stramen y cols. publican el estudio (150) realizado por la Cruz Roja Americana entre agosto de 2006 y enero de 2007 para evaluar un ensayo para detectar la infección por *T. cruzi*. Se cribaron 148.969 muestras de sangre de tres bancos de sangre de Estados Unidos. Sesenta y un donantes fueron repetitivamente positivos. Cincuenta (el 79 % de los donantes del centro de Los Ángeles), nueve (el 14 % de los donantes del centro de Oakland) y cuatro (el 6 % de los donantes del centro de Tucson). Treinta y dos donaciones se confirmaron (mediante RIPA) positivas para anticuerpos anti-*T. cruzi*.

El 13 de diciembre de 2006, basándose en parte en los resultados preliminares de este estudio (150), la FDA aprobó el test de Ortho *T. cruzi* ELISA Test System para cribar los donantes de sangre en Estados Unidos. El ensayo también permite testar muestras de suero y plasma de células vivas y donantes de tejidos y de órganos, pero no para su uso en diagnóstico clínico.

En otro estudio realizado por Tobler y cols. (154) con el ELISA de Ortho incluyeron dos poblaciones: 1) 10.192 donaciones de donantes de sangre de El Paso, Texas y 2) 178 muestras de Sudamérica que eran presumiblemente positivas y los suministró el fabricante del test. El 0,03 % (n=3) de los donantes fueron inicialmente positivos. Posteriormente, repetidamente positivos y confirmados mediante RIPA. De las muestras de Sudamérica 173 fueron reactivas con el ELISA. Las cinco muestras no reactivas tampoco reaccionaron con IFI pero fueron positivas mediante RIPA. Por lo tanto, la sensibilidad del ELISA fue del 97,7 %. Este estudio indica que este ELISA tiene una excelente sensibilidad y especificidad para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* en donantes.

Bern y cols. relatan en su artículo (11) lo sucedido desde que en Enero de 2007 la FDA aprobó la utilización de un test serológico (detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*) para el cribado de sangre hasta mitad de junio de 2008 se han detectado 519 donaciones infectadas por *T. cruzi*. A más de 14 millones de donaciones se les ha realizado el test, un total de 1.851 muestras fueron repetidamente positivas confirmando un 28 % mediante RIPA. Casi el 80 % de estos datos los han recogido la Cruz Roja Americana y Blood Systems Laboratories: alrededor de 13 millones de donaciones 1.651 repetidamente positivas provenientes de 47 estados. 442 donantes confirmados positivos mediante RIPA procedían de 37 estados y de Puerto Rico, pero 253 (57 %) procedían de sólo dos estados, California y Florida. La seroprevalencia general fue de 1:27.500 (0,004 %) con las tasas más elevadas en Florida 1:3800 (0,026 %), seguido de California 1:8.300 (0,012 %). Como los estudios realizados en donantes de California eliminaban de las donaciones a los donantes seropositivos estos datos pueden estar subestimados. Con datos preliminares, 28 % de 104 infectados habían nacido en México, 26 % en Estados Unidos, 16 % en El Salvador y 11 % en Bolivia; el resto de seropositivos habían nacido en otros nueve países de Centro y Sudamérica. Entre los donantes infectados confirmados nacidos en Estados Unidos, 10 no informaron de factores de riesgo específicos para la infección por *T. cruzi*. Todos estos donantes informaron sobre actividades al aire libre (caza, acampada, jardinería) en el sur de los Estados Unidos, lo que puede indicar la exposición autóctona potencial al vector o a reservorios animales.

Hasta la utilización del cribado en los bancos de sangre en 2007, el conocimiento de la epidemiología de la enfermedad de Chagas estaba basado en los datos de las donaciones de sangre de unas pocas localizaciones, estudios pequeños de poblaciones seleccionadas y casos publicados. En los estudios mostrados en la tabla 8.6 se realizó ELISA para cribado y RIPA para la confirmación (11).

Tabla 8.6. Estudios de infección por *T. cruzi* en donantes de sangre en Estados Unidos

Localización	Año	Muestras positivas/ donaciones totales	Tasa de seroprevalencia estimada
Suroeste y oeste de EE.UU. ^a	1993	13/13.309 ^b	1 en 1.024 ^b
Los Ángeles, California	1994–1995	30/264.279	1 en 8.809
Miami, Florida	1994–1995	4/35.118	1 en 8.780
Tulsa and Norman, Oklahoma	1996–1997	0/63.056	–
Wichita Falls, Texas	1996–1997	0/14.012	–
Waco, Texas	1996–1997	3/23.021	1 en 7.700
Los Ángeles, California	1996	27/266.074	1 en 9.850
Los Ángeles, California	1997	33/236.991	1 en 7.200
Los Ángeles, California	1998	39/212.069	1 en 5.400
Miami, Florida	1996	9/54.602	1 en 6.000
Miami, Florida	1997	5/58.244	1 en 11.600
Tres bancos de sangre	2006	63/148.969	1 en 4.655
Los Ángeles, California	2006	250 muestras positivas	1 en 3.827
Oakland, California	2006	5 muestras positivas	1 en 5.865
Tuscon, Arizona	2006	2 muestras positivas	1 en 11.990

^a Albuquerque, Nuevo México; Houston, Texas; McAllen, Texas; San Antonio, Texas; La Ángeles, California; San Diego, California.

^b Muestreo incluyendo una sobreselección de aproximadamente 50 % de hispanos.

Datos tomados de Bern y cols. (11)

Leiby y cols. (80) nos resumen el futuro de los bancos de sangre de EEUU: «Necesitan disponer de nuevas estrategias para el manejo de los donantes para en lo que respecta a *T. cruzi*. Este estudio ha clarificado el manejo de varios aspectos importantes en el manejo de los donantes. Primero, los datos acumulados indican una relación directa entre el número de donantes con riesgo en la población y el número de los que son positivos para *T. cruzi*. Esto apoya el argumento de que los donantes seropositivos se pueden encontrar en todos los Estados Unidos, pero con tasas que reflejan la población local con riesgo. Segundo, el uso de preguntas para detectar el riesgo en los donantes o rechazarlos parece un mal consejo porque estas preguntas tienen en general falta de sensibilidad, los donantes no siempre dan las respuestas verdaderas, y estrategias de cribado selectivas aumentan las oportunidades de cometer errores de cribado. Tercero, las estimaciones y características de los donantes con riesgo en los Estados Unidos debieran ser revisadas para incluir las transmisión vertical de *T. cruzi*».

Canadá

Los potenciales enfermos de Chagas se han cribado durante años en Canadá a través de un cuestionario sobre las visitas o el haber vivido en las áreas afectadas (25).

Existen varios sistemas de vigilancia informales para conocer el impacto de las infecciones parasitarias en el país. La vigilancia es importante debido al número de refugiados e inmigrantes que llegan a Canadá. Un sistema de vigilancia formal podría ayudar en ciertos temas como el desarrollo de un cuestionario fácil de entender para las donaciones de sangre, establecer el consentimiento de los donantes para almacenar y realizar test de patógenos sanguíneos en el futuro. Un sistema de vigilancia nacional podría incorporar recursos gubernamentales provinciales y federales así como del sector privado. Este intento de aproximación no sólo mejoraría la seguridad a través de mejor monitorización y comunicación sino que también proporcionaría un uso de recurso más eficiente (67).

El cribado de los donantes no sólo disminuye el riesgo de transmisión secundaria sino que también consigue la prevención secundaria y terciaria de la morbilidad y mortalidad en personas cuya infección habría permanecido indetectable. Así, testar a los donantes, puede salvar las vidas de los receptores y de los donantes, así como de otros infectados, ya que aumenta el nivel general de conciencia sobre la enfermedad de Chagas (81).

Casos post transfusionales

Los datos de la Cruz Roja Americana demostraron un aumento de la prevalencia en donantes de sangre durante los noventa.

Se han documentado en Estados Unidos seis casos post- transfusión:

- Un caso publicado en 1989 en un paciente transplantado de médula ósea desde 1993.
- Cinco casos transfusionales desde 1993.

En los primeros casos los donantes sospechados habían emigrado de áreas endémicas (107).

Cinco casos asociados a trasplante de órganos:

- En marzo de 2002 los CDC (Centers for Disease Control) publicaron un caso en el que tres receptores de órganos sólido estaban infectados de *T. cruzi* de un único donante. Uno de los receptores desarrolló fiebre y parasitemia sintomática, a pesar del tratamiento falleció de miositis chagásica. El otro receptor de riñón se le trató con éxito y el receptor del hígado murió por causas no relacionadas. Esta publicación demuestra la posibilidad de transmisión por trasplante de órgano de una enfermedad potencialmente fatal (107).
- Dos casos más se han publicado en Canadá, ambos en Manitoba (1986 y 2000). Los pacientes murieron por sus enfermedades de base (25); uno presentaba una Leucemia aguda. Todos los receptores estaban inmunodeprimidos, y presentaron un rango más severo de síntomas que los normales para la enfermedad de Chagas aguda.

Desde 1955 se han informado seis casos autóctonos de infecciones a través de vector (tres en Texas y uno en California, Tennessee y Louisiana). Dada la gran mayoría de las infecciones agudas en los individuos inmunocompetentes de Latino América que pasan inadvertidas, donde el grado de sospecha es mayor, los casos indetectados autóctonos vía vector, y transmisión transfusional es presumible que ocurran (11).

Francia

Un estudio de seroprevalencia realizado por Kerleguer y cols. (78) en 1.579 sueros de donantes de sangre militares franceses durante 11 meses (2006-07) se encontró una positividad (con dos ELISAs) de 0,07 % entre los donantes que estaban en área endémica (7,95 % en la población general).

Garrau y cols. en su artículo describen como en Francia se está debatiendo sobre cuál es el mejor modo de evitar las infección por vía transfusional. Una estrategia es la realización de un examen médico para excluir a los donantes con riesgo de transmitir la enfermedad pero no siempre la respuesta llevará a la inclusión o exclusión acertada del donante. La coexistencia de malaria y enfermedad de Chagas en una misma área hace que se excluya a un donante pensando en la posibilidad de infección por *Plasmodium spp.* cuando en realidad está infectado con *T. cruzi*. Confiar en el cultivo o en la detección del DNA tampoco parece el mejor método debido a que muchas veces el parásito se encuentra en células musculares lisas y estriadas y no se detecta en sangre. Por ello, sólo quedan la técnicas serológicas para la exclusión o inclusión de donantes (51).

Suiza

En Ginebra, Suiza, Jackson y cols. realizaron un estudio (74) entre junio y diciembre de 2008 en el que se incluyeron todos los inmigrantes latinoamericanos que habían acudido a atención primaria buscando atención médica y los que acudían a dos iglesias. Después de completar un cuestionario, se realizó un cribado frente a *T. cruzi* mediante dos ELISAs. A los sujetos infectados se les realizó un chequeo médico completo. Se analizaron los factores predictivos mediante un análisis de regresión logística univariable y multivariable. Se reclutaron 1.012 personas, 83 % mujeres, 48 % bolivianos (n= 485). El 96 % no tenía permiso de residencia. La enfermedad de Chagas fue diagnosticada en 130 personas (12,8 %) incluyendo 127 bolivianos (26,2 %). Todos los pacientes se encontraban en la fase crónica de la enfermedad, incluyendo 11,3 % con complicaciones cardíacas y 0,8 % con complicaciones digestivas. Los factores predictivos de la enfermedad fueron: origen boliviano, informe de infección maternal y más de 35 años. 247 participantes (24,4 %) y 22 (16,9 %) de los individuos infectados ya habían donado sangre, 24 (18,5 %) y 34 (26,2 %) pensaban donar sangre y órganos fuera de Latino América, respectivamente. (Tabla 8.7).

Tabla 8.7. Resultados del estudio realizado en Suiza

	Inmigrantes latinoamericanos n (%) (n= 1012)	Inmigrante bolivianos n (%) (n=486)	Inmigrantes con enfermedad n (%) (n= 130)
Donación de sangre	247* (24,4)	109 (22,4)	22 (16,9)
En Sudamérica	208 (84,2)	96 (88,1)	22 (100)
En Europa	17 (6,9)	1 (0,9)	0
No realizado	27 (10,9)	13 (11,9)	0
Intención de donar sangre fuera de Latinoamérica	206 (20,4)	70 (14,4)	24 (18,5)
Donación de órganos	0	0	0
Intención de donar órganos	360 (35,6)	149 (30,7)	34 (26,2)

* Estas personas donaron en cinco regiones diferentes

Tomada de Jackson y cols. (74)

La seroprevalencia encontrada 12,8 % es mucho mayor que la informada en Canadá (1 %) o en Alemania (2 %), pero menor que la alta prevalencia (41 %) encontrada en un centro de referencia en España. El dato de este estudio se puede explicar por la alta proporción de inmigrantes bolivianos (48 %) incluida en el estudio, de los cuales el 26,2 % fue diagnosticado de enfermedad de Chagas.

En 2008, Suiza alojaba a 43.000 residentes legales originarios de Centro y Sudamérica. Esta cifra no incluye los suizos de origen latinoamericano y los 30-50.000 indocumentados inmigrante latinoamericanos estimados. Los indocumentados tienen problemas para acceder a la atención médica en Suiza, ya que el seguro médico es obligatorio y caro. El cribado de individuos con riesgo debiera implantarse en todos los países no endémicos y debe incluir a los inmigrantes indocumentados. El primer caso de enfermedad de Chagas en Suiza se informó en 1996. Desde entonces se han informado varios casos importados y congénitos (118).

España

Transmisión sanguínea

El control de la transmisión sanguínea en los donantes de sangre en España fue regulado mediante el Real Decreto sobre hemodonación (Real Decreto 1088/2005) promulgado a finales del 2005 y excluye de forma automática y definitiva los donantes con enfermedad de Chagas. Los resultados de seroprevalencia obtenidos a partir de este cribado en diferentes centros oscilan entre 0,05 y 1,38 de acuerdo con la muestra estudiada y los países y provincias de procedencia de los donantes. La desigual distribución de la inmigración iberoamericana en las distintas comunidades autónomas y, fundamentalmente, la de la inmigración procedente de Bolivia (Tabla 8.8), principal país de origen de las personas infectadas por *T. cruzi*, es la principal causa de la heterogénea distribución de la enfermedad de Chagas por la geografía española. Se han documentado varios casos de donantes positivos que han transmitido la infección a receptores infectados antes de la implantación del cribado (121).

Tabla 8.8. **Población procedente de países endémicos de la enfermedad de Chagas y de Bolivia residente en España, según datos definitivos del Padrón Municipal a 1 de enero de 2009**

	País endémico	Bolivia
Andalucía	187.472	20.651
Aragón	49.056	1.290
Asturias (Principado de)	35.063	553
Baleares (Illes)	93.838	7.663
Canarias	159.398	4.319
Cantabria	23.817	679
Castilla y León	64.450	4.256
Castilla-La Mancha	69.816	8.633
Cataluña	519.706	57.905
Comunitat Valenciana	255.005	28.024
Extremadura	10.385	813
Galicia	104.992	1.577
Madrid (Comunidad de)	614.889	53.778
Murcia (Región de)	91.213	17.933
Navarra (C. foral de)	39.477	3.419
País Vasco	76.593	12.099
Rioja (La)	14.807	2.424

Tomado de Portus y cols. (121)

Donante inmigrante o procedente de viajes tropicales

Len y cols. nos aclara en su artículo (83) el estudio que hay que realizar a todo donante que provenga del extranjero: actualmente las personas inmigrantes constituyen alrededor del 5 % de la población, si bien en determinadas zonas pueden llegar a ser el 15 o 20 %. Este grupo de población puede presentar una serie de enfermedades no incluidas en el cribado habitual de las enfermedades infecciosas transmisibles. Como concepto, ante todo donante extranjero o autóctono pero que haya viajado al extranjero en los últimos cinco años se deberá realizar la evaluación de las infecciones endémicas en la región de procedencia (Tabla 8.9).

Tabla 8.9. **Serologías que hay que realizar en el donante y conducta que se debe seguir en caso de positividad, 2006**

Usuales	Actitud
Anticuerpos totales frente a VIH-1 y VIH-2*	Exclusión como donante
Anticuerpos totales frente a VHC*	Exclusión como donante (puede ser utilizado en receptores seropositivos bajo consentimiento informado)
Antígeno superficie VHB (HBsAg)*	Virus delta+: exclusión como donante Virus delta-: valorar trasplante en receptor HBsAg+
Anticuerpo frente core VHB (HBcAc IgM e IgG)	IgM+: exclusión como donante IgG+: alto riesgo de transmisión en caso de trasplante hepático (puede ser utilizado bajo profilaxis intensa)
Pruebas reagínicas*	Si existe confirmación por pruebas treponémicas pautar penicilina benzatina en receptor
Anticuerpos IgG frente a CMV	En conjunción con la serología en el receptor determinará la profilaxis que hay que seguir
Anticuerpos frente a <i>Toxoplasma</i> spp. (especialmente trasplante de corazón)	Profilaxis con cotrimoxazol en receptores de trasplante cardíaco seronegativos
Anticuerpos frente a VEB**	Considerar la monitorización de la carga viral en receptores seronegativos
En inmigrante o viaje tropical (según zonas geográficas)***	
Anticuerpos IgG frente HTLV-I y HTLV-II*	Exclusión como donante (puede ser utilizado en urgencia o bajo consentimiento informado)
Serología para <i>Strongyloides</i> spp. (y búsqueda de parásitos en heces)	Seguimiento clínico estrecho
Trematodos (examen de huevos en heces, orina y esputo)	Tratamiento específico y seguimiento
Serología para <i>Histoplasma capsulatum</i>	Seguimiento clínico estrecho. Posibilidad de reactivación
Serología para <i>Coccidioides immitis</i>	En trasplante pulmonar valorar azoles de 7 a 10 días en el receptor
Serología para <i>Trypanosoma cruzi</i> *	Infección aguda: exclusión como donante Infección crónica: exclusión en trasplante cardíaco
<i>Plasmodium</i> spp. (frotis y gota gruesa, posibilidad de detección antígeno por inmunocromatografía)	Fallecimiento por malaria: exclusión como donante Parasitación: tratamiento antipalúdico precoz donante y receptor
Infecciones que hay que considerar en el cribado	–
Virus del Nilo Occidental (donantes de zonas endémicas)	–
Virus del herpes humano 8	–
Virus del herpes humano 6 (en trasplante pediátrico)**	–

*En este caso la determinación se debe realizar previamente a la extracción del órgano.

**Particularmente importante en trasplante pediátrico donde el receptor tiene una mayor probabilidad de ser seronegativo.

***Ver texto.

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; VHC: virus de la hepatitis C; VHB: virus de la hepatitis B; CMV: citomegalovirus; VEB: virus Epstein-Barr; HTLV: virus linfotrópico humano.

Tomado de Len y cols. (83)

En inmigrante o viaje tropical (según zonas geográficas)***

Serología para *Trypanosoma cruzi**

Infección aguda: exclusión como donante

Infección crónica: exclusión en trasplante cardiaco

*En este caso la determinación se debe realizar previamente a la extracción del órgano.

***Ver texto.

Tomado de Len y cols. (83)

Castro y cols. (21) nos detallan la situación en los bancos de sangre españoles:

Antes del Real Decreto existían diversas iniciativas en los Centros de Transfusiones de España para el cribado de la infección por *T. cruzi* en donantes originarios de áreas endémicas. Las Comunidades Autónomas con bajo porcentaje de inmigrantes de América Latina, en general, los excluían como donantes de sangre. En el resto de las Comunidades Autónomas, existían diversas opciones técnicas para el cribado.

En el año 2006, siete de los diecinueve Centros y Servicios de Transfundidos (se envió la encuesta a los 22 centros existentes en España) ya habían implantado la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* de forma sistemática. Las comunidades con menor proporción de ciudadanos procedentes de áreas endémicas: Andalucía (1,3 %), Aragón (2,4 %), Cantabria (1,9 %), Castilla La Mancha (2,1 %) y Extremadura (0,6 %) han optado, en general, por la exclusión de los candidatos de zonas endémicas y no hacen análisis. Sin embargo, Asturias (1,4 %), y Galicia (1,4 %) con tasas igualmente bajas, han introducido las técnicas de detección y Castilla León (1,4 %) está en plena fase de implantación. Baleares (5,5 %), Canarias (4 %), Navarra (4,5 %) y Murcia (5,7 %), con proporciones más altas, están en la fase de implantación de las técnicas de detección, por lo que todavía no disponen de datos. Madrid (6,9 %), Cataluña (4,3 %) y Valencia (3,5 %), tienen las cifras más altas de población hispanoamericana y concentran al 61 % de las personas de riesgo de todo el país (tabla 8.9). Estas tres CCAA: se encuentran entre las primeras en poner en marcha el cribado de las donaciones para detectar anticuerpos anti-*T. cruzi* y es donde se han analizado el mayor número de muestras (Tablas 8.10 y 8.11).

Las técnicas más empleadas fueron las de detección de anticuerpos a través de un ensayo en gel de DiaMed, seguida del ELISA puesto a punto por el Instituto de Salud Carlos III y el IFI también propio del Instituto Carlos III. Otras técnicas disponibles son el ELISA comercial de Biokit y el ELISA de Cellabs.

Tabla 8.10. **Cribado para Ac anti-*T. cruzi* por CC.AA.**

Centro de transfusión	Test Pre/Post donación	Fecha de comienzo
Asturias	PRE	Mar-03
Cataluña	POST	Sep-05
Galicia	POST	Nov-05
Comunidad de Madrid	PRE	Ago-05
Cruz Roja de Madrid	PRE	Mar-05
Valencia	PRE	Sep-05
País Vasco	PRE	2005

Tomada de Castro y cols. (21)

Tabla 8.11. Resumen de donaciones analizadas para *T. cruzi*

Centro de transfusión	Donantes estudiados	Donantes Ac positivos	Prevalencia Ac positivos (%)	Donaciones periodo	% Donantes estudiados
Asturias	643	1	0,16	111.626	0,6 %
Cataluña	866	6	0,69	73.474	1,2 %
Galicia	191	0	0,00	20.455	0,9 %
Comunidad de Madrid	1.042	9	0,86	46.868	2,2 %
Cruz Roja de Madrid	1.594	22	1,30	228.279	0,7 %
Valencia	1.746	16	0,94	217.420	0,8 %
País Vasco	78	1	1,00	21.576	0,4 %
Total	6.160	55	0,90	719.698	0,9 %

Tomada de Castro y cols. (21)

Piron y cols. describen en su artículo (120) el programa de cribado para la enfermedad de Chagas para donantes de sangre de alto riesgo que ha puesto en marcha el banco de sangre catalán: «Se ha realizado un estudio para determinar la seroprevalencia de la infección por *T. cruzi* en la población donante. Se han utilizados dos técnicas para la detección de anticuerpos (la aglutinación y el ELISA). La seroprevalencia general es de 0,62 % de un total de 1.770 donantes estudiados a once se les confirmó la infección, la tasa más elevada (10,2 %) se observó en donantes bolivianos. Un dato interesante es que uno de los donantes seropositivos era un español que había vivido durante varios años en un área endémica. Además, uno de los once donantes positivos presentaba parasitemia.

El estudio se llevó a cabo entre septiembre de 2005 y septiembre de 2006, incluyó a 1.770 individuos que pertenecían a uno de los siguientes grupos de riesgo: Grupo 1, donantes nacidos o transfundidos en áreas endémicas; Grupo 2, donantes nacidos de madres nativas de áreas endémicas; Grupo 3, residentes en áreas endémicas más de un mes (Tabla 8.12). 21 de los donantes (1,2 %) refirió haber recibido transfusión en un país endémico. Sólo el 20,7 % de los donantes nacidos en áreas endémicas referían haber vivido en un ambiente rural y sólo el 9 % declaró haber vivido en casa de adobe. Para los residentes temporales, las proporciones fueron 66,5 % y 22 % respectivamente (Tabla 8.13).

Tabla 8.12. Datos epidemiológicos de los donante incluidos en el estudio

Donantes incluidos por grupo de riesgo	Nº (%)	Transfundido en áreas endémicas*	Sexo		Rechazado antes de donar	Edad (años)°
			Hombre*	Mujer*		
1. Nacido en área endémica	1.524 (86,1)	21 (1,4)	758 (49,7)	766 (50,3)	95 (6,2)	35 (10,7)
2. Nacido de madre nativa de área endémica	37 (2,1)	0	18 (48,6)	19 (51,4)	1 (2,7)	28 (10,0)
3. Residente temporal en área endémica	37 (2,1)	0	119 (56,9)	90 (43,1)	19 (9,0)	38 (10,7)
Total	1.770	21 (1,2)	895 (50,6)	875 (49,4)	115 (6,5)	35 (10,8)

* Datos en número (%)

° Datos como media (DS)

Tomada de Piron y cols. (120)

Tabla 8.13. **Condiciones de vida en el área endémica**

Grupo 1: donantes nacidos en áreas endémicas		Grupo 3: residido en áreas endémicas	
Vivido en z. rural	Vivido en casa de adobe	Vivido en z. rural	Vivido en casa de adobe
315/1.524 (20,7 %)	137/1.524 (9,0 %)	139/209 (66,5 %)	46/209 (22,0 %)

Tomada de Piron y cols. (120)

El país de origen más representado fue Colombia (22,3 %) seguido de Argentina (19,5 %) y Ecuador (14,6 %) (Tabla 8.14). La mayor parte de las madres procedían de Argentina (10), Colombia (7), Chile (7), y Perú (3). La mayoría de los donantes del grupo 3 habían visitado varios países endémicos durante uno o varios viajes.

Tabla 8.14. **Distribución de los donantes nacidos en áreas endémicas y donantes positivos por país de origen**

País	Ac anti- <i>T. cruzi</i> *	% de inmigrantes oficiales en Cataluña	Donantes seropositivos	
			Nº	Tasa por país (%)
Colombia	340 (22,3)	13,8	–	–
Argentina	298 (19,5)	11,7	2	2/298 (0,67)
Ecuador	223 (14,6)	29,2	1	1/223 (0,45)
Uruguay	127 (8,3)	4,4	–	–
Perú	123 (8,1)	8,9	–	–
Brasil	113 (7,4)	3,9	–	–
Venezuela	86 (5,6)	2,4	–	–
Chile	77 (5,0)	4,2	–	–
Bolivia	59 (3,9)	8,0	6	6/59 (10,2)
México	40 (2,6)	2,6	–	–
Paraguay	15 (1,0)	1,1	1	1/15 (6,7)
Honduras	10 (0,7)	1,3	–	–
El Salvador	6 (0,4)	0,4	–	–
Nicaragua	3 (0,2)	0,1	–	–
Costa Rica	2 (0,1)	0,1	–	–
Guatemala	1 (<0,1)	0,1	–	–
Panamá	1 (<0,1)	0,1	–	–
Total	1.524	–	10	–

* Datos en nº (%)

Tomada de Piron y cols. (120)

Los once pacientes seropositivos se confirmaron por un tercer ensayo, el ELISA de Ortho. Diez de éstos pertenecían al Grupo 1 (0,66 %) y uno al Grupo 3 (Tabla 8.15). Los países de origen fueron Bolivia (seis casos, 10,2 %), Argentina (2), Ecuador (1) y Paraguay (1); y el español que había vivido en Venezuela 27 años. Sólo tres de los donantes positivos declararon haber vivido en un área rural o en casas de adobe (Tabla 8.15).

Tabla 8.15. Datos epidemiológicos de los 11 donantes positivos

Sexo (H/M)	Edad al donar (años)	País	Ciudad, Estado	Vivido en z. rural	Vivido en casa de adobe	Nacido en España	Año llegada a España	Vuelta a su país	Transfusión en país endémico
M	34	Ecuador	Machala, El Oro	No	No	No	2000	Sí	No
M	34	Bolivia	Cochabamba, San Benito	Sí	Sí	No	2002	No	No
H	42	Argentina	Guaymallen, Mendoza	Sí	Sí	No	2002	No	No
M	36	Bolivia	Santa Cruz, Santa Cruz	No	No	No	2005	Sí	No
H	38	Bolivia	Santa Cruz, Santa Cruz	No	No	No	2004	No	No
H	45	Bolivia	Santa Cruz, Santa Cruz	No	No	No	2003	No	No
M	31	Venezuela	Caracas	Sí	-	Sí	2003	-	No
M	36	Bolivia	Cochabamba, Cochabamba	No	No	No	2003	No	No
M	40	Bolivia	Santa Cruz	No	No	No	2003	No	No
H	49	Argentina	San Juan	No	Sí	No	1988	No	
M	51	Paraguay	San Estanislao, San Pedro	No	No	No	1978	Sí	No

En España, algunos bancos de sangre realizan el cribado de *T. cruzi* en donantes de riesgo y los datos se han descrito aunque algunos resultados son preliminares. La seroprevalencia varía entre 0,05 y 1,38 % en los estudios disponible. Se puede calcular una seroprevalencia media de 0,65 % de todos los bancos de sangre que han realizado (o iniciado) un estudio, que incluye a 10.388 donantes de sangre con riesgo de infección por *T. cruzi*. Los datos obtenidos en Cataluña son parecidos a estos datos.

La información obtenida sobre las condiciones de vivienda en las áreas endémicas (área rural, casa de adobe) no se correlaciona con la presencia o ausencia de anticuerpos. Las personas nacidas en áreas endémicas (7 de 11), generalmente, declaran que nunca han vivido en un ambiente rural o en casas de adobe, como comúnmente se asume.

En resumen, este estudio informa sobre la seroprevalencia de *T. cruzi* de la infección por *T. cruzi* 0,62 % entre los donantes de riesgo en Cataluña y subraya la necesidad de incluir a los individuos que han vivido, y no necesariamente nacido, en áreas endémicas como donantes de riesgo. La dificultad de este tipo de cribado selectivo es la adecuada identificación de la población de riesgo, que esencialmente depende de la entrevista pre-donación. Los latinoamericanos representan más del 1 % del total de donantes en nuestro estudio, y esta sustanciosa contribución hace necesario aceptarlos como donantes».

Parada y cols. (112) estudiaron durante dos años la seroprevalencia de donantes de sangre en el Centro de transfusión de la Comunidad Valenciana. De un total de 358.900 donaciones de sangre, 3.635 (1,01 %) eran de donantes de riesgo para enfermedad de Chagas. De las unidades analizadas (3.625), cuarenta y cinco fueron positivas (1,24 %).

Casos post-transfusión o trasplante

Flores-Chavez y cols. (45) describieron en 2005 el caso de un paciente con leucemia que murió debido a una infección por *T. cruzi* adquirida por vía transfusional con sangre contaminada. Al paciente se le transfundió sangre. Cientos de donantes: 168 vivían en Madrid (159 de origen español, un brasileño, un ecuatoriano, dos colombianos, tres franceses, un polaco y un alemán), cinco vivían en Albacete y tres en Jaén. La detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* se realizó mediante IFI y ELISAs. Y el DNA de *T. cruzi* se detectó mediante PCR. La PCR positiva en el paciente apareció por primera vez 48 días después de la transfusión de plaquetas. En el estudio de los donantes, al procedente de Brasil se le detectaron anticuerpos anti-*T. cruzi*. En una primera PCR de 5 ml de sangre no se detectó DNA de *T. cruzi*, pero tras una segunda extracción de 10 ml el resultado fue positivo.

Perez de Pedro y cols. describieron (115) como el 14 de junio de 2007 a un paciente diagnosticado de aplasia medular severa se le detectó infección aguda por *T. cruzi* que llevaba con síntomas desde el 20 de mayo. Se le trató durante 80 días desapareciendo los síntomas. El paciente había sido transfundido con plaquetas el 28 de febrero de un donante de origen boliviano. El donante estaba asintomático, se le inició tratamiento pero hubo de suspenderse por los efectos adversos. De ese mismo donante otras trece personas habían recibido hemoderivados. De los ocho receptores vivos sólo una persona presentó PCR y serología positiva y se le realizó tratamiento completo sin incidencias.

Como la transfusión de sangre es la principal vía de transmisión de *T. cruzi* en España, la nueva legislación (2005) garantiza la calidad de los componentes sanguíneos de las transfusiones para receptores y permite la inclusión de los inmigrantes de América en el pool de donantes potenciales (45).

Los resultados del estudio realizado en el Banco de Sangre de Cataluña enfatizan la necesidad de un cribado en los donantes con riesgo en los países no endémicos. Es importante incluir como grupo de riesgo a las personas que hayan vivido en áreas endémicas, pero que no necesariamente hayan nacido en ellas (120).

En el futuro, técnicas para inactivar la carga parasitaria, que actualmente está en desarrollo, serán aplicables a los componentes sanguíneos. En este momento, sin embargo, la detección de infección por *T. cruzi* es la única medida preventiva disponible para aceptar a los donantes de sangre de riesgo (120).

9. EMBARAZADAS

9.1. SEROPREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EMBARAZADAS E INFECCIÓN CONGÉNITA POR *TRYPANOSOMA CRUZI*

Gascón y cols. nos describen en su artículo (52) la situación actual sobre la transmisión vertical de la enfermedad de Chagas:

Los flujos migratorios de América Latina han originado cambios sustanciales en la epidemiología de la enfermedad de Chagas. De ser una enfermedad muy ligada a la pobreza en zonas rurales de América Latina, ha pasado, primero, a las grandes ciudades del continente americano y, posteriormente, a zonas no endémicas.

Los programas de control que se han realizado en los países afectados, a pesar de que han tenido un desarrollo muy desigual han disminuido la tasa de infección a través de la vía vectorial. El control en los bancos de sangre ha hecho disminuir también la transmisión a través de productos sanguíneos. En este contexto, la transmisión vertical ha cobrado mucha más relevancia que en el pasado.

Teniendo en cuenta la importancia en salud pública de la infección congénita por *T. cruzi*, es absolutamente necesario desarrollar una estrategia de control, por lo menos en los países endémicos. Durante el embarazo el cribado prenatal sólo permite la detección de madres infectadas. Actualmente no hay manera de identificar a las madres que transmiten el parásito a sus fetos. Tampoco es posible una prevención directa en gestantes a fin de evitar la transmisión materno-fetal. Existe un consenso para desaconsejar categóricamente el tratamiento de las mujeres embarazadas: el riesgo teratogénico de los dos fármacos tripanocidas actualmente no es conocido; su eficacia en la forma crónica de la enfermedad (que es el caso de la mayoría de las gestantes) es débil e inducen frecuentemente efectos secundarios en el adulto. La única posibilidad que queda es la detención precoz de la infección congénita en los recién nacidos de madres infectadas (búsqueda sistemática de parásitos en la sangre al nacimiento, serología sistemática después de 8 meses de edad en bebés que han mostrado resultados negativos al nacimiento), y el tratamiento sistemático de los casos positivos y el seguimiento pediátrico regular.

Esta estrategia nos la relata Carlier en su artículo (20), fue instaurada en Bolivia y en 2004 tras la segunda reunión internacional sobre Enfermedad de Chagas congénita se solicitó la introducción en la legislación sanitaria de todos los países americanos. En 2007 en la reunión celebrada en Ginebra «Revisiting Chagas disease» tuvieron en cuenta la globalización de la enfermedad de Chagas y la necesidad de extender la estrategia de control de la infección congénita por *T. cruzi* también a países no endémicos.

Una estrategia bien estandarizada debe contemplar (155):

- A toda madre que vive o que proviene de una zona endémica para Chagas, hacerle un diagnóstico serológico en el momento del primer control del embarazo o en el momento de su admisión a la maternidad.
- Diagnóstico parasitológico de la infección en los recién nacidos de madres seropositivas.
- Tratamiento inmediato y seguimiento de los recién nacidos infectados.
- Extensión de la detección y el tratamiento de la infección a *T. cruzi* a los otros hijos de la madre infectada.

La prevalencia de infección materna y la de la transmisión congénita varía mucho de un país a otro e incluso del área geográfica estudiada: (ver tabla 9.1) .

Tabla 9.1. Prevalencia de infección materna y la de la transmisión congénita por áreas geográficas

Área geográfica	Periodo	Infección materna (%)	Infección congénita (%)
Bolivia (Santa Cruz)	1988-1999	51	18,5
Chile (Salamanca)	1990	26,5	2,1
Chile (Santiago)	1990	1,2	9
Brasil (Salvado)	1981-1982	8,5	1,6
Argentina (Salta)	1981-1985	16	4
Argentina (Santa Fe)	1976-1991	14,6	2,6
Argentina (Tucumán)	1995	5,5	4,5
Honduras	1995	16,5	4,9

El riesgo de transmisión congénita en Sudamérica se ha estimado que varía del 1 % al 7 % (OMS 2002) (65).

Jackson y cols. (75) enumeran las razones por las que el cribado sistemático en mujeres embarazadas en riesgo puede ser beneficioso de varias maneras:

1. Tratamiento de las madres infectadas después de la lactancia puede reducir el riesgo de la transmisión vertical en próximos embarazos.
2. El tratamiento de madres jóvenes en la fase indeterminada crónica, puede reducir el desarrollo de complicaciones cardíacas.
3. El cribado y tratamiento precoz de los neonatos está asociado con mayores tasas de curación (35).
4. Hijos de madres recién diagnosticadas se pueden beneficiar del cribado y del tratamiento.
5. Como los inmigrantes con acceso inadecuado al sistema sanitario están en riesgo de pérdida para el seguimiento tras el parto, el cribado perinatal ofrece una buena oportunidad de cribar a otros miembros de la familia y ofrecerles tratamiento.

Los recién nacidos son uno de los grupos de población en los que la infección por *T. cruzi* puede ser más grave y en cambio el tratamiento etiológico es más eficaz (20). Sin embargo, entre un 31 y un 72 % de los niños infectados nacen asintomáticos, por ellos es necesario realizar un estudio para detectar la infección por *T. cruzi* (155).

Curar a un niño con enfermedad de Chagas tiene las siguientes ventajas.

- Evita la morbi-mortalidad por lesiones cardíacas y digestivas en la edad adulta.
- Si se cura una niña, se evitan nuevos casos de Chagas congénito en sus futuros hijos.
- Aumenta el número de donantes de sangre y de órganos.
- Evitaría la discriminación.

9.2. PAÍSES ENDÉMICOS

Aunque más centrados en la erradicación del vector y en el control de las transfusiones sanguíneas, los países de América Latina comienzan a prestar atención a la transmisión congénita. Esta preocupación queda reflejada en las consideraciones y recomendaciones del Grupo de Consulta de la OPS y la

aparición de publicaciones en la literatura, en las que se establecen las seroprevalencias de mujeres embarazadas por países.

El Grupo de Consulta de la OPS considera y recomienda (28):

1. Es imprescindible la implementación de acciones de intervención y control de la infección congénita por *Trypanosoma cruzi* debido a la importancia que la misma tiene sobre la salud de los niños y la epidemiología de la parasitosis.
2. En consideración del momento histórico que vive el control de la enfermedad de Chagas en toda la Región de las Américas, expresa también la necesidad de consolidar las acciones exitosas e incrementar los esfuerzos para el control de la transmisión vectorial y transfusional de *T. cruzi*.
3. Destaca que en las regiones donde se ha logrado o avanzado en el control de la transmisión vectorial y transfusional de *T. cruzi*, la transmisión congénita constituye la principal forma de persistencia de la parasitosis en las poblaciones humanas.
4. Considera que el documento *Congenital infection with T. cruzi: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control* (Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 2003, 36 (6): 767-771), emanado del Coloquio Internacional de Cochabamba, Bolivia (6 al 8 de noviembre de 2002), refleja las orientaciones y lineamientos fundamentales sobre los cuales se debe encarar el cribado, diagnóstico, tratamiento y seguimiento necesarios para operar de forma completa y correcta sobre los casos individuales y el problema de salud pública que representa la Enfermedad de Chagas congénita.
5. Recomienda que los datos básicos de la Enfermedad de Chagas congénita, se integren al Sistema Informático Perinatal de CLAP/OPS. Asimismo, que la problemática de esta parasitosis se incorpore a las acciones de cooperación técnica en el área materno-infantil que ese Centro impulsa en la Región de las Américas.
6. Insiste en la necesidad de una mayor coordinación de las acciones e intervenciones del área materno-infantil, para que las actividades dirigidas al cribado, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de Chagas congénito, puedan verse favorecidas por la simultaneidad con el cronograma de vacunaciones y/o controles clínicos de cada país, a los efectos de obtener mayor eficacia, eficiencia y sostenibilidad de las intervenciones.
7. Propone como esquema básico de procedimiento de cribado y diagnóstico, para que los países implementen acciones programáticas, adecuadas, factibles, eficaces, eficientes y sustentables contra la Enfermedad de Chagas congénita:
 - Pesquisa serológica materna universal en el primer control de su embarazo o en la admisión por parto.
 - En los hijos de madre con serología chagásica positiva:
 - pesquisa parasitológica directa neonatal y
 - pesquisa serológica convencional diferida entre los 9 y 12 meses de edad.

En comunidades con alta transmisión vectorial donde la incidencia de infección aguda durante el embarazo, sea relevante, debe considerarse la posibilidad de pesquisa universal de la infección por *T. cruzi* en todos los recién nacidos.

En países con alta frecuencia de partos domiciliarios, la captación de los nacidos deberá hacerse en el primer contacto con el sistema de salud.

8. En relación al tratamiento, considera imprescindible:

- Que los países asignen los recursos para la adquisición de los medicamentos específicos (nifurtimox y benznidazol) y recomienda un sistema de compras gestionado con la cooperación de OPS.
- Disponer de presentaciones pediátricas de los medicamentos para el tratamiento etiológico por lo que se exhorta a los gobiernos, ONGs, organismos internacionales y la industria para que implementen las acciones correspondientes.

9. En relación a la salud familiar, se recomienda:

- Ampliar el estudio a todos los hijos nacidos de una madre con serología positiva.
- Realizar la atención médica de la madre infectada.

10. Reafirma la necesidad de desarrollar acciones programáticas de control para Chagas congénito en todo el país (áreas endémicas y no endémicas) en razón de las realidades demográficas y migratorias que superan los límites de las zonas de transmisión vectorial presente o pasada.

11. Considera fundamental que los planes y la operativa que se desarrollen para cribado, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de Chagas congénito se incorporen definitivamente en el sistema nacional de salud en todos sus niveles de complejidad, integrándose en la Atención Primaria de Salud (APS).

12. Considera necesario la implementación de procesos de formación y capacitación permanente de recursos humanos, para la ejecución de las acciones recomendadas.

13. Invita a los países a reglamentar dentro de su sistema legal y/o normativo en salud la obligatoriedad del cribado, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la Enfermedad de Chagas congénito.

14. Estima de la mayor importancia e interés promover la cooperación técnica entre agencias entre OPS/OMS, Cooperación Belga e IRD-Francia (Instituto de Investigación para el Desarrollo, o Institut de Recherche pour le Développement), para apoyar la organización, desarrollo e investigación científica y formación de recursos humanos para el fortalecimiento de las acciones de control de Chagas congénito en la Región de las Américas.

La prevalencia de serología positiva en las mujeres grávidas es muy variable de un país a otro, incluso de una región determinada a otra y refleja la prevalencia global de la infección. Esta prevalencia ha disminuido sustancialmente en los países donde se han desarrollado programas nacionales de control vectorial, pero también allí donde la situación socioeconómica ha mejorado a lo largo de los años. Así por países encontramos la siguiente prevalencias (155):

Argentina

En 1997 Blanco y cols. examinaron 58.196 mujeres de 13 provincias y se encontró un 9 % de seropositividad a *T. cruzi* (15).

En otro estudio llevado a cabo por Gürtler y cols. (63) utilizando varias fuentes de datos estimaron que en Argentina hubo cerca de 850 casos de enfermedad de Chagas congénito en 1993, o 6,3 casos por cada uno que se informó en 1994 y en 1994-2004. Los autores comentan que esta tasa es mayor que la de transmisión vectorial y por ello es necesario establecer una política a corto plazo de diagnóstico prenatal de las mujeres embarazadas infectadas por *T. cruzi* y el seguimiento de sus hijos.

Torrico y cols. (155) nos informa que en Argentina, una encuesta sero-epidemiológica realizada en 1999 entre las mujeres embarazadas de 13 provincias endémicas mostraba una seroprevalencia media de un 4 % mientras que otras encuestas llevadas a cabo en Tucumán y en la ciudad de Santa Fe, identificaban, respectivamente un 5,5 % y 14,6 % de mujeres infectadas, de las cuales un 73 % tenía historia de migración.

Bolivia

En Bolivia, donde las actividades de control vectorial se iniciaron solamente a partir del año 2000, la prevalencia de la infección entre mujeres embarazadas es particularmente importante con cifras que superan el 20 %, con una tasa de transmisión materno-fetal de 5 %. Tras la implantación de un programa de detección y tratamiento de Chagas congénito, en el que el 83 % de los niños detectados con Chagas congénito han efectuado y concluido los 30 días de tratamiento, se observó la seronegativización en 52 de ellos (155).

Torrico y cols. en un trabajo (157) compararon los resultados de dos estudios clínicos y epidemiológicos realizados en 1992-1994 (n=1.606) y 1999-2001 (n=3.879) en la misma clínica maternal de Cochabamba, Bolivia. La seroprevalencia de la infección en las madres fue de 27,6 % en el primer estudio y 17,3 % en el segundo. En ambos estudios la transmisión materno-fetal fue 5-6 % (incidencia 1,4 % y 1,0 % respectivamente), sin embargo, si se produjeron reducciones significativas en la frecuencia de los casos sintomáticos (de 54 % a 45 %) Apgar > 7, bajo peso al nacer y prematuridad (de 32-50 % a 6-16 %) entre los bebés congénitamente infectados. La mortalidad neonatal asociada a la enfermedad de Chagas congénita también disminuyó del 13 % al 2 %. Estos resultados sugieren que la disminución de la pobreza que ha ocurrido en Bolivia en este intervalo de tiempo ha contribuido a reducir la morbilidad y la mortalidad, pero no la tasa de transmisión de la infección congénita por *T. cruzi*, que todavía es un problema serio de salud pública en este país, de hecho la tasa de morbilidad severa en un estudio reciente es del 18 % de los niños infectados. Las tasas de seroprevalencia de este estudio son más bajas que las de un estudio realizado en el departamento de Santa Cruz, o de las observadas en Chile; comparables con las de Argentina y; más alta que las de Brasil y Paraguay.

Los mismos autores (156) realizaron a la vez la comparación hematológica y parasitológica de las madres infectadas por *T. cruzi* y de los datos biológicos y clínicos obtenidos de sus hijos (infectados y no infectados), estratificados según la densidad vectorial en el área de residencia materna. En este estudio se demostró que a pesar de que las frecuentes picaduras de los reduvidos durante el embarazo no producen anemia materna, sí que a través de las múltiples reinfecciones con *T. cruzi*, aumenta la parasitemia materna y empeora la enfermedad de Chagas congénita. Los embarazos y partos en lugares de alta densidad vectorial están asociados con un riesgo mayor de enfermedad de Chagas congénita severa y mortal.

Salas y cols. (137) en Yacuiba (Tarija) realizaron a 2.712 mujeres embarazadas un estudio ente mayo de 2003 y Noviembre de 2004 y se determinó que la prevalencia de enfermedad de Chagas era de 42,4 % y la transmisión congénita del 6 %. Esta tasa de transmisión es comparable con la encontrada en Cochabamba (4,9-5,9 % en 2004) o en Argentina (8,8 % en 1997; 7,1 % en 2000) pero mayor que en Brasil (1,6 % en 1985; 0,7 % en 2004) o Uruguay (1,6 % en 1986). Sólo los grupos que utilizan métodos moleculares para la detección han informado de tasas de transmisión mayores (10,4 % en 1998; 13,7-28,2 % en 2001). Como factores de riesgo sólo encontraron la infección de la madre y la parasitemia maternal en el momento del nacimiento.

En un estudio realizado en Cochabamba por Torrico y cols. (158) y publicado en 2005 a 2.124 mujeres embarazadas la prevalencia fue del 26,3 %.

Brutus y cols. publicaron en 2007 un estudio (19) de transmisión congénita en dos áreas del Sur del país. En el área donde *T. infestans* abundaba la seroprevalencia fue significativamente mayor que en otra área donde el vector estaba ausente. Por lo que la transmisión congénita se puede dar a pesar del control activo del vector en esas áreas. Lo mismo que sucede en los países no endémicos donde el vector no existe.

Brasil

Torrico y cols. describen cómo en el estado de Paraná, un estudio (155) retrospectivo llevado a cabo durante el periodo 1996-1998, mostró que el 0,9 % de las mujeres embarazadas tenía una serología positiva para Chagas. Otro estudio llevado a cabo en el estado de Sao Paulo encontraba un 2,9 % de mujeres positivas, 72,4 % de ellas eran naturales de los estados altamente endémicos de Bahía y Minas Gerais.

Chile

En un estudio efectuado entre 1991 y 1993 entre las mujeres embarazadas de Antofagasta, región libre de transmisión vectorial, mostraba que el 2,1 % estaban infectadas, y que un 70 % y un 22,7 % de ellas procedía de regiones que eran antes moderada y altamente endémicas respectivamente (155).

Perú

En el departamento de Arequipa donde la infección por *T. cruzi* es endémica, la prevalencia era del 0,73 % (155).

Paraguay

Antes del año 2005 se instauraron sistemas de cribado prenatal en los centros de atención sanitaria rurales en las áreas endémicas. Russomando y cols. (134) evaluaron serológicamente 61.091 mujeres de los Departamentos de Paraguari y Cordillera, de ellas 7.802 (12,7 %) presentaron anticuerpos frente a *T. cruzi*. Se estudiaron también 1.865 recién nacidos y 104 (5,58 %) presentaron la infección, continuando en un 7 % detectándose los anticuerpos maternos a los seis meses de edad.

México

Olivera y cols. (109) nos relatan que en 1998 se publicó un caso de transmisión materno-fetal. En 2005 en los estados de Chiapas y Veracruz (México) se encontró una seroprevalencia de 4,1 % en 145 madres (3,5 % en Veracruz y 5 % en Chiapas), pero en ninguno de los recién nacidos la PCR o el hemocultivo resultaron positivos.

9.3. PAÍSES NO ENDÉMICOS

Gascon y cols. en uno de sus artículos (54) se centran en la transmisión materno-fetal.

En ausencia de transmisión vectorial, las vías congénita y sanguínea adquieren proporcionalmente mayor importancia. En España se ha descrito varios casos de infección por *T. cruzi* congénita y en

Suiza un caso. Ser consciente de la importancia de la transmisión congénita es particularmente importante en España donde más del 60 % de los latinoamericanos son mujeres. En un estudio de 1.350 mujeres embarazadas en Barcelona la seroprevalencia fue de 3,4 % pero del 27,7 % en las bolivianas; la tasa de transmisión vertical fue 7,3 %.

A finales de los noventa, un estudio retrospectivo realizado en Houston demostró una seroprevalencia del 0,3 % entre 2.107 mujeres de origen hispano. Basándose en esta seroprevalencia, la estadística del número de hijos de este grupo, y asumiendo un 5 % de transmisión vertical, un informe estima que en Estados Unidos se producen anualmente 189 infecciones congénitas (2008).

Estados Unidos

En 1995 en el estado de nuevo México describieron un caso de mujer embarazada procedente de México con infección crónica por *T. cruzi* que presentaba síntomas gastrointestinales y cardiacos. El recién nacido a las seis semanas del nacimiento presentaba el mismo título de anticuerpos que cuando nació (1/256). Un hijo de dos años, nacido en México presentaba un título de anticuerpos frente a *T. cruzi* de 1/512. Los autores señalan que las personas que trabajan es obstetricia en los Estados Unidos deben estar familiarizados con la tripanosomiasis americana porque se puede presentar durante el embarazo (57 y 92).

Di Pentima y cols. (37) realizaron un estudio en Houston (Texas) desde 1993 a 1996 a mujeres embarazadas, 2.107 de origen hispano y 1.658 de origen no hispano, se les detectó a veintidos (0,6 %) la presencia de anticuerpos mediante ELISA. Mediante un ensayo de hemaglutinación, a once se les confirmó el resultado (0,3 % -95 % CIC, 0-1 %-, nueve de origen hispano y dos de origen no hispanos (0,4 % y 0,1 % respectivamente). A la vista de estos resultados, la transmisión transplacentaria ocurre en Estados Unidos y el cribado de las embarazadas provee de un diagnóstico temprano para el tratamiento de la enfermedad de Chagas congénita. En un estudio realizado entre 1984 y 1985 a un grupo de 205 inmigrantes de América Central, la seroprevalencia de anticuerpos frente a *T. cruzi* fue de 4,8 %, de modo que es ese periodo entre 25.000 y 100.000 inmigrantes de América Central estaban infectados crónicamente. Como en Texas existen vectores infectados, si añadimos el impacto de los inmigrantes infectados, se nota en la infección por *T. cruzi* en dicho estado. Sin embargo, poco se sabe sobre la prevalencia de la infección en los residentes de Texas.

Yadon y cols. (166) hacen una estimación de las mujeres e hijos infectados existentes en el país, así como nos da una idea de la situación de la enfermedad en Estados Unidos.

Las mujeres en edad fértil provenientes de países endémicos de Chagas en Estados Unidos eran 21.384.644 y 51.841.538 en 1990 y 2000, respectivamente. Considerando las tasas de prevalencia de infección por *T. cruzi* en sus países originarios y el riesgo de adquirir infección congénita para el neonato es 1,33 % a 5 %, se estimó que el número de recién nacidos infectados era de 85-318 en 1990 y 166-638 en 2000 (Tabla 9.2).

Tabla 9.2. Estimación de infección de chagas en mujeres y en recién nacidos en los años 1990 y 2000

País de origen	Nº d mujeres (15-44 años)		1990				2000			
	1990	2000	Nº estimado de Chagas congénito			Nº estimado de Chagas congénito				
			Nº estimado de infectadas	Nº hijos	t= 1,3 %	t= 5 %	Nº estimado de infectadas	Nº hijos	t= 1,3 %	t= 5 %
Argentina	15.144	27.073	109	104	1	5	1.949	171	2	9
Bolivia	8.540	11.971	1.896	216	3	11	2.658	302	4	15
Brasil	53.044	N/A	1.644	155	2	8	-	-	-	-
Chile	12.126	18.41	1.285	116	2	6	1.951	175	2	9
Colombia	78.294	148.587	2.584	226	3	11	4.903	410	5	20
Costa Rica	11.352	19.867	602	56	1	3	1.053	95	1	5
Ecuador	40.398	71.725	137	13	0	1	244	20	0	1
El Salvador	109.685	202.523	7.568	804	11	40	13.974	1.318	18	66
Guatemala	63.501	105.552	6.223	651	9	33	10.344	984	13	49
Honduras	50.672	72.769	3.750	344	5	17	5.385	481	6	24
México	1.834.186	4.966.972	29.347	3.223	43	161	79.472	8.045	105	402
Nicaragua	24.293	57.776	146	14	0	0	347	29	0	1
Panamá	14.997	31.059	1.59	153	2	8	3.292	301	4	15
Paraguay	879	1.443	102	8	0	0	167	13	0	1
Perú	44.132	71.034	1.531	141	2	7	2.465	213	3	11
Uruguay	2.017	4.258	25	2	0	0	53	4	0	0
Venezuela	21.384	30.519	1.587	135	2	7	2.265	193	3	10
Total	2.384.644	5.841.538	61.107	6.360	85	318	130.520	12.760	166	638

Tomada de Yadon y cols. (166)

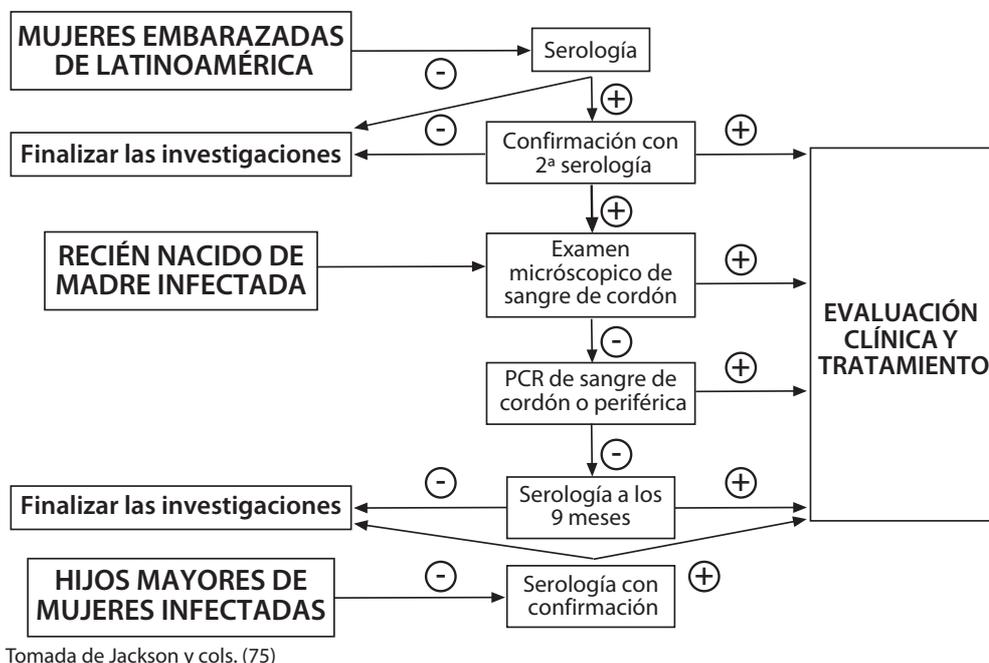
Estudios recientes indican que la población de *T. cruzi* no es homogénea. Hay un acuerdo de agrupar la mayoría de los clones en dos grupos de líneas: *T. cruzi* I y *T. cruzi* II. *T. cruzi* I está relacionado con el ciclo selvático y la enfermedad humana en América Central y los Países Andinos, y *T. cruzi* II en los países del Cono Sur está relacionado con el ciclo doméstico y produce más infecciones y morbilidad en humanos. Como la mayoría de los inmigrantes de Estados Unidos provienen de México o de América Central, es posible que en *T. cruzi* I que los infecta sea menos capaz de producir infección congénita que *T. cruzi* II, que es más común en los países del Cono Sur, donde se han descrito la mayoría de las infecciones congénitas.

Para reconocer que la infección congénita existe en Estados Unidos, primero el personal sanitario debe saber diagnosticar los casos. La identificación de un niño con riesgo requiere identificar que la madre está infectada. El país de origen de la madre puede indicar su riesgo de estar infectada: Bolivia y Paraguay son los países de origen con mayor riesgo (alta prevalencia en esos países). Los autores proponen para reconocer a las madres infectadas realizar un cuestionario que podría incluir: lugar de nacimiento (país de nacimiento y área rural o urbana); características de la casa (condiciones insalubres), y/o conocimiento del vector (reconocimiento del triatomino en un dibujo). Este cuestionario puede dar señales de una potencial infección o de ser improbable. Sin embargo, el únicamente el cuestionario no es suficiente para descartar si la madre está infectada por *T. cruzi*. Para confirmar la infección, es necesario realizar una serología de *T. cruzi*.

Suiza

Jackson y cols. (75) describen la situación en este país: «En 2001 y en 2006 dos mujeres de Santa Cruz dieron a luz en Suiza y se confirmó la transmisión congénita a los neonatos. En 2007 se realizó un estudio retrospectivo a 72 mujeres Latinoamericanas sin papeles en Ginebra procedentes de Bolivia (n=30), Brasil (n=22), Perú (n=6), Ecuador (5), Colombia (4), Chile (2), Honduras (1) y con origen desconocido (2). Siete mujeres tuvieron IFI positivas (9,7 %) la mayoría de Bolivia (16,6 %). Se han publicado un bajo número de infecciones congénitas por *T. cruzi* en países no endémicos. La ausencia de programas de cribado de la enfermedad de Chagas en embarazadas y neonatos puede explicar este bajo número, pero también pueden estar involucrados otros factores (poca accesibilidad a la sanidad durante el embarazo por la situación legal,...).

Desde enero de 2008 se está realizando un programa de cribado a las embarazadas en riesgo y a sus hijos en hospitales de Ginebra (Figura 9.1)».



Tomada de Jackson y cols. (75)

Figura 9.1. Algoritmo de cribado, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Chagas congénita en el Hospital Universitario de Ginebra, Ginebra, Suiza

Martínez de Tejada y cols. (93) les realizaron, en el año 2008, a 305 mujeres latinoamericanas, en Ginebra, este cribado con una prevalencia total de 2 % y del 8,8 % en bolivianas. Todas estaban en fase crónica indeterminada y dos recién nacidos se infectaron.

España

Transmisión vertical

En España, controlada ya la transmisión por vía sanguínea a través del cribado en los bancos de sangre (Real Decreto de 2005), el principal reto actual, con relación a la enfermedad de Chagas en nuestro país, es el control de la transmisión vertical, mediante el cribado en embarazadas y recién nacidos de madres seropositivas al antígeno de *T. cruzi*, y el tratamiento precoz de los recién nacidos infectados. Hay dos circunstancias que dotan de mayor relevancia a este control de la transmisión vertical. En primer lugar el hecho de que casi la mitad de la población procedente de Latinoamérica que vive en nuestro país son mujeres en edad fértil y, en segundo lugar, la alta eficacia del tratamiento con benznidazol cuando se aborda de forma precoz, y que alcanza casi el 100 % en niños menores de un año (121), con un buen perfil de tolerancia y seguridad, a diferencia de lo que ocurre en adultos con enfermedad crónica (52).

Gascon y cols. (52) nos detallan la situación de las recién nacidos infectados y embarazadas en nuestro país: «Sólo un pequeño porcentaje de los recién nacidos infectados tiene una sintomatología clínica que permite una sospecha diagnóstica. En la mayoría de los infectados, la infección pasa totalmente inadvertida. Sean sintomáticos o asintomáticos en la fase aguda, en caso de no tratarse, los niños infectados entrarán en la fase crónica de la enfermedad y alrededor del 25-35 % de ellos desarrollará, en la edad adulta, las complicaciones cardíacas, digestivas o neurológicas de la enfermedad. La eficacia del tratamiento específico del que se dispone en la actualidad desciende paulatinamente con la edad y en las personas adultas los resultados son poco satisfactorios, a pesar de que en algunos estudios recientes se muestran cifras de curación o de menor desarrollo de complicaciones superiores a las cifras de estudios más antiguos».

Además de los datos expuestos, en apoyo del cribado en mujeres embarazadas de origen latinoamericano, están los resultados de dos estudios en España que demuestran que esta estrategia es también beneficiosa desde el punto de vista económico.

Evitar que niños nacidos en España tengan una patología infecciosa crónica, que puede ser la causa de complicaciones importantes e incluso causa directa de muerte en la edad adulta, es el principal reto que tienen nuestro sistema de salud y nuestras autoridades sanitarias en relación con la patología importada.

Schmunis y cols. (143) hacen referencia al estudio efectuado por Paricio y cols., ya que este tipo de estudios son importantes para sensibilizar y obligar al Sistema Nacional de Salud a afrontar este importante reto y a dar una respuesta acorde con esta realidad.

De acuerdo con las estimaciones del número de inmigrantes, cuales de éstos son mujeres, cuales en edad fértil y número de hijo que tienen, se ha realizado el cálculo de los niños que nacerán con enfermedad congénita (Tabla 9.3).

Tabla 9.3. **Número estimado de recién nacidos con enfermedad de Chagas congénita dependiendo del país de origen de la madre, España, 2007**

País de origen materno (15-44 años)	N de neonatos vivos	Nº de neonatos vivos de madres infectadas	Nº estimado de casos congénitos (t=1,3 %)	Nº estimado de casos congénitos (t=5 %)
Argentina	2.542	208	3	10
Bolivia	6.442	992	13	50
Brasil	2.625	34	0	2
Chile	621	19	0	1
Colombia	5.088	198	3	10
Ecuador	9.300	112	1	6
Honduras	424	25	0	1
México	483	3	0	0
Paraguay	1.533	143	2	7
Perú	2.052	62	1	3
Uruguay	749	9	0	0
Venezuela	1.089	44	1	2
Total	32.948	1.849	24	92

Tomada de Schmunis y cols. (143)

Portus y cols. (121) en su artículo recogen seroprevalencias de otros estudios.

Diversos estudios han aportado valores de seroprevalencia en el cribado de las mujeres embarazadas, tal como se expresa en la tabla 9.4. Junto a ello, se han descrito ya varios casos de infección congénita en niños nacidos en España, cinco niños nacidos en maternidades catalanas, uno en Madrid y otro en Murcia. Esta cifra es, sin embargo, muy distante de la cifra real dado que, salvo unas pocas excepciones, la mayoría de los recién nacidos infectados son asintomáticos. Según Schmunis y Yadon en el año 2007 nacieron en España 1.849 niños de madres procedentes de países endémicos, de los cuales se estima que entre 24 y 92 resultaron infectados. Los estudios realizados en Barcelona, teniendo en cuenta los datos obtenidos de seroprevalencia en las madres procedentes de países endémicos y estimando una tasa de transmisión vertical del 7,3 %, de acuerdo también con los resultados obtenidos en dos maternidades de esta ciudad, concluyen que puede estimarse que en España, durante la próxima década nacerán unos 1.750 niños infectados por *T. cruzi*. En este sentido, algunas comunidades autónomas españolas están implementando protocolos de actuación para el control de la enfermedad de Chagas congénita.

Tabla 9.4. **Seropositividad al antígeno de *Trypanosoma cruzi* en mujeres gestantes. Resultados de diversos estudios realizados en maternidades españolas**

País de Origen	Barcelona (n= 1.350)	Elche (n=229)	Valencia (n=624)	Valencia (n=383)
Argentina	2(2)	0	0	5(10)
Bolivia	42(28)	2(13)	24(18)	20(26)
Brasil	0	0	0	2(25)
Colombia	1(<1)	0	2(1)	3(5)
Chile	0	0	-	1(12)
Ecuador	0	0	3(2)	2(2)
El Salvador	0	0	-	0
Honduras	0	-	-	1(14)
México	0	0	-	0
Nicaragua	0	-	-	1(30)
Panamá	0	-	-	0
Paraguay	0	2(12)	-	1(17)
Perú	1(<1)	0	0	1(10)
Uruguay	0	0	0	0
Venezuela	0	0	0	0
Total	46(3)	4(2)	29(5)	37(10)

N: número de mujeres analizadas

Número de mujeres seropositivas (prevalencia - %-en la población analizada

Tomada de Portus y cols. (121)

Casos de infección congénita descritos en España:

- Riera y cols. (127) en 2006 publicaron un caso de infección congénita en Europa (España, Barcelona) de una mujer procedente de Bolivia que en el momento del parto informó de su condición (infectada a los seis años y tratada con 22). El niño diagnosticado por diagnóstico directo, cultivo y PCR se trató con benznidazol y a los cuatro y siete meses no presentaba anticuerpos.

- Muñoz y cols. en 2004 describieron el caso (104) de una mujer procedente de Argentina y que había pasado largos periodos en áreas rurales y endémicas de su país, habiendo sido diagnosticada allí de enfermedad de Chagas acudió a la consulta para revisar el estado de su infección y excluir cualquier desorden cardiaco. Como tenía un niño de dos años nacido en España también se le realizaron pruebas al niño. Madre e hijo presentaron anticuerpos frente a *T. cruzi* y un PCR positiva. El diagnóstico directo o el cultivo fueron negativos. Se les trató a ambos y al cabo de seis meses la PCR era negativa.

Se han realizado diversos estudios para conocer seroprevalencias en este sector de la población:

- Paricio y cols. (113) entre 2005 y 2007 realizaron un estudio descriptivo transversal con un muestreo consecutivo de las mujeres latinoamericanas asistidas en las maternidades de tres hospitales comarcales públicos de la Comunidad Valenciana. A un total de 624 mujeres latinoamericanas embarazadas se les practicó una prueba de inmunoprecipitación para detectar anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*. A las madres positivas se les realizó inmunofluorescencia indirecta y reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y a sus hijos, microhematocrito y PCR en el período neonatal e inmunoprecipitación a partir de los siete meses de vida. Un total de 29 mujeres (4,8 %; intervalo de confianza [IC] del 95 %: 3,1-6,3) eran seropositivas, todas asintomáticas y con PCR negativa. Ninguno de sus hijos resultó positivo en las pruebas realizadas. Las mujeres bolivianas fueron las más frecuentemente afectadas: 24 de 137 (17,5 %; IC 95 %: 11,2 a 23,9).

Tabla 9.5. **Total de madres analizadas y positividad en el test de inmunoprecipitación e inmunofluorescencia indirecta por país de origen**

País de origen	Número de madres analizadas	Madres con test de Chagas positivo	
		N	% (IC 95 %)
Ecuador	195	3	1,5 (0-3,3)
Colombia	131	2	1,5 (0-3,6)
Bolivia	137	24	17,5 (11,2-23,9)
Argentina	60	0	-
Uruguay	26	0	-
Venezuela	18	0	-
Brasil	17	0	-
Perú	9	0	-
Otros*	31	1	-
Total	624	29	4,7 (3,0-6,3)

* Cuba 7, Chile 6, Paraguay 6, El Salvador 5, Honduras 3, México 2, Panamá 1, República Dominicana 1.

IC 95 %: intervalo de confianza del 95 %.

Tomada de Paricio y cols. (113)

De estos datos parece deducirse la rentabilidad del cribado de Chagas en las mujeres bolivianas, ecuatorianas y colombianas, pero, tal y como los autores sugieren, es preciso realizar estudios epidemiológicos más amplios que incluyan mayor población procedente de otros países menos representados en este trabajo para conocer mejor el alcance del problema, lo que permitirá que nuestras autoridades sanitarias puedan establecer el coste-beneficio de un programa de detección universal o selectivo, por países, en las mujeres procedentes de Latinoamérica y que obstetras y pediatras consigan realizar los mejores protocolos de detección y tratamiento.

- Muñoz y cols. (102) en dos hospitales de Barcelona realizaron desde Marzo de 2005 a septiembre de 2007 un estudio prospectivo de mujeres embarazadas originarias de zonas endémicas de enfermedad de Chagas. El diagnóstico serológico se realizó a 1.350 mujeres con una tasa de seroprevalencia de 3,4 % (IC 95 %, 2,43 %-4,73 %) y el 7,3 % (IC 95 %, 1,5 %-19,9 %) de los recién nacidos infectados (Valores parecidos a los encontrados en otros estudios). Las mujeres procedían de Ecuador (34 %), Perú (16 %), Bolivia (14 %), and Colombia (12 %). El 51 % de las estudiadas presentaron una PCR positiva en sangre (valor más elevado que en otras series).
- Orti y cols. (110) estudiaron a 383 mujeres gestantes inmigrantes de toda América Latina, residentes en el área de influencia del Hospital Clínico Universitario de Valencia (Departamento 5) que fueron atendidas en la consulta de ginecología este hospital entre febrero de 2005 y junio de 2007. Para la detección de anticuerpos se utilizó como cribado la técnica de inmunoprecipitación confirmada mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI). El 9,7 % de las mujeres presentaban anticuerpos específicos del parásito. De ellas el 54,1 % eran bolivianas, el 13,5 % argentinas y 8,1 % colombianas.

La seroprevalencia de portadoras de la enfermedad según el país de origen se muestra en la Tabla 9.5. Las mujeres padecían diferentes afecciones reflejadas en la Tabla 9.6. Como se observa en la Tabla 9.7. los antecedentes de transfusión y la residencia previa en casas de adobe, perdieron su significación estadística, sugiriendo su comportamiento como factores de confusión. Igualmente ocurrió con la presencia de sintomatología cardíaca y gastrointestinal, aunque en este último caso el riesgo relativo resultó próximo a la significación estadística ($p=0,056$).

Tabla 9.6. **Distribución de la población estudiada y seroprevalencia de portadoras de la enfermedad**

País origen	Mujeres estudiadas	Serología positiva		Prevalencia %
		N	%	
Argentina	50	5	13,5	10,0
Bolivia	77	20	54,1	26,0
Brasil	8	2	5,4	25,0
Colombia	63	3	8,1	4,8
Chile	8	1	2,7	12,5
Ecuador	118	2	5,4	1,7
El Salvador	2	0	0	0
Guatemala	2	0	0	0
Honduras	7	1	2,7	14,3
México	5	0	0	0
Nicaragua	5	1	2,7	20,0
Panamá	1	0	0	0
Paraguay	6	1	2,7	16,7
Perú	10	1	2,7	10,0
Uruguay	12	0	0	0
Venezuela	8	0	0	0
Total	383	37	100	9,7

Tomada de Orti y cols. (110)

Tabla 9.7. Afecciones que padecían las mujeres gestantes estudiadas

Sintomatología	Pacientes afectados		N	Serología positiva	
	N	%		Seroprevalencia (%)	p (ji2)
Alergia	65	17,0	2	3,1	0,049
Asma	17	4,4	1	5,9	0,590
Artralgias	43	11,2	2	4,7	0,238
Cardiopatía	15	3,9	6	40,0	0,000
Diabetes	15	3,9	0	0,0	0,196
Gastrointestinales	38	9,9	12	31,6	0,000
Hipotensión	46	12,0	8	17,4	0,058
Otras	7	1,8	1	14,3	0,676

Tomada de Orti y cols. (110)

Tabla 9.8. Riesgos relativos asociados a las variables incluidas en el modelo de regresión logística

	p	Exp (B)	IC 95,0 % para EXP (B)	
			Inferior	Superior
Edad	0,021	0,853	0,745	0,976
Antecedentes Familiares	0,000	33,717	8,327	136,528
Tipo de vivienda (adobe)	0,100	0,045	0,001	1,811
Transfusión previa	0,110	2,448	0,816	7,349
Alergia	0,101	0,197	0,028	1,375
Cardiopatía	0,146	5,314	0,559	50,549
Gastrointestinal	0,056	3,621	0,966	13.5770,223
Hipotensión	0,223	2,490	0,574	10,805
Hábitat (rural)	0,22	72,471	1,842	2.850,696
País referencia (Ecuador)	0,431	-	-	-
País (Bolivia)	0,65	7,629	0,882	65,999
País (Colombia)	0,392	2,967	0,246	35,792
País (Argentina)	0,364	3,147	0,265	37,346
País (Países con baja prevalencia*)	0,191	7,444	0,366	151,312
País (Países con alta prevalencia)	0,253	3,028	0,294	31,211
Constante	0,137	0,061	-	-

* Países con prevalencia observada menor del 10%

Tomada de Orti y cols. (110)

81,1 % vivieron en zonas rurales y casas de adobe, el 89,2 % tenía antecedentes familiares y el 100 % conocían la enfermedad y el vector. La seroconversión en un niño de ocho meses supuso una transmisión vertical del 2,7 % y una incidencia en mujeres procedentes de zona endémica del 0,3 %.

- En Elche, Alicante, Ramos y cols. realizaron un estudio (122) serológico en mujeres gestantes latinoamericanas que acudieron a la consulta de fisiopatología fetal de un hospital desde enero de

2006 hasta junio de 2007. Se estudiaron 229 gestantes, cuatro fueron positivas frente a *T. cruzi* (1,75 %; intervalo de confianza [IC] del 95 %, 0,68–4,4): dos de Bolivia (13,33 %; IC del 95 %, 3,73–37,88) y dos de Paraguay (11,76 %; IC del 95 %, 3,29–34,33). Los autores recomiendan el cribado serológico de esta infección en mujeres embarazadas que han residido en zonas de elevada prevalencia de la enfermedad.

- Durante dos años se ha estudiado la seroprevalencia de mujeres embarazadas en dos hospitales de Valencia. En uno de ellos con 268 cribados el 10,4 % resultaron positivas. En el otro hospital se hicieron 358 pruebas y el 9,8 % dieron positivas (112).
- En Madrid, Gonzalez-Granado y cols. realizaron un estudio (59) a las embarazadas bolivianas (periodo junio 2007-agosto 2008) para detectar los casos de transmisión vertical y sus características asociadas. Se estudiaron 230 embarazadas (59,2 % de Cochabamba, 28,6 % de Santa Cruz, 10,25 % de Sucre y 2 % de Beni) y a sus 230 hijos. El 60,6 % procedía de área rural y un 36,6 % han tenido algún familiar directo con Chagas (10 % de fallecidos). Un 18,6 % presentaron ICT positiva y se produjo un caso de enfermedad de Chagas de transmisión vertical (prevalencia 2,6 %).

Los resultados de todos estos estudios indican que el colectivo boliviano es el más afectado por la enfermedad de Chagas en España.

En todas estas publicaciones los autores avisan que debido al número creciente de inmigrantes latinoamericanas en España en edad fértil pueden aparecer más casos de enfermedad congénita. Para detectar los recién nacidos infectados y así poder tratarlos, recomiendan el cribado a toda madre con riesgo y el establecimiento de protocolos para el detectar la infección en el neonato (127).

Las dificultades y limitaciones de utilizar cifras estimadas son bien reconocidas pero presentan una visión de conjunto del riesgo potencial existente por la falta de diagnóstico de enfermedad de Chagas congénita. En respuesta a los cambios que representa la infección congénita por *T. cruzi*, se ha de hacer conscientes a las agencias reguladoras, al personal sanitario y a sus sociedades profesionales, así como a la comunidad latinoamericana, de los pros y contras de introducir un programa de cribado durante el embarazo y la detección de los recién nacidos infectados. Además, se recomienda que se realice el estudio para generar datos (críticos) de la prevalencia de la infección por *T. cruzi* en embarazadas provenientes de países endémicos y el desarrollo y validación de un cuestionario para el cribado maternal (166).

Estudios como el efectuado por Paricio et al. son importantes para sensibilizar y obligar al Sistema Nacional de Salud a afrontar este importante reto y a dar una respuesta acorde con esta realidad. En este trabajo se realizó el cribado de la enfermedad de Chagas en mujeres embarazadas de la Comunidad Valenciana, observándose una seroprevalencia de 4,64 %. Aunque no diagnosticaron ningún caso de transmisión vertical en esta serie, como se ha comentado ya se han detectado y publicado casos de Chagas congénito en España (52).

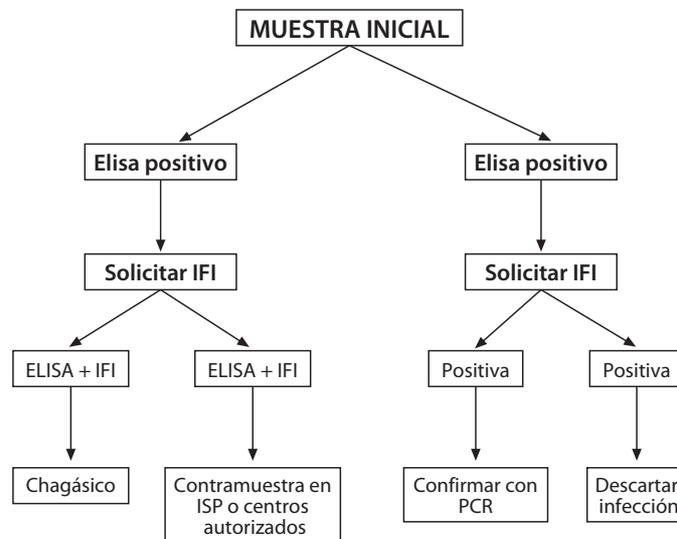
Ante los datos encontrados en los resultados obtenidos en la comunidad valenciana, la Dirección General de Salud Pública de la Comunidad Autónoma Valenciana introdujo en octubre de 2007 el cribado sistemático de Chagas en mujeres gestantes de origen latinoamericano (113).

10. REVISIÓN SOBRE LAS DISTINTAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS

10.1. INTRODUCCIÓN AL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Conocido el gran impacto de la enfermedad de Chagas, desde su inicio cobró gran importancia el conseguir un diagnóstico rápido y fiable. En todos los países endémicos se han realizado estudios sobre las mejores técnicas para obtener dicho fin, y como síntesis de todos estos trabajos reflejamos un resumen de la Parte V de la guía clínica (27) (consta de seis partes) elaborada por un comité de expertos convocados por el Ministerio de Salud de Chile durante el año 2006 (Anexo Bases Metodológicas).

En esta quinta parte de las Guías Clínicas de enfermedad de Chagas, se revisa el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi* en humanos, la interpretación de los resultados y un algoritmo de diagnóstico de laboratorio en inmunocompetentes. La enfermedad de Chagas se puede diagnosticar por medio de tres tipos de técnicas: *directas*, que permiten evidenciar la presencia del parásito en diferentes tipos de muestras; *indirectas*, que corresponden a la búsqueda de anticuerpos específicos contra antígenos de *T. cruzi* y *moleculares*, basadas en la detección del material genético del parásito. Las técnicas directas se emplean, de preferencia, en la fase aguda de la enfermedad, donde es posible detectar al parásito circulando en el torrente sanguíneo de la persona infectada. Estas técnicas no requieren ser confirmadas por otros métodos. Para la fase crónica indeterminada y para la fase sintomática es recomendado el uso de las técnicas indirectas; generalmente se emplean técnicas de inmunoensayo (ELISA) que detectan anticuerpos de tipo IgG contra antígenos de *T. cruzi*. Por la posibilidad de reacciones falsas positivas, la recomendación es que los resultados positivos o indeterminados sean confirmados con, por lo menos, otra técnica diferente (inmunofluorescencia indirecta o hemaglutinación indirecta). En Chile la confirmación es realizada por el Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto de Salud Pública y los centros autorizados por éste. Los métodos moleculares pueden ser empleados para el diagnóstico en fase aguda o crónica, teniendo mayor rendimiento en la primera, y su uso es recomendado principalmente como apoyo para la pesquisa de hijos de madres infectadas en la transmisión transplacentaria de la infección donde el diagnóstico precoz aumenta las posibilidades de cura del niño y es un buen marcador para evaluar el éxito del tratamiento.



Control de la enfermedad de Chagas
Tomado de Comité de Parasitología. Parte V (27)

Figura 10.1. Algoritmo para el diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas en pacientes inmunocompetentes

De igual modo, la OMS ha editado un curso virtual de capacitación médica, manejo y tratamiento de la enfermedad de Chagas, OPS y MSF (32), basado en el segundo informe del comité de expertos de la OMS, 2002 (Anexo Bases Metodológicas). En él se describen los diferentes métodos existentes para el diagnóstico de fase aguda y crónica así como sus ventajas y desventajas. También se dan recomendaciones para la realización del diagnóstico de la enfermedad de Chagas. En la tabla 10.1 se resumen estas recomendaciones.

Tabla 10.1. Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas

Objetivos	Métodos serológicos y moleculares				
	Convencionales			No convencionales	
	ELISA	IFI	HAI	Antígenos recombinaados	PCR
Demostración serológica (se recomiendan dos pruebas)	X	X	X	X	–
Detección en bancos de sangre (se recomienda una prueba)	X	–	–	–	–
Transmisión transplacentaria y perinatal (se recomiendan dos pruebas)	X	X	–	X	X
Encuestas epidemiológicas (se recomienda una prueba)	X	X	–	–	–
Seguimiento del tratamiento (se recomiendan dos pruebas)	X	X	X	–	X

Tomada del curso virtual. Comité de experto 2002 (32)

Ningún ensayo por si mismo tiene suficiente sensibilidad y especificidad; por ello, se usan en paralelo dos pruebas basadas en diferentes antígenos o técnicas distintas para aumentar la exactitud del diagnóstico. Cuando los resultados son discordantes, un tercer ensayo se usa para confirmar o refutar el diagnóstico, o también se puede requerir una segunda muestra (suero). La sensibilidad de cada uno de las pruebas varía entre 96,6 % y 100 % y su especificidad entre 87 % y 98,9 %.

Para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi* se pueden adoptar los siguientes procedimientos, distintos según la situación (32):

- Para confirmar una sospecha clínica se deben utilizar dos pruebas convencionales. Si sus resultados no coinciden, se debe realizar una tercera prueba, convencional o no convencional.
- Para la detección en bancos de sangre se recomienda la prueba de ELISA.
- En caso de transmisión congénita se le debe hacer una prueba convencional a la madre y, si el resultado es positivo, confirmarlo mediante otra prueba convencional. En hijos de madres seropositivas se debe realizar una prueba convencional de IgG ocho meses después del parto. Las pruebas parasitológicas son deseables, siempre que se puedan realizar.
- En las encuestas epidemiológicas se debe utilizar una sola prueba convencional. Para ello se puede utilizar suero, plasma o sangre, recogidos en papel de filtro.
- Para el seguimiento del tratamiento se recomiendan dos pruebas serológicas. En los centros especializados se pueden hacer pruebas de reacción en cadena de la polimerasa para confirmar la parasitemia.

Ante el gran número de técnicas y casas comerciales existentes para la realización del diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas, hicimos una revisión de los datos que aparecen en la literatura para elegir los métodos más adecuados.

10.1.1. Diagnóstico indirecto

Para la realización del diagnóstico indirecto (determinación de anticuerpos) se han realizado diversos estudios que detallamos a continuación:

- a) Se desarrolló un test serológico rápido para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* (Chagas Stat Pak) utilizando proteínas recombinantes en un ensayo inmunocromatográfico. De este formato en «cassette» Luquetti y cols. (89) realizaron un estudio multicéntrico evaluándose primero a ciegas con un panel de 393 sueros. Se realizó una segunda evaluación con 352 sueros de cuatro países Latinoamericanos testados independientemente en cada país, mostrando una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 98,6 %. Se realizó una tercera comparación utilizando sueros, plasmas, eluidos de papel de filtro y sueros conservados en 50 % de glicerol, obteniéndose idénticos resultados que los obtenidos con suero. Este test rápido (15 minutos) utiliza un dispositivo por muestra, no requiere refrigeración ni una estructura de laboratorio ni destreza especial para realizarlo, acepta diferentes tipos de muestras y puede almacenarse durante largos periodos de tiempo para la obtención del resultado. Todas estas ventajas junto con la alta sensibilidad y especificidad demostrada, le hacen un test apropiado para estudios de campo, laboratorios pequeños y emergencias en los bancos de sangre en las zonas endémicas rurales.

La siguiente tabla muestra los resultados de la evaluación del Stat Pak test.

Tabla 10.2. **Reactividad del Stat-Pak test con sueros de pacientes chagásicos, individuos sanos y pacientes con otras enfermedades**

Estado de infección	Nº de individuos	Casos positivos con	
		Stat-Pak ^a	SC ^b
Pacientes Chagásicos	200	197	200
Individuos sanos	150	6	0
Pacientes con otras enfermedades			
Leishmaniasis visceral	9	2	9
Leishmaniasis muco-cutánea	10	0	1
SIDA	3	0	0
Hepatitis B	11	2	0
Enfermedades autoinmunes	10	0	0
Total de otras enfermedades	43	4	10

^a Stat-Pak: Sensibilidad= 98,5 % y Especificidad= 94,8 %

^b SC: serología convencional determinada mediante IFI HAI y ELISA

Tomada de Luquetti y cols. (89)

- b) En Bolivia Chipaux y cols. (24) evaluaron el Stat-Pak test comparándose sus resultados con los de un ELISA que utilizaba antígenos recombinantes. Se testaron 995 individuos de todas las edades en una población rural del sur de Bolivia, 495 mujeres de la misma población y 1.030 mujeres parturientas de un área urbana del este de Bolivia. La sensibilidad del test para toda la población estudiada fue de 94,73 %; la especificidad 97,33 %. Sin embargo, la especificidad defirió significativamente entre las mujeres embarazadas rurales y las parturientas urbanas, lo

que puede atribuirse a las distintas cepas del parásito o a la diferente prevalencia del Chagas en esas áreas. Los autores concluyen que el test es de uso sencillo, fiable, relativamente barato y su realización es compatible con el uso en el campo para realizar grandes cribados.

En la siguiente tabla se detalla la sensibilidad y especificidad del test según la edad:

Tabla 10.3. Evaluación del Chagas Stat-Pak en Bolivia

Edad (años)	N	Sensibilidad	Especificidad	Coefficiente kappa
1-10	333	92 % [81,2–96,9]	99,7 % [98–99,9]	0,94 [0,83–1,05]
11-20	230	89,2 % [81,7–93,9]	99,2 % [95,7–99,9]	0,89 [0,77–1,02]
21-49	300	92,1 % [87,7–95]	98,8 % [93,7–99,8]	0,86 [0,75–0,97]
>50	132	94,8 % [89,2–97,6]	93,8 % [71,7–98,9]	0,78 [0,61–0,95]

Tomada de Chippaux y cols. (24)

- c) Se evaluaron test rápidos para el diagnóstico de la infección debido a la importancia que tiene un diagnóstico rápido para el tratamiento y para prevenir la transmisión no vectorial. Verani y cols. (159) evaluaron las técnicas Stat-Pak y Trypanosoma Detect rapid en muestras de Bolivia y Perú. Las muestras positivas mediante tres ensayos convencionales (IFI, HAI, ELISA) se confirmaron como positivas; muestras negativas por dos a más ensayos se confirmaron como negativas. En las muestras boliviana, Stat-Pak y Trypanosoma Detect tuvieron una sensibilidad de 87,5 % y 90,7 %, respectivamente; ambas mostraron una especificidad del 100 %. La sensibilidad en la población peruana fue mucho más baja: 26,6 %-33 % (Stat-Pak) y 54,3 %-55,2 % (Trypanosoma Detect); en ambas la especificidad fue >98 %. Incluso en las muestras bolivianas estas sensibilidades son inadecuadas como único test de cribado. La baja sensibilidad en las muestras peruanas puede deberse a las diferencias entre las cepas del parásito. Los test de diagnóstico rápido han de probarse en cada lugar geográfico antes de su implantación como técnica de cribado.

Las siguientes tablas muestran los resultados en cada área estudiada.

Tabla 10.4. Realización de dos test rápidos en muestras de Santa Cruz, Bolivia^a

Serología convencional	Stat-Pak (Chembio)		Trypanosoma Detect (InBios)	
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Negativo	69	0	365	0
Positivo	3	21	14	137
Sensibilidad ^b	87,5 (67,6–97,3)		90,7 (84,9–94,8)	
Especificidad ^b	100 (94,8–100)		100 (99,0–100)	

^a ELISA basado en un lisado de *T. cruzi*, ELISA recombinante y RIPA se utilizaron para determinar el estatus final de las muestras

^b Expresado como porcentaje y IC 95 %

Tomado de Verani y cols. (159)

Tabla 10.5. Realización de dos test rápidos en muestras de Arequipa, Perú^a

Serología convencional	Stat-Pak (ChemBio)				Trypanosoma Detect (InBios)			
	Observador 1		Observador 2		Observador 1		Observador 2	
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Negativo	237	1	237	1	235	3	234	4
Positivo	69	25	65	32	43	50	44	53
Sensibilidad ^b	26,6 (18,0–36,7)		33,0 (23,8–43,3)		53,8 (43,1–64,2)		54,6 (44,2–64,8)	
Especificidad ^b	99,6 (97,7–100)		99,6 (97,7–100)		98,7 (96,4–99,7)		98,3 (95,7–99,5)	

Cada test lo leyeron dos observadores independientes

^a ELISA basado en lisado de *T. cruzi*, ELISA recombinante y RIPA se utilizaron para determinar el estatus final de las muestras

^b Expresado como porcentaje y IC 95 %

Tomado de Verani y cols. (159)

- d) Con el fin de evaluar la utilidad práctica, y la sensibilidad y especificidad del test rápido Dipstick test *Trypanosoma cruzi* Detect, (Inbios, Seattle, WA) Lorca y cols. (87) estudiaron 284 sueros humanos de los cuales 145 correspondieron a casos probados de infección chagásica y 139 a individuos sanos de zonas no endémicas. Todos ellos analizados previamente con las Técnicas de ELISA y de Inmunofluorescencia Indirecta para la detección de anticuerpos IgG anti *T. cruzi*. Además, se estudiaron 56 muestras serológicamente negativas para enfermedad de Chagas pero que presentan otras patologías parasitarias y no parasitarias. El «test» rápido de INBIOS demostró una especificidad de 99,3 % al igual que la sensibilidad. Y una concordancia con el ELISA y la IFI de de 98,2 %. De acuerdo a estos resultados y a la facilidad de su ejecución, Dipstick test *T. cruzi* Detect (INBIOS) resulta ideal como tamiz para la vigilancia y los programas de intervención de la enfermedad de Chagas.

Tabla 10.6. Análisis de los resultados discordantes obtenido entre la serología convencional y la prueba rápida INBIOS *Trypanosoma cruzi*

IFI	ELISA	INBIOS
Positivo 1/20	Negativo	Negativo
Positivo 1/20	Negativo	Negativo
Negativo	Negativo	Positivo débil
Negativo	Negativo	Positivo
Negativo	Negativo	Positivo débil

Tomada de Lorca y cols. (87)

- e) Berrizbietia y cols. (12) desarrollaron tres enzimoimmunoensayos (EIA) para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, con formas fijadas de *Trypanosoma cruzi* utilizando 435 sueros de los siguientes grupos: venezolanos positivos por IFI (n=70); venezolanos sanos (n=85); canadienses sanos (n=166) y; personas con otras enfermedades parasitarias (n=114). Todos los ensayos demostraron una sensibilidad del 100 % y una especificidad razonable para amastigotes (97,6 %), epimastigotes (98,3 %) y tripomastigotes (99,3 %). El ensayo con tripomastigotes fijados era estable más de cuatro meses a 4 °C y a temperatura ambiente. Estos datos sugieren que EIA con tripomastigotes fijados puede ser un buen candidato para el cribado en bancos de sangre.

Tabla 10.7. Densidad Óptica (DO) y especificidad estimada por los grupos en los EIA basados en la fijación con formalina de amastigotes, epimastigotes o tripomastigotes

Grupo (n)	Media DO \pm DS (rango) ^a	% Especificidad en el punto de corte DO	
		0,20	0,40
Canadienses sanos (n=166)			
Amastigote	0,09 + 0,05 (0,025–0,45)	97,6	99,4
Epimastigote	0,09+0,065 (0,034–0,55)	92,8	99,4
Tripomastigote	0,07 + 0,03 (0,03–0,31)	99,4	100
Venezolanos sanos (n=85)			
Amastigote ^b	0,12 + 0,06 (0,055–0,25)	90	100
Epimastigote	0,121 + 0,04 (0,06–0,26)	95,3	100
Tripomastigote	0,108 + 0,03 (0,07–0,29)	97,65	100
Personas con otras enfermedades parasitarias (n=114)			
Amastigote	0,12 + 0,21 (-0,04–2,040)	65,8	94,7
Epimastigote	0,085 + 0,19 (-0,045–1,86)	75,4	96,5
Tripomastigote	0,07 + 0,17 (-0,03–1,64)	85,1	98,2
Venezolanos positivos (n=70);			
Amastigote	1,79 + 0,5 (0,832–2,77)		
Epimastigote	1,98 + 0,32 (1,143–2,62)		
Tripomastigote	1,65 + 0,42 (0,65–2,28)		

^a Valores expresados como Media + la derivación estándar (DS).

Los siguientes números de presuntos falsos positivos se producen utilizando un valor del punto de corte en DO (Densidad Óptica) de 0,40:

- Ensayo basado en amastigotes, cuatro personas con leishmaniasis cutánea, una con ascariosis, una con fasciolosis, y una sana
- Ensayo basado en tripomastigotes, una persona con leishmaniasis cutánea y una con esquistosomiasis
- Ensayo basado en epimastigotes, dos personas con leishmaniasis cutánea, dos con malaria y una sana

^b Sólo se probaron 10 sueros de venezolanos sanos en el ensayo basado en amastigotes

Tomada de Berrizbietia y cols. (12)

- f) Malan y cols. (90) compararon 3 ELISAs y una IFI disponibles en Estados Unidos para la detección de anticuerpos *anti-T. cruzi*. CeLLabs y Hemagen tuvieron una concordancia, sensibilidad y especificidad del 100 %. IVD Reserch tuvo 94,6 % de concordancia 100 % de sensibilidad y 93 % de especificidad.

Los resultados se muestran en las siguientes tablas:

Tabla 10.8. Concordancia, sensibilidad y especificidad de ensayo de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi* utilizando los puntos de corte recomendados por los fabricantes para cada ensayo

Test	Concordancia (%)	Sensibilidad (%)*	Especificidad (%)*
CeLLabs Chagas ELISA	100	100,0 (91–100)	100,0 (97–100)
Hemagen Chagas ELISA	100	100,0 (91–100)	100,0 (97–100)
IVD Research Chagas ELISA	94,6	100,0 (88–100)	93,0 (90–93)
MarDx Chagas IgG IFA	97,7	93,3 (84–96)	99,0 (96–100)

* Intervalo de confianza de 95 %. Tomada de Malan y cols. (90)

Tabla 10.9. **Número total de resultados discrepantes según enfermedad**

Enfermedad	Nº muestras	Nº total (%) de positivos				
		CeLLabs ELISA	Hemagen ELISA	IVD Research ELISA	MarDx IgG IFA	MarDx IgM IFA
Malaria	3	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (33)	0 (0)
Esquistosomiasis	5	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (20)	0 (0)
Leishmaniasis	2	2 (100)	2 (100)	1 (50)	2 (100)	0 (0)
Toxoplasmosis	10	0 (0)	0 (0)	1 (10)	2 (20)	0 (0)
Artritis reumatoide	10	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	0 (0)
Lupus eritematoso sistémico	10	0 (0)	3 (30)	1 (10)	1 (10)	0 (0)
Fiebre reumática	10	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	0 (0)

No se observó reacciones cruzadas en ninguno de los ensayos con los siguientes: *Cisticercosis* (n=7), *Strongyloides* (n=3), *Brucella* (n=3), *Toxocara* (n=2), *E. histolytica* (n=3), *Leptospira* (n=1), *Trichinella* (n=1), *Sifilis* (n=10), mononucleosis infecciosa (n=10).

Tomada de Malan y cols. (90)

- g) Entre agosto de 1998 y enero de 1999 Pirard y cols. (118) tomaron 400 muestras de un banco de sangre de Santa Cruz, Bolivia, para estimar la sensibilidad y especificidad, así como la efectividad de las estrategias de cribado. Se realizó a cada muestra una hemaglutinación indirecta (HAI), una inmunofluorescencia indirecta (IFI) y cuatro ELISAs (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). La sensibilidad de cada ensayo individual varió de 96,5 % al 100 % y la especificidad de 87 % a 98,9 %. La combinación de dos ensayos en paralelo, incluso con una prevalencia del 40 % sólo perdía una unidad de cada 10.000 cribadas. Con prevalencias del 5 %, sin embargo, se observaban entre 75 y 120 positivos por cada 1.000 unidades cribadas. La realización en paralelo de IFI más ELISA o HAI más IFI es más coste efectiva que realizar únicamente HAI, sólo ELISA o únicamente IFI, independientemente de la prevalencia. Realizar el cribado de los donantes de sangre con una única técnica resulta inaceptable debido al elevado número de falsos negativos en áreas altamente endémicas o en grupos de población de riesgo. El incluir una segunda prueba es indispensable, pero la elección de la técnica dependerá de la experiencia y disponibilidad de cada laboratorio.
- h) En 2008 Furuchó y cols. (48) evaluaron la respuesta humoral y celular mediante Trypomastigote Excreted-Secreted Antigens (TESA); blot es un buen método confirmatorio para la enfermedad de Chagas en resultados indeterminados por métodos serológicos convencionales (IFI, HAI), ELISA) pero la linfoproliferación aunque sugiere el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en ausencia de anticuerpos, los datos/resultados del estudio no apoyan su utilización como técnica confirmatoria.
- i) De Moraes y cols. (34) compararon las reacciones cruzadas entre dos especies de Tripanosomas utilizando epimastigotes y la forma relevante patógena, tripomastigotes, mediante IFI e Inmunoblotting (IB). Los resultados revelan un importante descenso de reacciones cruzadas cuando se utilizan tripomastigotes de *T. rangeli* en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas basándose en IFI. Los resultados del IB utilizando suero de pacientes en fase aguda, indeterminada y crónica con síntomas cardíacos, o digestivos muestran resultados parecidos pero no idénticos perfiles antigénicos.
- j) Para establecer un panel de muestras amplio y bien caracterizado, los bancos de sangre de Latinoamérica y la Organización Mundial de la Salud (OMS) realizaron un estudio publicado por Otani y cols. (111) de muestras recogidas en 2000. Se enviaron un total de 437 muestras procedentes de 10 países a un centro colaborador de la OMS y se utilizaron para evaluar 19 ensayos de cribado durante 2001 y 2005.

Las muestras eran consideradas positivas o negativas basándose en el resultado concordante de tres de los cuatro ensayos confirmatorios (IFI, Western blot, RIPA e inmunoblot recombinante). El 39 % (168 muestras) fue positivo, el 61 % negativo (262) y siete muestras (2 %) se las identificó como indeterminadas y se las eliminó del estudio. La sensibilidad y especificidad varió considerablemente: 88 a 100 % y 60 a 100 % respectivamente. En general, los EIAs funcionaron mejor que los otros ensayos de cribado. Cuatro EIAs tuvieron ambos parámetros con valores superiores a 99 %. De los cuatro ensayos confirmatorios sólo RIPA coincidió al 100 % con el estado serológico de las muestras. Debido a los valores que presentaban estos cuatro EIAs para la enfermedad de Chagas, son probablemente lo suficientemente elevados como para justificar su uso como ensayo único de cribado en las donaciones de sangre. Los datos sugieren que la mayor parte de las HAI no deben usarse para el cribado de los donantes de sangre y que RIPA debiera ser considerado como el patrón oro para la evaluación de los otros ensayos.

Se utilizaron 18 ensayos de cribado: 11 EIAs, 5 HAI, y dos aglutinaciones de partículas (AP). Según los resultados obtenidos con estos ensayos de cribado las muestras se agruparon en tres grupos: Grupo A, muestras reactivas con tres o menos ensayo (n=257); Grupo B, muestras reactivas con más pero menos de 15 ensayos (n= 18); y Grupo C, muestras reactivas con más de 15 ensayos (n=162). Los resultados de estos grupos en los ensayos confirmatorios se muestran en la tabla 10.10.

Tabla 10.10. **Resultados obtenidos de 437 muestras en cuatro ensayos confirmatorios, agrupados (A, B y C) por el número de ensayos de cribado positivos**

Grupo	Número de resultados															Total
	IFI			IB			WB			RIPA			Estatus final			
	+	I	-	+	I	-	+	I	-	+	I	-	+	i	-	
A	0	2	255	0	1	259	5	0	252	0	0	257	0	0	257	257
B	5	6	7	7	2	9	15	0	3	7	0	11	6	7	5	18
C	161	1	0	160	1	1	162	0	0	162	0	0	162	0	0	162

+ positivo, I indeterminado, - negativo

Tomada de Otani y cols. (111)

Los siete resultados indeterminados pertenecían al grupo B y con los ensayos confirmatorios se obtuvieron los resultados que figuran en la tabla 10.11.

Tabla 10.11. **Resultados obtenidos para las siete muestras excluidas en los cuatro ensayos confirmatorios**

País de recogida	Nº de ensayos positivos	IFI (título)	IB	WB	RIPA	Interpretación final
Bolivia	6	1/40	Neg	Pos	Neg	Ind
Argentina	6	Ind	Neg	Pos	Neg	Ind
Bolivia	9	Ind	Neg	Pos	Neg	Ind
Argentina	10	Neg	Pos	Pos	Neg	Ind
Argentina	12	Neg	Pos	Pos	Neg	Ind
Paraguay	11	Ind	Ind	Pos	Pos	Ind
Argentina	13	Ind	Ind	Pos	Neg	Ind

Pos- positivo, Ind- indeterminado, Neg- negativo

Tomada de Otani y cols. (111)

El cálculo de las sensibilidades y especificidades de cada método con IC de 95 % se muestran en la tabla 10.12.

Tabla 10.12. **Sensibilidad, especificidad e IC del 95 % para cada uno de los 19 ensayos evaluados comparados con el estatus final serológico**

Ensayo	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC95 %)	Compañía	País
Ensayos EIA				
HBK 401 Hemobio Chagas	100 (97,8-100)	99,62 (97,9-100)	Embrabio	Brasil
Chagas ELISA	97,62 (94,0-99,3)	97,71 (95,1-99,2)	Ebram	Brasil
Chagatek ELISA	99,40 (96,7-100)	99,24 (97,3-99,9)	Laboratorio Lemos	Argentina
Premier Chagas IgG ELISA Test	94,04 (89,3-97,1)	100 (98,6-100)	Meridian Diagnostics	EEUU
Test ELISA para Chagas	99,40 (91,2-98,1)	99,62 (97,9-100)	BIOSChile	Chile
Bioeliscruzi	98,21 (94,9-99,6)	99,24 (97,3-99,9)	Biolab-Mérieux	Brasil
Abbott Chagas Anticorpos EIA	99,40 (96,2-100)	98,09 (95,6-99,4)	Abbott Laboratories	EEUU
Ensayos EIA				
Chagas test IICS, ELISA y	97,02 (93,2-99,0)	99,24 (97,3-99,9)	IICS Univ de Asunción	Paraguay
Chagatest ELISA	98,81 (95,8-99,9)	99,62 (97,9-100)	Wiener lab	Argentina
Bioelisa Chagas	100 (97,8-100)	99,24 (97,3-99,9)	Biokit	España
Chagas Hemagen	100 (97,8-100)	96,56 (93,6-98,4)	Hemagen Diagnósticos	EEUU
Ensayos de Hemaglutinación				
Chagas HAI Imunoserum	97,62 (94,0-99,3)	78,62 (77,2-83,4)	Polichaco	Argentina
Teste Chagas-HAI	88,09 (82,2-92,6)	59,92 (53,7-65,9)	Ebram	Brasil
Imuno-HAI Chagas	100 (97,2-100)	95,80 (92,6-97,9)	WAMA	Brasil
Chagas Hemagen HA	92,26 (87,1-95,8)	89,31 (84,9-92,8)	Hemagen Diagnósticos	EEUU
Hemacruzi	99,40 (96,7-100)	97,33 (94,6-98,9)	Biolab-Mérieux	Brasil
Ensayos AP				
Serodia-Chagas n	100 (97,2-100)	97,70 (95,1-99,2)	Fujirebio	Japón
ID-Chagas antibody test	97,02 (93,2-99,0)	99,62 (97,9-100)	DiaMed-ID	Suiza
Pruebas rápidas				
Chagas Stat-Pak*	94,08 (89,1-97,3)	95,75 (92,1-98,0)	ChemBio Diagnostic Systems	EEUU
Ensayos confirmatorios				
RIPA	100 (97,8-100)	100 (98,6-100)	University of Iowa	EEUU
WB	100 (97,8-100)	97,3 (94,6-98,9)	bioMérieux	Brasil
IB	98,2 (94,9-99,6)	99,6 (97,9-100)	Innogenetics	Belgica
IF	98,2 (94,9-99,6)	98,0 (96,7-99,8)	bioMérieux	Brasil

* Solo se pudieron analizar 152 muestras positivas y 212 negativas, las muestras positivas que faltan pertenecen al Grupo C. Si el ensayo determinase correctamente las muestras, la sensibilidad y especificidad aumentaría a 94,60 % (90,1-97,5) y 96,6 % (93,6-98,4), respectivamente.

Tomada de Otani y cols. (111)

Ya en nuestro país también Flores-Chávez y cols. realizaron un estudio (43) para: i) comparar 10 técnicas de determinación de anticuerpos anti-*T. cruzi*; ii) evaluar su reactividad cruzada frente a enfermedades relacionadas, y iii) valorar el enzoinmunoanálisis (ELISA)-rk39 y la inmunofluorescencia indirecta (IFI)-*Leishmania* para el diagnóstico diferencial de la leishmaniasis por *Leishmania infantum*. Se analizaron 223 sueros: 40 caracterizados por la empresa Qpanel y 183 procedentes de la seroteca del Servicio de Parasitología, Centro Nacional de Microbiología (chagásicos=66, sanos=97, leishmaniasis visceral=30 y malaria=30). Las pruebas utilizadas fueron IFI y ELISA casero («in house»), 5 ELISA comerciales (Certest/Abbott Laboratories, BiosChile; Ortho® Clinical Diagnostics; BLK Diagnostic; bioMérieux, y Biokit), la prueba de aglutinación en gel y dos pruebas inmunocromatográficas (Operon y CTK Biotech). Los últimos cuatro ensayos utilizaban antígenos recombinantes (pruebas no convencionales). La IFI y los ensayos de ELISA presentaron una sensibilidad entre el 97 % y el 100 %. Las pruebas inmunocromatográficas presentaron menor sensibilidad (92–96 %). Todas las pruebas no convencionales presentaron menor número de reacciones cruzadas. El ELISA-rk39-*Leishmania* no presentó reactividad cruzada con los sueros chagásicos. Estos resultados confirman los datos obtenidos por otros autores. La sensibilidad de los ELISAs es superior con respecto al resto de las pruebas, por lo que estas técnicas serían las más adecuadas para realizar el cribado serológico de la infección por *T. cruzi*. Una aproximación adecuada es la combinación de una prueba que utilice antígeno total con otra basada en antígenos recombinantes o péptidos sintéticos.

Tabla 10.13. Sensibilidad y especificidad de las pruebas de detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*

	Chagásicos Nº positivos (total sueros)	Sensibilidad (IC del 95 %)	No chagási- cos nº posi- tivos (total sueros)	Especificidad 1 ^a (IC del 95 %)	Otras enfermedades nº positivos (total sueros)	Especificidad 2 ^b (IC del 95 %)
IFI-CNM	65(66)	98,5(94,8–100)	0(97)	100(99,5–100)	23 (60)	85,4 (79,5–91,2)
ELISA-CNM	66(66)	100(99,2–100)	0(97)	100(99,5–100)	18 (60)	88,5 (83,2–93,8)
Certest	66(66)	100(99,2–100)	0(97)	100(99,5–100)	25 (60)	84,1 (78,0–90,1)
Ortho	66(66)	100(99,2–100)	0(97)	100(99,5–100)	18 (60)	88,5 (83,2–93,8)
BLK	41(42)	97,6(91,8–100)	0(74)	100(99,3–100)	13 (60)	90,3 (84,9–95,7)
bioMérieux	66(66)	98,5(94,8–100)	0(97)	100(99,5–100)	9 (60)	94,3 (90,3–98,2)
Biokit	66(66)	100(99,2–100)	1(97)	99(96,4–100)	7 (60)	94,9 (91,2–98,7)
ID-PaGIA2	61(66)	92,4(85,3–99,6)	1(97)	99(96,4–100)	1 (60)	98,7 (96,7–100)
ID-PaGIA3	65(66)	98,5(94,8–100)	2(97)	97,9(94,6–100)	2 (60)	98,1 (95,6–100)
ICT Operon	61(66)	92,4(85,2–99,6)	2(97)	97,9(94,6–100)	10 (60)	92,4 (85,3–99,6)
ICT CTK	63(66)	95,5(89,7–100)	3(97)	96,9(93–100)	9 (60)	93 (88,7–97,3)

CNM: Centro Nacional de Microbiología; ELISA: enzoinmunoanálisis; ICT: prueba inmunocromatográfica (*immunochromatographic test*); ID-PaGIA2: prueba de aglutinación en gel, versión con 2 péptidos; ID-PaGIA3: prueba de aglutinación en gel, versión con 3 péptidos; IC: intervalo de confianza; IFI: inmunofluorescencia indirecta

^a Especificidad calculada a partir de los datos de individuos no chagásicos (controles sanos)

^b Especificidad calculada teniendo en cuenta los resultados de todos los individuos no chagásicos de todos los paneles (controles sanos, leishmaniasis y malaria). Tomada de Flores-Chavez (43)

Ante los resultados de todos estos estudios decidimos realizar en nuestro estudio dos técnicas diferentes ELISA con buenos resultados de sensibilidad y especificidad (90 y 43) y como técnica confirmatoria IFI, también con buena sensibilidad y especificidad (111 y 43) puesto que la utilización de RIPA no es una técnica que se realice en nuestro laboratorio de serología y no se tiene ninguna experiencia con ella. En la elección de ELISA se tuvo en cuenta que la FDA había aprobado el EIA de Ortho para el cribado de donantes de sangre por sus resultados (150) y decidimos realizar también una técnica no convencional con péptidos recombinantes para evitar reacciones cruzadas con otros microorganismos.

El test aprobado por la FDA para el cribado de donantes de sangre utiliza un lisado del parásito con una sensibilidad del 100 % en los pacientes chagásicos y una especificidad del 99,9997 % en los donantes de sangre según la FDA. Actualmente esto representa el test de cribado para donantes con el mayor grado de especificidad (11).

Al utilizar estas tres técnicas conocíamos desde un principio que tenían unas limitaciones:

- ELISA de DIA.PRO:
 - Los falsos positivos repetidos, no confirmados por Western Blot o técnicas de confirmación similares, se producen en menos del 0,1 % en la población normal.
 - Las muestras congeladas contienen fibrina y agregados después de la descongelación y se han observado algunos falsos resultados en estas muestras.
- ELISA de ORTHO:
 - Como ORTHO *T. cruzi* ELISA Test System ha sido diseñado para analizar unidades individuales de sangre o plasma, la mayoría de los datos relativos a su interpretación proceden del análisis de muestras individuales.
 - ORTHO *T. cruzi* ELISA Test System detecta anticuerpos frente a *T. cruzi* en sangre y, por tanto, es útil en el cribado de sangre y plasma donados para transfusión y posterior elaboración, para evaluar pacientes con signos y síntomas de la enfermedad de Chagas y para establecer una infección previa con *T. cruzi*. Se recomienda investigar las muestras repetidamente reactivas con pruebas suplementarias más específicas. Deberá ofrecerse asesoría y evaluación médica adecuadas a todos aquellos individuos en quienes se confirme un resultado positivo para anticuerpos frente a *T. cruzi*, que deberá incluir confirmación del resultado de la prueba para anticuerpos frente a *T. cruzi* utilizando una muestra recién extraída.
 - Se pueden producir resultados negativos falsos si la cantidad de anticuerpos en una muestra es demasiado baja para el límite de detección del ensayo o si no hay anticuerpos durante la fase de la enfermedad en que se recoge la muestra. Los fallos en la dispensación de la muestra o del reactivo pueden ocasionar resultados erróneos.
 - Las muestras con niveles de proteínas anormalmente bajos pueden causar un SOM fallido falso, incluso cuando se ha añadido la muestra. El operador debe verificar visualmente la dispensación de la muestra durante la repetición de las muestras en las que se ha producido un SOM fallido falso.
 - El calibrador positivo del ensayo no debe utilizarse para cuantificar la sensibilidad del ensayo.
 - Un resultado no reactivo no excluye la posibilidad de la exposición a *T. cruzi*. Los niveles de anticuerpos frente a *T. cruzi* pueden ser inferiores al límite detectable del ensayo o pueden no ser detectables durante la exposición en la fase inicial.
 - No se considerará que una muestra es reactiva basándose en un único resultado reactivo de la prueba. Antes de que una muestra se considere positiva para la infección por *Trypanosoma cruzi* deberá realizarse una prueba adicional, como es la prueba confirmatoria.
- IFI de MARDX:
 - Los sujetos en una fase inicial de la enfermedad pueden no presentar títulos significativos.
 - Puede obtenerse una reacción IgM falsa positiva si coexisten anticuerpos IgG específicos y el factor reumatoide. Además, la competición entre los anticuerpos IgG e IgM específicos puede dar lugar a reacciones IgM falsas negativas. Ambos problemas pueden evitarse eliminando las IgGs antes de analizar las IgMs tratando los sueros, p. ej., con Marsorb G, Ref. 41-9000.

10.1.2. Diagnóstico directo. PCR

La PCR es una técnica que aporta altas sensibilidades y cada día se utiliza más para el diagnóstico de enfermedades. Williams y cols. nos describen las causas de su utilización para utilizarla en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas (164):

Las técnicas anteriormente mencionadas (diagnóstico indirecto), que están diseñadas para reaccionar ante la presencia de anticuerpos del huésped específicos contra el parásito no son caras y tiene excelentes sensibilidades. Su especificidad es buena aunque algunos tiene reacciones cruzadas con anticuerpos frente a parásitos que tiene antígenos de superficie similares y se ha informado de que generan falsos positivos. Métodos alternativos de diagnóstico como el hemocultivo y el xenodiagnóstico tiene mejor especificidad pero poca sensibilidad; también son caros y se necesita tiempo para realizarlos, siendo impracticables con grandes cantidades de muestras. La visualización directa del parásito en el microscopio en los tejidos del huésped es muy específico pero poco sensible y supone un gran trabajo para poderlo aplicar a la rutina. Por todo ello, use necesita un ensayo independiente, no caro, no inmunológico y no microscópico para facilitar un ensayo detallado y detección fiable de la infección. Idealmente, el método podría aplicarse retrospectivamente para archivar muestras de tejidos y que también diese una indicación cuantitativa de la cantidad de parásitos en los tejidos del huésped.

En las últimas décadas, ensayos que utilizan la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de *T. cruzi* han mejorado y se han convertido en prácticas y robustas alternativas al diagnóstico inmunológico, con alta sensibilidad y especificidad. Una comparación de la detección del parásito por microscopía y por PCR, demuestra la gran sensibilidad de la PCR tanto durante la fase aguda como durante la crónica de la enfermedad, pudiendo detectar infecciones durante la fase crónica intermitentemente detectables por microscopía y dar un diagnóstico temprano de la infección.

Coronado y cols. describen el material genético del parásito (29): el DNA del kinetoplasto (kDNA) contiene dos componentes: minicírculos y maxicírculos. Los minicírculos son abundantes (10.000-20.000/célula) y tienen dos tipos de elementos de secuencia: una región conservada y repetida cuatro veces por molécula y cuatro regiones variables y divergentes intercaladas entre las cuatro regiones repetidas. Para la detección del parásito por PCR en sangre y tejido se han utilizado oligonucleótidos que contienen secuencias del DNA del minicírculo.

Secuencias del kDNA altamente conservadas permite la detección del parásito (bandas de 330 pb); informándose de sensibilidades y especificidades cercanas al 100 % en individuos crónicamente infectados. Otra diana de DNA importante para la detección de *T. cruzi* es la región específica nuclear repetitiva (195-188 pb) (61).

Liarte y cols. describen cual es la mejor zona para amplificar (85): el elemento de DNA satélite de 195 pb con 120.000 copias por genoma, fue la primera secuencia nuclear repetida descrita en *T. cruzi*. La gran abundancia y la diversidad intra-especie de esta secuencia sugirió su posible aplicación para detectar la infección por *T. cruzi*. De hecho, es posible detectar mínimas cantidades de DNA del parásito en diversas muestras biológicas incluyendo sangre, biopsias, tejido cardíaco infectados. Más aún, se ha demostrado que hay una asociación entre las secuencias repetitivas del DNA satélite y los grupos del parásito. (*T. cruzi* I, II,...).

Estos DNA repetitivos de 195 pb constituyen aproximadamente el 9 % del DNA nuclear de *T. cruzi*.

La elección de esta secuencia de DNA repetitivo de 195 pb de *T. cruzi* como diana para la amplificación por PCR, en vez del DNA de los minicírculos del kinetoplasto se debe a varios factores (101).

Hay aproximadamente 1,8 veces más copias de elemento de 195 pb por organismo que de las regiones amplificables constantes del minicírculo. Esta estimación está basada en el hecho de que los minicírculos consti-

tuyen la misma fracción del total del DNA del organismo (9 %) que los repetidos 195 pb, pero la secuencia del minicirculo (aproximadamente 1.450 pb) de *T. cruzi* tiene sólo cuatro copias de la región de 120 pb altamente conservada. Además, lo que es más, la región del minicirculo de 120 pb contiene algo de similitud con los orígenes replicativos del DNA del minicirculo de otros tripanosomas, y esto puede reducir la especificidad de los métodos basados en secuenciación de DNA como la amplificación por PCR. Además, los minicirculos de la red de DNA del kinetoplasto están fuertemente superenrollados, y es necesario el tratamiento de la muestra con enzimas de restricción para maximizar la accesibilidad de las secuencias dianas a los primer y a la Taq polimerasa. Así la abundancia y especificidad del elemento repetitivo de 195 pb le convierte en una diana ideal para la amplificación mediante cebadores (primers) del DNA de *T. cruzi*.

Virreina y cols. citan otra posible diana, así como la sensibilidad de otras pruebas directas (163):

- El kDNA de Trypanosomatidae está organizado en múltiples círculos, probablemente más difíciles de digerir que el nDNA lineal.
- La observación microscópica de parásitos concentrados en tubos capilares permite detectar parasitemias de > 40 parásitos/ml.

Barbosa y cols. señalan ventajas e inconvenientes de cada uno de los métodos diagnósticos (5):

Los métodos serológicos para la detección de *T. cruzi* en sangre son sensibles pero la especificidad no es satisfactoria. La detección directa de parásitos en sangre, por xenodiagnóstico o por hemocultivo, es muy específica pero de poca sensibilidad. Ensayos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que amplifica ciertas secuencias repetitivas del DNA nuclear, se ha utilizado como una buena herramienta alternativa para la detección de *T. cruzi* en la sangre. Este estudio pretende probar el diagnóstico por PCR en pacientes crónicos chagásicos y en serologías dudosas de pacientes atendidas en GEDOCH (Chagas disease Study Group/UNICAMP). Se detectó un fragmento de 149 pb originario de DNA nuclear en pacientes con enfermedad de Chagas crónica. Se compararon los resultados de estas pruebas con diagnóstico serológico utilizando técnicas estándar y xenodiagnóstico. 43 de 50 pacientes previamente serodiagnosticados como chagásicos fueron positivos utilizando el método nested-PCR. 13 de 30 pacientes con resultados serológicos dudosos se confirmaron como positivos con N-PCR. Estos resultados sugieren que la N-PCR puede ser una herramienta complementaria en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica, y que es útil para la detección de parásitos en pacientes con enfermedad crónica y pacientes con resultados serológicos dudosos.

Para comparar la sensibilidad de las PCR con respecto a las pruebas serológicas, se estudiaron 50 pacientes con diagnóstico confirmado de enfermedad de Chagas mediante N-PCR para el nDNA repetitivo utilizando los primers TCZ1/TCZ2 en la primera reacción y TCZ3/TCZ4 en la segunda, que produjeron productos de 188 y 149 pb respectivamente. Entre los 50 pacientes 29 tuvieron PCR positivas con la primera reacción y 43 fueron también N-PCR positivos (Tabla 10.14) lo que demuestra la buena sensibilidad de la segunda amplificación. Entre los pacientes con xenodiagnóstico positivo, todos fueron PCR positivos (Tabla 10.15), lo que indica la buena especificidad de la N-PCR.

Tabla 10.14. **Formas clínicas de enfermedad de Chagas y los resultados de los 50 pacientes chagásicos crónicos**

Formas clínicas			Resultados de N-PCR		
Miocardopatía	Esofagopatía y/o colonopatía	Indeterminado	Primera PCR	N-PCR	N-PCR negativa
25 (50 %)	4 (8 %)	21 (42 %)	29(38 %)	43 (86 %)	7 (14 %)

Tomada de Barbosa y cols. (5)

Tabla 10.15. **Comparación de xenodiagnóstico y N-PCR en seis pacientes crónicos con serologías positivas de Chagas y dos pacientes con serología dudosa**

Serología	Xenodiagnóstico	N-PCR
Positiva	Positivo	Positiva
Positiva	Negativo	Positiva
Positiva	Negativo	Positiva
Dudosa	Negativo	Positiva
Dudosa	Negativo	Positiva

Tomada de Barbosa y cols. (5)

Piron y cols. (119) intentaron desarrollar una técnica de PCR a tiempo real (t-PCR) para detectar DNA de *T. cruzi* en la sangre de los pacientes chagásicos. La sensibilidad analítica de la t-PCR fue evaluada mediante diluciones seriadas de epimastigotes de *T. cruzi* en sangre seronegativa (de 7,8 a 0,06 epimastigotes/ml). La sensibilidad clínica fue probada con 38 muestras de sangre de pacientes adultos con enfermedad de Chagas y una muestra de sangre de un niño con infección congénita aguda. La especificidad se evaluó con 100 individuos seronegativos de áreas endémicas, 40 individuos seronegativos de áreas no endémicas y 20 pacientes con leishmaniasis visceral por *Leishmania infantum*. Se diseñó la t-PCR para amplificar un fragmento del DNA satélite de *T. cruzi*. Se utilizó un control interno (gen humano) y se añadió UNG a la reacción para evitar posibles falsos positivos debido a contaminaciones. También se analizaron las muestras por una N-PCR previamente descrita que amplificaba la misma región de DNA. La sensibilidad de la t-PCR fue de 0,8 parásitos/ml (50 % positive hit rate) u 2 parásitos/ml (95 % positive hit rate). Ninguna de las muestras seronegativas fueron t-PCR positivas, especificidad 100 %. 16 de 39 pacientes fueron positivos por t-PCR (41 %). La concordancia con los resultados de la N-PCR fue del 90 %. Como conclusión, la t-PCR proporciona una óptima alternativa a la N-PCR, con parecida sensibilidad y especificidad, y puede ayudar a detectar parasitemia en pacientes chagásicos.

Las técnicas utilizadas para el serodiagnóstico fueron: Bioelisa Chagas (Biokit, Barcelona, España), que utiliza antígenos recombinantes y un ELISA hecho en casa con antígenos de *T. cruzi* totales.

Los métodos de PCR descritos previamente para el diagnóstico de enfermedad de Chagas, utilizaban la PCR en un paso, con o sin hibridación, o N-PCR seguido de electroforesis en gel. Es decir, consumían tiempo y producían falsos positivos debido a la contaminación de las muestras por el arrastre, o falsos negativos debido a la inhibición en el proceso de amplificación, cuando la PCR se realizaba en ausencia de una amplificación en paralelo de un gen humano como control.

Más recientemente, algunos trabajos han descrito los métodos de t-PCR utilizando la tecnología SYBR Green que se basa en la incorporación de un tinte fluorescente del DNA de doble cadena. En este estudio se utilizó una sonda TaqMan que garantiza mejor la especificidad de la señal medida.

El método de t-PCR de este estudio está basado en la amplificación de una secuencia de DNA geonómico que previamente se ha descrito como específico para todas las líneas de *T. cruzi*.

Los resultados discrepantes entre t-PCR y N-PCR se pueden explicar por la baja parasitemia, probablemente menos que el límite de detección de ambas técnicas. Las discrepancias se produjeron en cinco muestras (de 18 con resultados positivos en uno u otro método) tres positivas por t-PCR y negativas por N-PCR y dos negativas por t-PCR y positivas por N-PCR.

Aunque el estudio cuantitativo es de valor limitado en la fase indeterminada, el verdadero potencial de la t-PCR estará realmente mejor reconocido en otras situaciones en las que las técnicas basadas en PCR han sido prometedoras, como en las infecciones congénitas, la monitorización de la parasitemia durante el tratamiento, recaídas tempranas después del trasplante de corazón y otras circunstancias inmunosupresoras.

En conclusión, este nuevo sistema de t-PCR es más simple, rápido y fiable que las técnicas de PCR convencionales. Más aún, la posibilidad de cuantificación y el riesgo reducido de contaminación son valores añadidos a este método.

11. DESCRIPCIÓN INDIVIDUAL DE LAS MUJERES SEROPOSITIVAS

11.1. DESCRIPCIÓN DE LAS PACIENTES POSITIVAS PARA TRYPANOSOMA CRUZI

Se les han realizado análisis y una encuesta a 270 pacientes de las cuales:

- 51 (18,88 %) tuvieron una serología positiva, cinco de ellas con PCR positiva.
- Una (0,37 %) tuvo únicamente la PCR positiva.

En la tabla 11.1 se recogen los principales datos de la encuesta realizada de las pacientes positivas y en las tablas siguientes (Tabla 11.2, 11.3, 11.4 y 11.5) se detallan otros datos recogidos en la encuesta.

Estas 51 pacientes, seropositivas mediante las tres técnicas (IFI, ELISA con antígenos naturales y recombinantes) presentaron las siguientes características:

- Ninguna con insuficiencia renal, VIH positiva o que ejerciesen la prostitución.
- 48 procedentes de Bolivia, dos de Brasil y tres de Paraguay, con edades comprendidas entre 18 y 52 años.
- Llevan en España entre uno y siete años.
- Título de anticuerpos entre 1/32 y 1/1.280 y 5 con PCR positiva.

Características de cada paciente

1. Natural de Camiri, de 27 años, donde realizó estudios básicos. Aquí se dedica al servicio doméstico y tiene pareja estable. Ha vivido en zona rural y tenía antecedentes de enfermedad de Chagas por serología positiva. En su familia dos personas presentaban también enfermedad de Chagas. Ha tenido cinco embarazos abortando en dos ocasiones (abortos provocados) y su hijo menor tiene ocho años. Título de anticuerpos 1/512 y PCR positiva (22,5 copias/ml).
2. Natural de Cochabamba, de 25 años, con estudios básicos y aquí empleada de hogar y con pareja estable. Un familiar con antecedentes de enfermedad de Chagas. Embarazada, siendo éste su primer embarazo. Intervenida por un quiste en el ovario. Título de anticuerpos 1/128 y PCR negativa.
3. Nacida en Cochabamba, de 37 años, con estudios básicos y aquí empleada de hogar y con pareja estable. Su madre ha padecido enfermedad de Chagas. Tiene tres hijos (el menor de 11 años). Título de anticuerpos 1/32 y PCR negativa.
4. Natural de Cochabamba, casada de 41 años y ama de casa, en su país realizó estudios primarios. Ha vivido en zona rural y su madre ha padecido enfermedad de Chagas. Sus tres partos han sido mediante cesárea teniendo el menor de sus hijos 17 años. Título de anticuerpos 1/128.
5. Nacida en Cochabamba, de 44 años que presenta alteraciones gastrointestinales y en el año 1990 le hicieron una colecistectomía. En el año 2002 fue diagnosticada de enfermedad de Chagas y tiene una hermana con el mismo diagnóstico. Ha estado siete veces embarazada sufriendo dos abortos. Lleva tres años en España. Título de anticuerpos 1/128.
6. Chica de 18 años natural de Cochabamba, con pareja que ha vivido en zona rural con casa de adobe y conoce la vinchuca. En su país realizó estudios primarios y aquí es ama de casa. Actualmente está embarazada y en el embarazo anterior sufrió un aborto natural.
7. Mujer de 27 años natural de El Hondo, donde vivió en zona rural en casa de adobe y conoce la vinchuca. Uno de sus familiares ha sido diagnosticado de enfermedad de Chagas. En Bolivia estaba estudiando y aquí lleva cinco años dedicada a la hostelería. En 2004 fue intervenida de un quiste mamario. Actualmente está embarazada, tiene un hijo de siete años y sufrió un aborto provocado. Título de anticuerpos 1/128 y PCR positiva (27,3 copias/ml).

8. Natural de Santa Cruz con 32 años. Tiene pareja estable y trabaja en servicio doméstico. A pesar de no haber vivido en zona rural conoce la vinchuca. En su país realizó los estudios básicos y en España lleva cinco años. Tiene tres hijos. Título de anticuerpos 1/512 y PCR negativa.
9. Mujer de 25 años, natural de Santa Cruz. Realizó estudios básicos. Tiene pareja estable y trabaja en servicio doméstico. Tiene un familiar con antecedentes de enfermedad de Chagas. En su país realizó los estudios básicos. Tiene dos hijos y el pequeño de siete años de edad. Título de anticuerpos 1/512 y PCR negativa.
10. Natural de Santa Cruz de 38 años a la que le han realizado en 2009 una mamoplastia. En su país realizó los estudios básicos y aquí trabaja como peluquera. Está soltera. Tres familiares han sido diagnosticados de enfermedad de Chagas. Ha sufrido dos abortos provocados y tiene tres hijos, el menor de 10 años. Título de anticuerpos 1/64y PCR negativa.
11. Nacida en Santa Cruz de 23 años, que en su país realizó estudios básicos y aquí trabaja en hostelería. Recibió una transfusión sanguínea en su país de origen en 1994. Tiene pareja estable y un niño de cinco años. Título de anticuerpos 1/128 y PCR negativa.
12. Mujer de 23 años nacida en Santa Cruz y con pareja estable y se dedica el cuidado de personas. Ha vivido en zona rural y conoce la vinchuca. Tiene dos hijos. Lleva cuatro años en España. Título de anticuerpos 1/128 y PCR negativa.
13. Mujer de 26 años, nacida en Santa Cruz. Casada y en su país estudiaba pero aquí trabaja en servicio doméstico. Su tío materno murió de muerte súbita. Ha estado dos veces embarazada y uno de los niños lo perdió por aborto natural. Lleva tres años en España. Título de anticuerpos 1/128 y PCR negativa.
14. Natural de Santa Cruz de 22 años, tiene pareja estable y cuida personas. Ha vivido en zona rural en casa de adobe y conoce la vinchuca. En su país era estudiante y ya lleva cinco años en España. Refiere síntomas neurológicos. Actualmente está embarazada. Título de anticuerpos 1/128 y PCR negativa.
15. Natural de Santa Cruz con 31 años, tiene pareja estable y trabaja en servicio doméstico. Ha vivido en zona rural casa de adobe y conoce la vinchuca. Refiere estreñimiento. Realizó estudios de FP, o similares, en su país y aquí lleva seis años. Tiene dos hijos y perdió otro en un aborto provocado. Título de anticuerpos 1/256.
16. Nacida en Santa Cruz, de 37 años intervenida de colecistectomía Título de anticuerpos 1/256 y PCR positiva (32,2 copias/ml).
17. Natural de Santa Cruz de 28 años que a pesar de no haber vivido en zona rural conoce la vinchuca. En su país era estudiante. Aquí se dedica al cuidado de personas. Ha tenido cuatro embarazos perdiendo uno de ellos por aborto natural. Su padre ha sido diagnosticado de Chagas y presenta una cardiopatía. Título de anticuerpos 1/512 y PCR negativa.
18. Mujer de 29 años, nacida en Santa Cruz. Casada y en su país estudiaba pero aquí trabaja en servicio doméstico. Ha vivido en zona rural en casa de adobe y conoce la vinchuca y su padre padece enfermedad de Chagas. Actualmente está embarazada y tiene dos hijos (uno de los partos fue por cesárea) y perdió otro en un aborto provocado. Lleva tres años en España. Título de anticuerpos 1/128 y PCR positiva (26,05copias/ml).
19. Chica de 16 años, nacida en Santa Cruz que lleva cuatro años en España y tiene un hijo de seis meses. Título de anticuerpos 1/512 y PCR negativa.
20. Maestra de 38 años, nacida en Santa Cruz. Aquí se dedicada al cuidado de personas y tiene antecedentes familiares de Chagas. En el año 2008 le practicaron una colecistectomía. Ha tenido cuatro embarazos, perdiendo uno de ellos por aborto natural, y su hijo menor tiene nueve años. Título de anticuerpos 1/512.

21. Natural de Santa Cruz de 31 años que trabaja como empleada de limpieza. Lleva tres años en España y en 1990 fue diagnosticada en su país de enfermedad de Chagas. Trabaja en servicios de limpieza. Ha donado sangre en Bolivia. Título de anticuerpos 1/1.280.
22. Mujer de 32 años, sin pareja oriunda de Santa Cruz. Ha vivido en zona rural en casa de adobe y conoce la vinchuca. Realizó en su país estudios de FP, o similares, y lleva cuatro años en España donde trabaja en servicio doméstico. Refiere molestias cardiacas y digestivas. Ha tenido tres embarazos con dos abortos provocados y uno natural. Título de anticuerpos 1/64 y PCR negativa.
23. Nacida en Santa Cruz de 40 años, con diabetes y alteraciones gastrointestinales. Realizó los estudios básicos en su país y ha vivido en zona rural. En este momento no tiene pareja y trabaja en servicio doméstico. Ha tenido siete embarazos de los cuales perdió uno por aborto provocado, su último hijo tiene seis años. Título de anticuerpos 1/64.
24. Natural de Santa Cruz de 32 años que ha vivido en zona rural casa de adobe y conoce la vinchuca, tiene tres tías maternas diagnosticadas de enfermedad de Chagas y a ella se lo diagnosticaron en 1995. Su padre murió de muerte súbita. Ha donado sangre y presenta gastritis crónica y le han practicado una colecistectomía. Casada y aunque en su país estudiaba aquí trabaja como servicio doméstico. Ha estado cuatro veces embarazada y en dos ocasiones perdió a los niños por aborto natural. Lleva cinco años en España. Título de anticuerpos 1/128 y PCR negativa.
25. Mujer natural de Santa Cruz de 36 años. Ha vivido en zona rural y fue diagnosticada de enfermedad de Chagas por serología en 2005. Realizó los estudios básicos en su país, aquí trabaja en servicio doméstico. Actualmente sin pareja. Ha tenido cuatro hijos, uno de ellos por cesárea. Su hijo más pequeño tiene 9 años. Título de anticuerpos 1/512.
26. Mujer de 31 años, nacida en Santa Cruz. Casada y en su país estudiaba pero aquí trabaja en servicio doméstico. Conoce la vinchuca a pesar de no haber vivido en zona rural y, tanto a su padre como a su tía les han diagnosticado de enfermedad de Chagas. Ha tenido un niño por cesárea y actualmente está embarazada. Lleva tres años en España. Título de anticuerpos 1/1.280 y PCR negativa.
27. Natural de Santa Cruz de 53 años que está viuda. Presenta alteraciones cardiacas, que fue intervenida de cesárea y ovariectomía en 1999. Diagnosticada de Chagas en 2008 y le transfundieron sangre en Bolivia en 1985. Su madre tiene antecedentes de Chagas. En su país realizó los estudios primarios y aquí trabaja en servicios de limpieza. Ha tenido tres hijos (el menor de 29 años) y tuvo un aborto natural. Título de anticuerpos 1/64 y PCR positiva (3,81 copias/ml).
28. Nacida en Santa Cruz de 43 años. Es analista clínica. Ha vivido en zona rural y su madre. Está diagnosticada de enfermedad de Chagas. En el año 2004 donó sangre en su país (Bolivia). Tiene cinco hijos y el más pequeño tiene 14 años. Actualmente no tiene pareja estable. Título de anticuerpos 1/128 y PCR negativa.
29. Mujer de Brasilia que tiene 34 años. Ha vivido en zona rural en casa de adobe y conoce la vinchuca. Su madre y su hermana están diagnosticadas de enfermedad de Chagas. Refiere disfagia y dolor abdominal. Está casada y aunque en su país estudiaba aquí trabaja como servicio doméstico. Ha tenido un hijo y actualmente está embarazada. Lleva cuatro años en España. Título de anticuerpos 1/64 y PCR negativa.
30. Mujer de 24 años natural de Sucre que trabaja en el servicio doméstico. Tiene pareja, que a pesar de no haber vivido en zona rural sí que ha vivido en casa de adobe y conoce la vinchuca. Una hermana murió de muerte súbita y su padre padece estreñimiento. Ha recibido cuatro transfusiones sanguíneas. Actualmente está embarazada y el hijo anterior lo perdió por aborto natural. En su país realizó estudios de FP, o similar, y lleva tres años en España. Título de anticuerpos 1/64 y PCR negativa.

31. Mujer de 29 años nacida en Chuquisaca que ha vivido en zona rural en casa de adobe y conoce la vinchuca. Lleva dos años en España y donó sangre en 1994 en su país. Ha tenido cuatro embarazos, perdiendo uno de los niños por aborto natural. Título de anticuerpos 1/128 y PCR negativa.
32. Natural de Tarija, de 31 años y soltera. Su padre y dos hermanas están diagnosticados de enfermedad de Chagas. Ha tenido un aborto natural. Título de anticuerpos 1/512.
33. Mujer nacida en Bolivia de 31 años. Título de anticuerpos 1/32 y PCR negativa.
34. Nacida en Bolivia de 23 años que ha sido intervenida de quistectomía en 2002. Ha tenido dos hijos y el pequeño tiene un año. Trabaja en servicios de limpieza. Título de anticuerpos 1/32.
35. Natural de Bolivia de 21 años que refiere alteraciones gastrointestinales y ha sido intervenida del tabique nasal. Título de anticuerpos 1/32.
36. Boliviana de 35 años con enfermedad cardiaca. Diagnosticada de enfermedad de Chagas en 2007. Le han realizado un aborto. Tiene pareja estable. Título de anticuerpos 1/512.
37. Mujer natural de Bolivia de 35 años. Título de anticuerpos 1/64.
38. Natural de Bolivia de 28 años. Diagnosticada de enfermedad de Chagas en el año 2000. Ha sufrido un aborto. Título de anticuerpos 1/64.
39. Nacida en Bolivia de 21 años, operada de apendicitis en 2006 y diagnosticada de enfermedad de Chagas en 2002. Título de anticuerpos 1/64.
40. Mujer boliviana de 34 años. Título de anticuerpos 1/128 y PCR negativa.
41. Natural de Bolivia de 43 años que lleva cinco en España. Está diagnosticada de enfermedad de Chagas. Título de anticuerpos 1/128.
42. Nacida en Bolivia de 44 años intervenida de colecistectomía en el año 2001. Ha recibido transfusión de sangre en Bolivia. Título de anticuerpos 1/128.
43. Boliviana de 34 años. Ha tenido tres embarazos y su último hijo tiene cinco meses. Título de anticuerpos 1/128.
44. Natural de Santa Cruz con 35 años, tiene pareja estable y trabaja en servicio doméstico. Ha vivido en casa de adobe y conoce la vinchuca. Dos sus familiares han sido diagnosticados de enfermedad de Chagas, su padre murió de muerte súbita y su madre y su tío refieren molestias cardiacas. Lleva siete años en España. Ha tenido dos hijos, sufrido un aborto natural y actualmente está embarazada. Título de anticuerpos 1/512 y PCR negativa.
45. Nacida en Bolivia de 41 años. Diagnosticada de enfermedad de Chagas en 2001. Título de anticuerpos 1/512 y PCR negativa.
46. Nació en Bolivia hace 35 años con pareja estable. Realizó los estudios básicos en su país. Título de anticuerpos 1/1280.
47. Natural de Bolivia de 43 años que está viuda. Ha vivido en zona rural y diagnosticada de enfermedad de Chagas en el año 2006 por serología positiva. Título de anticuerpos 1/128 y PCR negativa.
48. Mujer brasileña de 37 años. Título de anticuerpos 1/32 y PCR negativa.
49. Mujer de 32 años, natural de Asunción que lleva un año en España. Realizó estudios de FP, o similar, y aquí se dedica al cuidado de personas. Intervenida del riñón tras accidente en 1996 recibiendo transfu-

siones durante el episodio. Presenta alteraciones neurológicas. Ha tenido un hijo por cesárea y actualmente está embarazada. Título de anticuerpos 1/128 y PCR negativa.

50. Natural de Paraguay de 21 años que ha vivido en zona rural. Refiera alteraciones gastrointestinales. Ha tenido un hijo y actualmente está embarazada. Título de anticuerpos 1/64 y PCR negativa.
51. Nacida en Paraguay de 38 años diagnosticada de enfermedad de Chagas en 2002 habiendo sido tratada. Ha sido intervenida por un desgarro vaginal y ha tenido cuatro embarazos. Título de anticuerpos 1/256 y PCR negativa.
52. Mujer de 22 años procedente de Bolivia, Santa Cruz. Ha estudiado Bachiller. Está obesa y ha sufrido un aborto. No tiene anticuerpos frente a *Trypanosoma cruzi* y la PCR es positiva (16,4 copias/ml).

Tabla 11.1. Resumen de las características principales

Caso	Edad	IFI	PCR	País	Región	Vivir zona rural	Vinchuca	Enf. neurológica	Enf. cardíaca	Alt. digestiva	Cirugía	Antecedente Chagas		Transfusión	Donación	Nº emb.	Emb. actual	Abortos
												personal	familiar					
1	27	Título 1/512	26,29	Bolivia	Camiri	SI	-	-	-	-	-	SI	SI	SI	-	5	-	SI
2	37	Título 1/32	N	Bolivia	Cocha-bamba	-	-	-	-	-	SI	-	SI	-	-	3	-	-
3	25	Título 1/128	N	Bolivia	Cocha-bamba	-	-	-	-	-	-	-	SI	-	-	1	SI	-
4	44	Título 1/128		Bolivia	Cocha-bamba	-	-	-	-	SI	SI	SI	SI	-	-	7	-	SI
5	18	Título 1/32	N	Bolivia	Cocha-bamba	SI	SI	-	-	-	-	-	-	-	-	2	SI	SI
6	41	Título 1/128		Bolivia	Cocha-bamba	SI	-	-	-	-	SI	-	SI	-	-	3	-	-
7	27	Título 1/512	26,01	Bolivia	Santa Cruz	SI	SI	-	-	-	SI	-	SI	-	-	3	SI	SI
8	32	Título 1/512	N	Bolivia	Santa Cruz	-	SI	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
9	25	Título 1/512	N	Bolivia	Santa Cruz	-	-	-	-	SI	-	-	SI	-	-	2	-	-
10	38	Título 1/64	N	Bolivia	Santa Cruz	-	-	-	-	-	SI	-	SI	-	-	5	-	SI
11	23	Título 1/128	N	Bolivia	Santa Cruz	-	-	-	-	-	-	-	-	SI	-	1	-	-
12	23	Título 1/128	N	Bolivia	Santa Cruz	SI	SI	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
13	26	Título 1/128	N	Bolivia	Santa Cruz	-	-	-	-	SI	SI	-	-	-	-	2	SI	SI
14	22	Título 1/128	N	Bolivia	Santa Cruz	SI	SI	SI	-	-	-	-	-	-	-	1	SI	-
15	31	Título 1/256		Bolivia	Santa Cruz	SI	SI	-	-	SI	-	-	-	-	-	3	-	SI
16	37	Título 1/256	25,77	Bolivia	Santa Cruz	-	-	-	-	-	SI	-	-	-	-	-	-	-
17	28	Título 1/512	N	Bolivia	Santa Cruz	-	SI	-	-	-	-	-	SI	-	-	4	-	SI

.../...

.../...

Caso	Edad	IFI	PCR	País	Región	Vivir zona rural	Vinchuca	Enf. neurológica	Enf. cardiaca	Alt. digestiva	Cirugía	Antecedente Chagas		Transfusión	Donación	Nº emb.	Emb. actual	Abortos
												personal familiar						
18	29	Título 1/512	26,05	Bolivia	Santa Cruz	SI	SI	-	-	-	SI	-	SI	-	-	4	SI	SI
19	16	Título 1/512	N	Bolivia	Santa Cruz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
20	38	Título 1/512		Bolivia	Santa Cruz	-	-	-	-	-	SI	-	-	-	-	4	-	SI
21	31	Título 1/128		Bolivia	Santa Cruz	-	-	-	-	SI	-	SI	-	-	SI	-	-	-
22	32	Título 1/64	N	Bolivia	Santa Cruz	SI	SI	-	SI	SI	-	-	-	-	-	3	-	SI
23	40	Título 1/64		Bolivia	Santa Cruz	SI	-	-	-	SI	-	-	-	-	-	7	-	SI
24	32	Título 1/256	N	Bolivia	Tarija	-	SI	-	-	SI	SI	SI	SI	-	SI	4	-	SI
25	36	Título 1/512		Bolivia	Santa Cruz	SI	-	-	-	-	SI	SI	SI	-	-	4	-	-
26	31	Título 1/128	N	Bolivia	Santa Cruz	-	SI	-	-	-	SI	-	SI	-	-	2	SI	-
27	53	Título 1/64	27,67	Bolivia	Santa Cruz	-	-	-	SI	-	SI	SI	SI	SI	-	4	-	SI
28	43	Título 1/128	N	Bolivia	Santa Cruz	SI	-	-	-	-	-	-	SI	-	SI	5	-	-
29	34	Título 1/64	N	Brasil	Brasilia	SI	SI	-	-	SI	-	-	SI	-	-	2	SI	-
30	24	Título 1/64	N/N	Bolivia	Sucre	-	SI	-	-	-	SI	-	-	SI	-	2	SI	SI
31	29	Título 1/128	N	Bolivia	Chuquisaca	SI	SI	-	-	-	-	-	-	-	SI	4	SI	SI
32	31	Título 1/512		Bolivia	Tarija	-	-	-	-	-	-	-	SI	-	-	1	-	SI
33	31	Título 1/32	N	Bolivia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	23	Título 1/32		Bolivia	-	-	-	-	-	-	SI	-	-	-	-	2	-	-
35	21	Título 1/32		Bolivia	-	-	-	-	-	SI	SI	-	-	-	-	-	-	-
36	35	Título 1/512		Bolivia	-	-	-	-	SI	-	-	SI	-	-	-	-	-	SI
37	35	Título 1/64		Bolivia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	28	Título 1/64		Bolivia	-	-	-	-	-	-	-	SI	-	-	-	-	-	SI
39	21	Título 1/64		Bolivia	-	-	-	-	-	-	SI	SI	-	-	-	-	-	-
40	34	Título 1/128	N	Bolivia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Caso	Edad	IFI	PCR	País	Región	Vivir zona rural	Vinchuca	Enf. neurológica	Enf. cardíaca	Alt. digestiva	Cirugía	Antecedente Chagas personal familiar	Transfusión	Donación	Nº emb.	Emb. actual	Abortos	
41	43	Título 1/128		Bolivia	-	-	-	-	-	-	-	SI	-	-	-	-	-	
42	34	Título 1/128		Bolivia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	
43	44	Título 1/128		Bolivia	-	-	-	-	-	-	SI	-	-	SI	-	-	-	
44	35	Título 1/512	N	Bolivia	Santa Cruz	SI	SI	-	-	SI	SI	-	SI	-	-	4	SI	SI
45	41	Título 1/512	N	Bolivia	-	-	-	-	-	-	-	SI	-	-	-	-	-	
46	35	Título 1/128		Bolivia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
47	43	Título 1/128	N	Bolivia	-	SI	-	-	-	-	-	SI	SI	-	-	-	-	
48	37	Título 1/32	N	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
49	32	Título 1/128	N	Paraguay	Asunción	-	-	SI	-	-	SI	-	-	SI	-	2	SI	-
50	21	Título 1/64	N	Paraguay	-	SI	SI	-	-	SI	-	-	-	-	-	1	SI	-
51	38	Título 1/256	N	Paraguay	-	-	-	-	-	-	SI	SI	-	-	-	4	-	-
52	22	N	26,74	Bolivia	Santa Cruz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	SI

Tabla 11.2. Lugar de vivienda y años de residencia en España

Caso	Vivienda en zona rural	Casa de adobe	Conoce la vinchuca	Nº años en España
1	SI	-	-	-
5	SI	SI	SI	3
6	SI	-	-	-
7	SI	SI	SI	5
8	-	-	SI	5
12	SI	-	SI	4
13	-	-	-	3
14	SI	SI	SI	5
15	SI	SI	SI	6
17	-	-	SI	-
18	SI	SI	SI	3
19	-	-	-	4
21	-	-	-	3
22	SI	SI	SI	4
23	SI	-	-	-
24	-	SI	SI	5
25	SI	-	-	-
26	-	-	SI	3
28	SI	-	-	-
29	SI	SI	SI	4
30	-	SI	SI	3
31	SI	SI	SI	2
41	-	-	-	5
44	SI	SI	SI	7
47	SI	-	-	-
49	-	-	-	1
50	SI	-	SI	1

Tabla 11.3. Intervenciones quirúrgicas

Caso	TIPO	Año
2	Quiste ovario	-
4	Colecistectomía	2003
6	Cesárea	1993
7	Quiste mamario	2004
10	Mamoplastia	2009
13	Nariz	202
16	Colecistectomía	-
18	Cesárea	-
20	Vesícula	2008
24	Colecistectomía	-
25	Cesárea	1995
26	Cesárea	-
27	Cesárea	1999
30	Embarazo ectópico	-
34	Quiste	2002
35	Tabique nasal	-
39	Apendectomía	2006
42	Colecistectomía	2001
44	Pterigum	-
49	CESAREA, Intervención renal (Tras accidente)	?, 1996
51	Desgarro vaginal	-

Tabla 11.4. Antecedentes de enfermedad de Chagas

Caso	Antecedente personal	Año de diagnóstico	Serología Positiva	Tratamiento	Antecedente familiar	Nº familiares	Familiar	Muerte súbita	Colecistectomía
1	SI	-	SI	-	SI	2	-	-	-
2	-	-	-	-	SI	1	Madre	-	-
3	-	-	-	-	SI	1	-	-	-
4	SI	2002	-	-	SI	1	Hermana	-	-
6	-	-	-	-	SI	1	Madre	-	-
7	-	-	-	-	SI	1	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	Hermano
9	-	-	-	-	SI	1	-	-	-
10	-	-	-	-	SI	3	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	Tía
17	-	-	-	-	SI	1	Padre	-	-
18	-	-	-	-	SI	1	Padre	No	No
21	SI	1990	-	-	-	-	-	-	-
24	SI	-	-	SI	SI	3	Tías maternas	Padre	Madre
25	SI	-	SI	-	SI	2	-	-	-
26	-	-	-	-	SI	2	Padre, tía	-	Madre
27	SI	-	-	-	SI	1	Madre	-	-
28	-	-	-	-	SI	1	Madre	-	-
29	-	-	-	-	SI	2	Madre Hermana	-	Madre
30	-	-	-	-	-	-	-	-	Hermana
32	-	-	-	-	SI	3	2 Hermanos, padre	-	-
36	SI	2007	-	-	-	-	-	-	-
38	SI	2000	-	-	-	-	-	-	-
39	SI	2002	-	-	-	-	-	-	-
41	SI	-	-	-	-	-	-	-	-
44	-	-	-	-	SI	1	Padre, primo	Padre	-
45	SI	2001	-	-	-	-	-	-	-
47	SI	-	SI	-	SI	1	Padre	-	-
51	SI	2002	-	SI	-	-	-	-	-

Tabla 11.5. Número y tipo de abortos

Caso	nº abortos	Provocados	nº	Naturales	nº
1	2	SI	2	-	-
4	2	-	-	-	-
5	1	-	-	SI	1
7	1	SI	1	-	-
10	2	SI	2	-	-
13	1	-	-	SI	1
15	1	SI	1	-	-
17	1	-	-	SI	1
18	1	SI	1	-	-
20	1	-	-	SI	1
22	3	SI	2	SI	1
23	1	SI	1	-	-
24	2	-	-	2	2
27	1	-	-	SI	1
30	-	-	-	SI	-
31	1	-	-	SI	1
32	1	-	-	SI	1
36	1	SI	1	-	-
38	1	-	-	-	-
44	1	-	-	SI	1
52	1	-	-	-	-

12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

Como ya se señala en el documento OPS/DPC/CD/353/05 publicado por la OPS: «Los países donde la infección/enfermedad de Chagas no es endémica deben considerar la presencia de personas infectadas por *T. cruzi* procedentes de zonas endémicas. Deben organizar su atención, contemplar su rol como donadores de sangre y organizar el manejo clínico-terapéutico de la transmisión congénita en gestantes infectadas».

Con posterioridad a la recomendación de la OPS, la OMS patrocinó en julio de 2007 una reunión de expertos para revisar la globalización de la enfermedad de Chagas y la necesidad de extender las estrategias de control de la infección por *T. cruzi* a los países no endémicos, cuyas conclusiones fueron recogidas en el documento «Revisiting Chagas disease: From Latin American Health Perspective to a Global Health perspective».

Teniendo en cuenta los datos publicados en la literatura científica en países como España y Estados Unidos, la OMS está promoviendo la creación de la Iniciativa de Control de la Enfermedad de Chagas en Países no Endémicos, e incluye a países como Estados Unidos, Canadá, países de Europa (entre ellos España) y Japón.

En los últimos años, España ha sido testigo de un fuerte flujo migratorio. De todos es conocido el papel que hoy juega la inmigración, y la globalización en nuestra sociedad. En los últimos años ha ido aumentando el número de personas de origen latinoamericano que ha emigrado a zonas no endémicas, como es nuestro país. A principios de 2005, había en España 3.730.610 extranjeros, de los cuales el 38,7 % eran de origen latinoamericano. Esto quiere decir que más de un millón de personas de áreas endémicas viven en España, con el riesgo de enfermedades como la de Chagas, que requieren una adaptación de nuestro sistema para su conocimiento y manejo adecuado, así como su control epidemiológico, con el inicio de tareas de vigilancia epidemiológica en nuestro medio, aunque en el mismo no exista vector transmisor.

Dado que la transmisión de la enfermedad de Chagas por vía transfusional y por vía vertical constituyen la segunda y tercera en frecuencia, es necesario establecer medidas de detección y control adecuadas que, por un lado, permitan no discriminar a una ciudadanía y, por otro, eviten el riesgo de transmisión del parásito. Teniendo en cuenta esto último es lógico pensar que los servicios sanitarios han de dotarse de instrumentos para:

- 1) conocer la prevalencia de esta enfermedad en población potencialmente donante y en mujeres gestantes procedentes de esas zonas y
- 2) evaluar el riesgo de transmisión horizontal de la enfermedad a través de la transfusión sanguínea y de la transmisión materno-fetal en nuestro medio.

Aunque en un segundo plano, también es interesante conocer el coste-efectividad de la detección de la infección por *Trypanosoma cruzi* de los dos grupos poblacionales mencionados en el párrafo anterior, provenientes de zonas endémicas previamente a la aparición de las complicaciones tardías. La información obtenida serviría para hacer extensible de manera universal un programa de cribado a la población latinoamericana de nuestro medio, así como iniciar la formación de programas de vigilancia epidemiológica para la detección y tratamiento de esta enfermedad en bancos de sangre y mujeres gestantes.

En la actualidad, la creciente inmigración procedente de las zonas endémicas, formada en su mayoría por mujeres en edad fértil que pueden introducir en nuestro país la enfermedad por la vía de la transmisión vertical, hace que la enfermedad de Chagas es un serio problema de salud pública.

Según el estudio «Inmigración extranjera en Bilbao» elaborado por el departamento de Sociología 2 de la Facultad de Ciencias Sociales y de la Comunicación del País Vasco, la población extranjera residente en Bilbao se ha multiplicado por seis pasando de 3.953 personas en el año 2000 a las 22.123 personas registradas en enero de 2007, lo que supone algo más del 6 % de la población total de la villa. De éstos, más del 60 % han llegado de Sudamérica, con un 50,8 % mujeres y un 40 % comprendida entre los 17 a 44 años. Además, Bolivia es el país más afectado, con una prevalencia global del 28,8 % (muy similar (31,1 %) a la arrojada por nuestro estudio) alcanzando cifras del 45 % en algunas regiones, y una tasa de transmisión materno fetal mínima del 5 % en la series de casos publicadas hasta el momento.

Ante la aparición de los primeros casos de Chagas transfusional se publicó el Real Decreto 1088/2005 para asegurar la calidad de la sangre y sus hemoderivados, y evitar el rechazo innecesario de potenciales donantes. Asimismo, también se publicó, el 14 de marzo de 2008, el Plan Nacional de Sangre de Cordón, desarrollado por la Organización Nacional de Transplantes (ONT), en el cual se recogen las mismas recomendaciones que se dispusieron en el RD 1088/2005, aceptando únicamente aquellos donantes con factores de riesgo en los que se haya descartado la infección por *T. cruzi*, mediante una prueba de cribado validada.

En algunos estudios realizados en las comunidades autónomas de Cataluña y Valencia se ha comunicado una seroprevalencia en gestantes de zona endémica similar a la observada en donantes de sangre, entre el 1 y 2 %, si bien la tasa en nuestro estudio es muy superior (10,37 %), aunque esto pueda deberse a una sobreestimación por distribución geográfica de la muestra analizada (más de un 50 % de las mujeres eran bolivianas).

En Cataluña se han descrito al menos cinco casos de transmisión vertical, desde el año 2005, cifra que se ha incrementado con otros casos de transmisión vertical registrados en Sevilla, Madrid y País Vasco. Aunque la seroprevalencia materna varía entre el 2 % al 50 % según las series publicadas en la literatura, la búsqueda activa de recién nacidos infectados permite la instauración temprana del tratamiento y la curación del niño. Por lo tanto, consideramos que la detección universal de anticuerpos anti-*T. cruzi* en gestantes latinoamericanas constituye una estrategia importante para realizar una búsqueda activa de las embarazadas infectadas, de los recién nacidos infectados y la instauración precoz del tratamiento específico.

RECOMENDACIONES

Las recomendaciones se resumen en los seis puntos siguientes:

1. *Información general.* Al igual que en otras estrategias destinadas a evitar la transmisión de patógenos, es importante que las *personas de riesgo* y el *personal sanitario estén informados y concienciados*. Se debe informar en relación con dicho riesgo, y dirigir a las personas posiblemente infectadas a unidades específicas de detección, o a sus matronas en los centros de atención especializada. En este apartado merece mención especial el estudio «Physician Awareness of Chagas Disease» realizado en EEUU y publicada en mayo de 2010 en la revista *Emerging Infectious Diseases*, en el cual se constata que un 47 % de los ginecólogos encuestados no había oído hablar nunca de la enfermedad de Chagas.
2. *Detección de portadores*, que incluye el control riguroso en mujeres en edad fértil, embarazadas y neonatos de madres procedentes de áreas endémicas.
3. *Consejos previos a la concepción / parto.* Las mujeres implicadas en cualquiera de las categorías de riesgo deben ser cuidadosamente valoradas en la entrevista médica. Podría ser aconsejable realizar pruebas de laboratorio previas a la concepción en caso de acudir a un centro de planificación familiar, pero en mujeres ya gestantes estas pruebas adquieren carácter obligatorio.

Así pues, se recomienda el cribado universal de todas las mujeres latinoamericanas embarazadas en cualquier momento de la gestación o incluso en el mismo momento del parto mediante la realización de una determinación de anticuerpos anti-*T. cruzi* empleando una técnica inmunodiagnóstica convencional. Si la prueba efectuada diera un resultado negativo, ni la gestante ni el recién nacido precisan de nuevos controles.

En cualquier caso, el personal sanitario debe conocer y aplicar, como mínimo y perfectamente, protocolo de actuación existente, como por ejemplo los recogidos en el documento de consenso publicado por la Sociedad Española de Perinatología. La primera entrevista entre la matrona y la paciente constituye una buena oportunidad para la difusión de la información apuntada en la primera recomendación.

4. *Identificación de los recién nacidos a riesgo.* Se trata probablemente, de la medida más eficaz. Si la madre es seropositiva, se debe obtener sangre periférica para realizar la detección del parásito mediante observación directa, empleando cualquiera de los dos métodos de concentración descritos (ver capítulo 2) y / o PCR. Si la detección del parásito es positiva se debe iniciar el tratamiento de forma inmediata. Si la detección fuera negativa, se debe realizar un nuevo control parasitológico al mes instaurando tratamiento en ese momento. Si por el contrario el diagnóstico parasitológico volviera a ser negativo, se debe realizar un estudio parasitológico y serológico a los nueve meses instaurando tratamiento si alguno de ellos fuera positivo. Si tras nueve meses el estudio parasitológico y serológico son negativos, se confirma la ausencia de infección congénita. La detección de la IgM específica en el recién nacido no es valorable y por tanto no se recomienda.
5. *Tratamiento de la madre.* Dados los efectos adversos del tratamiento y de que muchas de las mujeres presentan una infección por *T. cruzi* en la fase crónica de la enfermedad, no está indicada ninguna actitud terapéutica durante la gestación y el período de lactancia. El tratamiento específico se ha de comenzar transcurrido el periodo de lactancia.
6. *Estudio de los hijos previos.* Es recomendable realizar el cribado serológico a sus hijos previos instaurando el tratamiento apropiado si se confirma la infección por el parásito.

BIBLIOGRAFÍA

1. Boletín Oficial del Estado. Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión. BOE núm. 225 de 20/09/2005.
2. Alonso JM, Fabre AR, Galván M, Lucero RH, Brusés BL, Kuc A. La enfermedad de Chagas en poblaciones aborígenes del Noreste de Argentina. *Enf Emerg.* 2009;11(3):115-118.
3. Altemani AM, Bittencourt AL, Lana AM. Immunohistochemical characterization of the inflammatory infiltrate in placental Chagas' disease: a qualitative and quantitative analysis. *Am J Trop Med Hyg.* 2000 Feb; 62 (2): 319-24.
4. Assal A, Aznar C. Chagas disease screening in the French blood donor population. Screening assays and donor selection. *Enf Emerg.* 2007; 9(Supl 1):127-128.
5. Barbosa Marcon GE, Durante Andrade P, Martins de Albuquerque D, da Silva Wanderley J, de Almeida EA, Guariento ME, Botelho Costa SC. Use of a nested polymerase chain reaction (N-PCR) to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients and patients with doubtful serologies. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002 May; 43 (1): 39-43.
6. Barcan L, Lunao C, Clara L, Sinagra A, Valledor A, De Rissioi AM, Gadanoa A, Garcia MM, de Santibanes E, Riarte A. Transmission of *T. cruzi* infection via liver transplantation to a nonreactive recipient for Chagas' disease. *Liver Transpl.* 2005 Sep; 11 (9): 1.112-6.
7. Becerril-Flores MA, Rangel-Flores E, Imbert-Palafox JL, Gómez-Gómez JV, Figueroa-Gutiérrez AH. Human infection and risk of transmission of Chagas disease in Hidalgo state, Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 2007; 76 (2): 318-323.
8. Beltrán M, Bermúdez MI, Forero MC, Ayala M, Rodríguez MJ. Control de la infección por *Trypanosoma cruzi* en donantes de sangre de Colombia, 2003. *Biomédica* 2005; 25 (4): 527-32.
9. Bern C, Montgomery SP, Herwaldt BL, Rassi A Jr, A Marin-Neto JA, Dantas RD, Maguire JH, Acquatella H, Morillo C, Kirchoff LV, Gilman RH, Reyes PA, Salvatella R, Moore AC. Evaluation and treatment of Chagas disease in the United States. A systematic review. *JAMA.* 2007 Nov 14; 298(18): 2.171-2.181.
10. Bern C, Montgomery SP. An Estimate of the Burden of Chagas Disease in the United States. *Clin Infect Dis.* 2009 Sep1; 49 (5): e52-e54.
11. Bern C, Montgomery SP, Katz L, Caglioti S, Stramer SL. Chagas disease and the US blood supply. *Curr Opin Infect Dis.* 2008 Oct; 21(5) : 476-482.
12. Berrizbietia M, Ndao M, Gottschalk M, Aché A, Vásquez F, Lacouture S, Medina M, Ward BJ. Development and Comparison of Enzyme Immunoassays for Diagnosis of Chagas' Disease Using Fixed Forms of *Trypanosoma cruzi* (Epimastigotes, Amastigotes, and Trypomastigotes) and Assessment of Antigen Stability for the Three Assays. *J Clin Microbiol.* 2004 Apr; 1.766-1.769.
13. Bittencourt AL, Sadigursky M, Barbosa HS. Doença de Chagas congénita. Estudo de 29 casos. *Rev Inst Med Trop.* 1975; 17:146.
14. Black CL, Ocaña-Mayorga S, Riner DK, Costales JA, Lascano MS, Arcos-Terán L, Preisser JS, Seed JR, and Grijalva MJ. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* in Rural Ecuador and Clustering of Seropositivity within Households. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 81(6): 1.035-1.040.
15. Blanco SB, Segura EL, Gurtler RE. [Control of congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Argentina]. *Medicina (B Aires).* 1999; 59 (Suppl 2): 138-42. Y Votta R, Marchese C, Sousa Martínez F, Lautrec L, González C, Arendt F, Toranzos A, Fernández Díaz H. La enfermedad de Chagas en la embarazada y el recién nacido. *Rev Soc Arg Ginec Obst.* 1974; 53:56.

16. Borges-Pereira J, Fonseca de Castro JA, Gonçalves da Silva A, Lago Zauza P, Pires Bulhões T, Gonçalves ME, Saraiva de Almeida E, Salmito MA, Montebello Pereira LR, Alves Filho FI, Correia-Lima FG, Rodrigues Coura J. Seroprevalence of Chagas disease infection in the State of Piauí, 2002. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006 Nov-Dec; 39(6): 530-539.
17. Borges-Pereira J, Sarquis O, Lago Zauza P, Britto C, Lima MM. Epidemiology of Chagas disease in four rural localities in Jaguaruana, State of Ceará. Seroprevalence of infection, parasitemia and clinical characteristics. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008 Jul-Ago; 41(4): 345-351.
18. Bowman NM, Kawa V, Levy MZ, Cornejo del Carpio JG, Cabrera L, Delgado F, Malaga F, Cordova Benzaquen E, Pinedo VV, Steurer F, Seitz AE, Gilman RH, Bern C. Chagas Disease Transmission in Periurban Communities of Arequipa, Peru. *Clin Infect Dis.* 2008 June 15; 46: 1.822-28.
19. Brutus L, Schneider D, Postigo J, Delgado W, Mollinedo S, Chippaux JP. Evidence of congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in a vector-free area of Bolivia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2007 Nov; 101 (11): 1.159-60.
20. Carlier Y. Enfermedad de Chagas congénita: del laboratorio a la salud pública. *Enf Emerg.* 2008;10(Supl 1): 49-53.
21. Castro I. Transfusión sanguínea y enfermedad de Chagas: iniciativas en Centro de Transfusión de España. *Enf Emerg.* 2006; 8 (Supl 1): 90-92.
22. Cevallos AM, Hernández R. *Trypanosoma cruzi* y la enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Publicación digital de la Dirección General de Servicios de Cómputo Académico. Universidad Nacional Autónoma de México.
23. Chagas C. Les formes nerveuses d'une nouvelle Tripanosomiase. *Nouv. Iconogr. Salpet.* 1.913; 26:1.
24. Chippaux JP, Santalla JA, Postigo JR, Romero M, Salas Clavijo NA, Schneider D and Brutus L. Sensitivity and specificity of Chagas Stat-Pak® test in Bolivia. *Trop Med Int Health.* 2009 Jul; 14(7): 732-735.
25. Comeau P. Canadian Blood Services tobscreen for Chagas disease. *CMAJ.* 2007 Jul 31; 177 (3): 242.
26. Comité de Parasitología, Departamento de Enfermedades Emergentes y Re-emergentes, Ministerio de Salud de Chile. Parte III. Enfermedad de Chagas en donantes de banco de sangre. *Rev Chil Infect.* 2008; 25 (4): 285-288.
27. Comité de Parasitología, Departamento de Enfermedades Emergentes y Re-emergentes, Ministerio de Salud de Chile. Parte V. Diagnóstico de laboratorio (octubre 2008). *Rev Chil Infect.* 2008; 25 (5): 380-383.
28. Consulta OPS sobre Enfermedad de Chagas Congénita, su epidemiología manejo. Montevideo, Uruguay. 2004 Jun 24-25.
29. Coronado X, Rozas M, Botto-Mahan C, Ortiz S, Cattán PE, Solari A. Molecular Epidemiology of Chagas Disease in the Wild Transmission Cycle: The Evaluation in the Sylvatic Vector *Mepraia spinolai* from an Endemic Area of Chile. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 81(4): 656-659.
30. Costa FC, Vitor RW, Antunes CM, Carneiro M. Chagas Disease Xontrol Programme in Brazil: a study of the effectiveness of 13 years of intervention. *Bull World Health Org.* 1998; 76(4): 385.
31. Cruz-Reyes A, Pickering-López JM. Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years- A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 2006 Jun; 101(4): 345-354.
32. Curso virtual de capacitación médica en el diagnóstico, manejo y tratamiento de la enfermedad de Chagas, OPS y MSF. Diagnóstico de Laboratorio de la enfermedad de Chagas. Control de la enfermedad de chagas, segundo informe del comité de expertos de la OMS, 2002.
33. de Godoy I, Alves Meira D. Seroprevalence of Chagas infection among inhabitants of mu-

- nicipalities in the Botucatu region, State of São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007 Sep-Oct; 40(5): 516-520.
34. de Moraes M, Guarneri AA, Girardi FP, Rodrigues JB, Eger I, Tyler KM, Steindel M, Grisard EC. Different serological cross-reactivity of *Trypanosoma rangeli* forms in *Trypanosoma cruzi*-infected patients sera. *Parasit Vectors.* 2008; 1: 20.
 35. Del Pino M, Coll O. Enfermedad de Chagas, transmisión maternofetal y experiencia recogida en nuestro centro. *Enf Emerg.* 2006; 8 (Supl 1): 79-81.
 36. Develoux M, Lescure FX, Jauréguiberry S, Jeannel D, Elghouzzi MH, Gay F, Paris L, Danis M, Pialoux G. Emergence of Chagas disease in Europe: description of the first cases observed in Latin American immigrants in mainland France. *Med Trop.* 2010 Feb; 70(1): 38-42.
 37. Di Pentima MC, Hwang LY, Skeeter CM, Edwards MS. Prevalence of antibody to *Trypanosoma cruzi* in pregnant Hispanic women in Houston. *Clin Infect Dis.* 1999 Jun; 28(6): 1.281-5.
 38. Diaz JH. Recognizing and Reducing the Risks of Chagas Disease (American Trypanosomiasis) in Travelers. *J Travel Med.* 2008; 15: 184-195.
 39. Díaz-Bello Z, Zavala-Jaspe R, Díaz-Villalobos M, Mauriello L, Maekelt A, Alarcón de Noya B. Diagnóstico confirmatorio de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en donantes referidos por bancos de sangre en Venezuela. *Invest Clin.* 2008; 49(2): 141-150.
 40. Do Amaral RP, Do Amaral RP, De Saidbeuy AE, Ribeiro WL, De Andrade J. Serologicla profile of solid organ donors in Santa Catarina, Brazil. *Transplant Proc.* 2008 Apr; 40 (3): 665-7.
 41. Feliciangeli MD, Sánchez-Martín MJ, Suárez B, Marrero R, Torrellas A, Bravo A, Medina M, Martínez C, Hernandez M, Duque N, Toyo J, Rangel R. Risk factors for *Trypanosoma cruzi* human infection in Barinas state, Venezuela. *Am J Trop Med Hyg.* 2007; 76 (5): 915-921.
 42. Ferrer JF, Esteban E, Murua A, Gutierrea S, Dube S, Poiesz B, Feldman L, Basombrio MA, Galligan D. Association and Epidemiologic Features of *Trypanosoma cruzi* and human T Cell Lymphotropic A Virus Type II in Inhabitants of the Paraguayan Gran Chaco. *Am J Trop Med Hyg.* 2003; 68 (2): 235-41.
 43. Flores-Chávez M, Cruz I, Rodríguez M, Nieto J, Franco E, Gárate T, Cañabate C. Comparación de técnicas serológicas convencionales y no convencionales para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas importada en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28(5): 284-293.
 44. Flores-Chávez M, de Fuentes I, Gárate T y Cañabate C. Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas importada. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007; 25 (3): 29-37.
 45. Flores-Chávez M, Fernández B, Puente S, Torres P, Rodríguez M, Monedero C, Cruz I, Gárate T, Cañabate C. Transfusional Chagas Disease: Parasitological and Serological Monitoring of an Infected Recipient and Blood Donor. *Clin Infect Dis.* 2008 Mar 1; 46: e44-e47.
 46. Frank M, Hegescheid B, Janitschke K, Weinke T. Prevalence and epidemiological significance of *Trypanosoma cruzi* infectio among Latin American immigrants in Berlin, Germany. *Infection.* 1997 Nov-Dec; 25(6): 355-8.
 47. Freilij H, Altchek J. Chagas congénito. En: Storino R, Milei J (eds). *Enfermedad de Chagas.* Ed. Buenos Aires: Mosby Doyma; 1994; 267-78.
 48. Furuchó CR, Umezawa ES, Almeida I, Freitas VL, Bezerra R, Nunes EV, Sanches MC, Guastini MC, Teixeira AR, Shikanai-Yasuda MA. Inconclusive results in conventional serological screening for Chagas' disease in blood banks: evaluation of cellular and humoral response. *Trop Med Int Health.* 2008 Dec; 13 (12): 1.527-1.533.
 49. Galavíz-Silva L, Molina-Garza DP, González-Santos MA, Mercado-Hernández R, Reyes González-Galavíz J, Rosales-Encina JL, and Molina-Garza ZJ. Update on Seroprevalen-

- ce of Anti- *Trypanosoma cruzi* Antibodies among Blood Donors in Northeast Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 81 (3): 404–406.
50. Galaz P, García S, Mercado R, Orrego E, Pagliero B, Contreras MC, Salinas P, Arancibia C. Aspectos parasitológicos y epidemiológicos de los donantes de sangre seropositivo para *Trypanosoma cruzi*, en un hospital universitario. *Rev Méd Chi.* 2007; 135: 1.291-95.
 51. Garrau O, Pelletier B, Aznar C. Why defer blood donor candidates because of an exposure risk to Chagas disease? *Transfus Clin Biol.* 2008; 15: 123–128.
 52. Gascón J, Pinazo MJ. Control de la transmisión vertical de *Trypanosoma cruzi* en España: principal reto de la patología importada. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008; 26(10): 607-8.
 53. Gascón J, Albajar P, Cañas E, Flores M, Gómez i Prat J, Herrera RN, Lafuente CA, Luciardí HL, Moncayo A, Molina L, Muñoz J, Puente S, Sanz G, Treviño B y Sergio-Salles X; Grupo de Trabajo del II Taller «Enfermedad de Chagas importada, un nuevo reto de Salud Pública». Documento de consenso de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional (SEM-TSI). Diagnóstico, manejo y tratamiento de la cardiopatía chagásica crónica en áreas donde la infección por *Trypanosoma cruzi* no es endémica. *Rev Esp Cardiol.* 2007; 60(3): 285-93.
 54. Gascon J, Bern C, Pinazo MJ. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Trop.* 2010 Jul-Aug; 115 (1): 22–27.
 55. Gascón J. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Chagas importada. *Med Clin (Barc).* 2005; 125 (6): 230-5.
 56. Gil-Brusola A, Giménez MJ, Bletrán J, Gómez MD, Gobernado M. Prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en el Departament de Salut 7 de Valencia. *Enf Emerg.* 2008; 10(Supl 1): 46-47.
 57. Gilson GJ, Harner KA, Abrams J, Izquierdo LA, Curet LB. Chagas disease in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1995 Oct; 86(4 Pt 2): 646-7.
 58. Gonzalez MA, Treviño B, Claveria I, Mongui A, Otero S, Gómez i Prat J. Enfermedad de Chagas importada en una gran ciudad europea: la experiencia en un centro especializado en Barcelona (2004-2006). *Enf Emerg.* 2009; 11(3): 119-123.
 59. González-Granado LI, Roojo P, González-Tomé MI, Camaño I, Salto E, Flores M. Cribado sistemático de la enfermedad de Chagas en embarazadas bolivianas y seguimiento de los recién nacidos. Experiencia de un año. *Enf Emerg.* 2009; 11(Supl 1): 18-19.
 60. Guerri-Guttenberg RA, Ciannaméo A, Di Girolamo C, Milei JJ. Chagas disease: an emerging public health problema in Italy. *Infez Med.* 2009 Mar; 17(1): 5-13.
 61. Guhl F, Jaramillo C, Carranza JC, Vallejo GA. Molecular Characterization and Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli*. *Arch Med Res.* 2002; 33: 362–370.
 62. Gürtler RE, Kitron U, Cecere MC, Segura EL, Cohen JE. Sustainable vector control and management of Chagas disease in the Gran Chaco, Argentina. *PNAS.* 2007 oct 9; 104 (41): 16.194-16.199.
 63. Gürtler RE, Segura EL, Cohen JE. Congenital Transmission of *Trypanosoma cruzi* Infection in Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2003 Jan; 9 (1): 29-32.
 64. Guzmán C, García L, Floriani J, Guerrero S, Torres M, Ramírez C, Velasco O. Riesgo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre en México. *Rev Panam Salud Pública/Pan Am J Public Health.* 1998; 4 (2).
 65. Hanford EJ, Zhan FB, Lu Y, Giordano A. Chagas disease in Texas: Recognizing the significance and implications of evidence in the literature. *Soc Sci Med.* 2007; 65: 60-79.
 66. Haro JL, Cañas E, Ruiz M, Nevado J, Nuñez JM, Cavañate C, Flores M. Enfermedad de Chagas importada. Experiencia preliminar. 2009; 11(Supl 1): 48-49.
 67. Health Canada Centre for Infectious Disease Prevention and Control Bureau of Infectious

- Diseases Blood-borne Pathogens Division. Blue Ribbon Committee on Bloodborne Parasitic Diseases. *CCDR*. 2002 Sep; 2:853.
68. Hermann E, Truyens C, Alonso-Vega C, Rodríguez P, Berthe A, Torrico F, Carlier Y. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* is associated with maternal enhanced parasitemia and decreased production of interferon-gamma in response to parasite antigens. *J Infect Dis*. 2004 Apr 1; 189 (7): 1.274-81.
 69. Hernández JM. Aspectos legales de la donación de sangre en relación con la enfermedad de Chagas. *Enf Emerg*. 2005; 7(Supl 1): 28-29.
 70. Howard J. La enfermedad de Chagas congénita. Colección de monografías biológicas. Universidad de Chile. Santiago, 1962.
 71. Hoyos R, Pacheco L, Agudelo LA, Zafra G, Blanco P, Triana O. Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas y factores de riesgo asociados en una población de Morroa, Sucre. *Biomédica*. 2007; 27(supl. 1): 130-6.
 72. Instituto Nacional de Estadística. Datos del Padrón Municipal. <http://www.ine.es>
 73. Jackson Y, Chappuis F, Loutan L. Chagas disease in Switzerland: managing an emerging infection and interrupting its transmission. *Rev Med Suisse*. 2008 May 14; 4(158): 1.212-4, 1.216-7.
 74. Jackson Y, Gétaz L, Wolff H, Holst M, Mauri A, Tardin A, Sztajzel J, Besse V, Loutan L, Gaspoz JM, Jannin J, Albajar Vinas P, Luquetti A, Chappuis F. Prevalence, Clinical Staging and Risk for Blood-Borne Transmission of Chagas Disease among Latin American Migrants in Geneva, Switzerland. *Emerg Infect Dis*. 2009 April; 15(4): 601-603.
 75. Jackson Y, Myers C, Diana A, Marti H-P, Wolff H, Chappuis F, Loutan I, Gervais L. Congenital Transmission of Chagas Disease in Latin American Immigrants in Switzerland. *Emerg Infect Dis*. 2009 Apr; 15(4): 601-603.
 76. Jannin J. The globalization of Chagas disease: A new challenge for elimination. *Enf Emerg*. 2008; 10(Supl1): 32.
 77. Juárez-Tobias S, Vaughan G, Torres-Montoya A, Escobar-Gutierrez A. Short Report: Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* Among Teenek Amerindian Residents of the Huasteca Region in San Luis Potosi, México. *Am J Trop Med Hyg*. 2009; 81(2): 219-222.
 78. Kerleguer A, Massard S, Janus G, Joussemet. Chagas disease: screening test evaluation in a blood military center, prevalence in the French Army. *Pathol Biol*. 2007; 55: 534-538.
 79. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Diagnóstico Microbiológico, texto y atlas color*. 5 ed. Ed med Panamericana; 2001.
 80. Leiby DA, Fucci MH, and Stumpf RJ. *Trypanosoma cruzi* in a low- to moderate-risk blood donor population: seroprevalence and possible congenital transmission. *Transfusion*. 1999 Mar; 39(3): 310-315.
 81. Leiby DA, Ross M, Herron Jr, Garratty G, Herwaldt BL. *Trypanosoma cruzi* Parasitemia in US Blood Donors with Serologic Evidence of Infection. *J Infect Dis*. 2008 Aug 15; 198(4): 609-613.
 82. Leiby DA, Wendel S, Takaoka DT, Fachini RM, Oliveira LC, Tibbals MA. Serologic testing for *Trypanosoma cruzi*: comparison of radioimmuno-precipitation assay with commercially available indirect immunofluorescence assay, indirect hemagglutination assay, and enzyme-linked immunosorbent assay kits. *J Clin Microbiol*. 2000 Feb; 38(2): 639-642.
 83. Len O, Pahissa A. Infecciones transmitidas por el donante. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007; 25(3): 204-12.
 84. Lescure FX, Paris L, Elghouzzi MH, Develoux M, Touafek F, Mazier D, Pialoux G. Experience of targeted screening of Chagas disease in Ile-de-France. *Bull Soc Pathol Exot*. 2009 Dec; 102(5): 295-9.
 85. Liarte DB, Murta SMF, Steindel M, Romanha AJ. *Trypanosoma cruzi*: Multiplex PCR to detect and classify strains according to groups I and II. *Exp Parasitol*. 2009; 123: 283-291.

86. Lóbrega AA, Garcia MH, Tatto E, Obara MT, Costa E, Sobel J, Araujo WN. Oral Transmission of Chagas Disease by Consumption of Açai Palm Fruit, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2009 Apr; 15(4): 653-55.
87. Lorca M, Contreras MC, Salinas P, Guerra A, Raychaudhuri S. Evaluación de una prueba rápida para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi* en suero. *Parasitol Latinoam.* 2008; 63: 29 - 33.
88. Lozano-Kasten F, Magallón-Gastélum E, Soto-Gutiérrez M, Kasten-Monges M, Bosseno MF, Brenière sf. Conocimiento epidemiológico y situación actual de la enfermedad de Chagas en el estado de Jalisco, México. *Salud Pública de Méx.* 2008 Nov-Dec; 50 (6).
89. Luquetti AO, Ponce C, Ponce E, Esfandiari J, Schijman A, Revollo S, Añez N, Zingales B, Ramgel-Aldao R, Gonzalez A, Levin MJ, Umezawa ES, Franco da Silveira J. Chagas' disease diagnosis: a multicentric evaluation of Chagas Stat- Pak®, a rapid immunochromatographic assay with recombinant proteins of *Trypanosoma cruzi*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003(46): 265-271.
90. Malan AK, Avelar E, Litwin SE, Hill HR, Litwin CM. Serological diagnosis of *Trypanosoma cruzi*: evaluation of three enzyme immunoassays and an indirect immunofluorescent assay. *J Med Microbiol.* 2006; 55: 171-178.
91. Mandell D, Bennett D. *Enfermedades Infecciosas, principios y práctica.* 5 ed. Vol 22.002. Ed med Panamericana.
92. Martín HB, Wills J. Chagas' disease in an obstetrical patient. *Int J Obstet Anesth.* 1996; 5: 95-98.
93. Martínez de Tejada B, Jackson Y, Paccolat C, Irion O. Groupe Chagas Congenital Geneve. Congenital Chagas disease in Geneva: diagnostic and clinical aspects. *Rev Med Suisse.* 2009 Oct 21; 5 (222): 2.091-2, 2.094-6.
94. Medrano-Mercado N, Ugarte-Fernández R, Butrón V, Uber-Busek S, Guerra HL, de Araújo-Jorge TC, Correa-Oliveira R. Urban transmission of Chagas disease in Cochabamba, Bolivia. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 2008 Aug; 103 (5): 423-430.
95. Melliez H, Jauréguiberry S, Develoux M, Dorrent R, Guiard-Schmid JB, Bonnard P, Ajana F, Rolla V, Carlier Y, Gay F, Elghouzzi MH, Danis M, Pialoux G. Chagas Disease, France. *Emerg Infect Dis.* 2008 Apr; 14(4): 644-45.
96. Mendoza CA, Córdova E, Juárez JA, Saldaña J, Torres A, Valsaquez R, Ríos J, Saldaña J, Vega S, Sánchez R. Prevalencia de la enfermedad de Chagas en puérperas y transmisión congénita en una zona endémica del Perú. *Pan. Am J Public Health.* 2005; 17(3): 147-153.
97. Meymandi SK, Traina MI, El-Gassier A, Ngab T, Labedi M, Wachsner RY. Prevalence of Chagas Disease in Las Angeles Latin American Immigrant Population with Cardiomyopathy. *J Card Fail.* 2008 Aug 1; 14(6): 272.
98. Moncayo A. Progreso en la interrupción de la transmisión de la enfermedad de Chagas en los países del Cono Sur. *Medicina (Buenos Aires).* 1999; 59(Supl.11): 120-124.
99. Moncayo Medina A. Revisión histórica de la situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en América. *Enf Emerg.* 2006; 8(Supl1): 53-55.
100. Moreno ML, Moretti E, Basso B, Frías Céspedes M, Catalá SS, Gorla DE. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection and vector control activities in rural communities of the southern Gran Chaco (Argentina). *Acta Trop.* 2010; 113: 257-262.
101. Moser DR, Kirchoff LV, Donelson JE. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA Amplification Using the Polymerase Chain Reaction. *J Clin Microbiol.* 1989 Jul; 27(7): 1.477-1.482.
102. Muñoz J, Coll O, Juncosa T, Vergés M, del Pino M, Fumado V, Bosch J, Posada EJ, Hernandez S, Fisa R, Bogueña JM, Gállego M, Sanz M, Portús M, Gascón J. Prevalence and Vertical Transmission of *Trypanosoma cruzi* Infection among Pregnant Latin American Women Attending 2 Maternity Clinics in Barcelona, Spain. *Clin Infect Dis.* 2009 Jun 15; 48 (12): 1.736-40.

103. Muñoz J, Gómez i Prat J, Gallego M, Gimeno F, Treviño B, López-Chejade P, Ribera O, Molina LI, Sanz S, Pinazo MJ, Riera C, Posada EJ, Sanz G, Portus M, Gascón J. Clinical profile of *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic setting: Immigration and Chagas disease in Barcelona (Spain). *Acta Trop.* 2009; 111: 51–55.
104. Muñoz J, Portú M, Corachan M, Fumadó V, Gascon J. Congenital *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic area. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2007; 101: 1.161-1.162.
105. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. *Manual of Clinical Microbiology.* 8 ed. 2003. Vol 2. AMS Press.
106. Nicholls RS, Cucunubá ZM, Knudson A, Flóre AC, Montilla M, Puerta CJ, Pavía PX. Enfermedad de Chagas aguda en Colombia, una entidad poco sospechada. Informe de 10 casos presentados en el periodo 2002 a 2005. *Bio-médica.* 2007; 27(supl. 1): 8-17.
107. Nowicki MJ, Chinchilla C, Corado L, Matsuoka L, Selby R, Steurer F, Mone T, Mendez R, Aswad S. Prevalence of Antibodies to *Trypanosoma cruzi* among Solid Organ Donors in Southern California: A Population at Risk. *Transplantation.* 2006 Feb 15; 81(3): 477-9.
108. Oliveira Dantas-Maia T, Castro C, Luquetti Ostermayer A, Macêdo V. Seroprevalence of American trypanosomiasis in adults in an area of the western Brazilian Amazon region. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007 Jul-Aug; 40(4): 436-442.
109. Olivera A, Guillén F, Cruz S, Córdova G, Reyer PA, Monteón VM. Serological and Parasitological Screening of *Trypanosoma cruzi* Infection in Mothers and Newborns Living in Two Chagasic Areas of Mexico. *Arch Med Res.* 2006 Aug; 37(6): 774-7.
110. Ortí Lucas RM, Parada Barba MC. Prevalencia de Tripanosomiasis Americana en Mujeres Gestantes de un Área de Salud. Valencia, 2005-2007. *Rev Esp Salud Pública.* 2009; 83: 543-555.
111. Otani MM, Vinelli E, Kirchhoff LV, del Pozo A, Sands A, Vercauteren G, Sabino EC. WHO comparative evaluation of serologic assays for Chagas disease. *Transfusion.* 2009; 49: 1.076-1.082
112. Parada MC, Roig R, Fraile MT, Navarro D, Borrás R. Prevalencia de Chagas en gestantes y en un banco de sangre de Valencia. *Enf Emerg.* 2008; 10(Supl 1): 47-48.
113. Paricio-Talayero JM, Benlloch-Muncharaz MJ, Collar-del-Castillo MJ, Rubio-Soriano A, Serrat-Pérez C, Magraner-Egea J, Landa-Rivera L, Sánchez-Palomares M, Beseler-Soto B, Santos-Serrano L, Ferriol-Camacho M, Mut-Buigues J, Tomás-Vila M, Alonso-Jiménez MC, Domínguez-Márquez V y Igual-Adell R. Vigilancia epidemiológica de la transmisión vertical de la enfermedad de Chagas en tres maternidades de la Comunidad Valenciana. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008; 26(10): 609-13.
114. Pérez de Ayala A, Pérez-Molina JA, Norman F, López-Vélez R. Chagasic Cardiomyopathy in Immigrants from Latin America to Spain. *Emerg Infect Dis.* 2009 Apr; 15(4): 607-8.
115. Pérez de Pedro I, Martín P, Santamaría, Faez Y, Blanc P, Pascual MJ, Cuesta MA, Villalta MC, Muñoz MI, Vidales I, Heiniger AI. Caso clínico de enfermedad de Chagas transfusional. *Enf Emerg.* 2008; 10(Supl 1): 14-15.
116. Pinto Dias JC. Enfermedad de Chagas: epidemiología y control. *Enf Emerg.* 2005; 7(Supl1): 11-18.
117. Pinto Dias JC. Southern Cone Initiative for the elimination of domestic populations of *Triatoma infestans* and the interruption of transfusional Chagas disease. Historical aspects, present situation, and perspectives. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol.* 2007; 102 (Suppl. I): 11-18.
118. Pirard M, Lihosli N, Boelaert M, Basanta P, Lopez F, Van der Stuyft P. The validity of serologic test for *trypanosoma cruzi* and the effectiveness of transfusional screening strategies in a hyperendemic region. *Transfusión.* 2005 Apr; 45(4): 554-61.
119. Piron M, Fisa R, Casamitjana N, López-Chejade P, Puig L, Vergés M, Gascón J, Gómez i Prat J, Portús M, Sauleda S. Development of

- a real-time PCR assay for *Trypanosoma cruzi* detection in blood samples. *Acta Trop.* 2007; 103: 195-200.
120. Piron M, Vergés M, Muñoz J, Casamitjana N, Sanz S, Maymó RM, Hernández JM, Puig L, Portús M, Gascón J, Sauleda S. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in at-risk blood donors in Catalonia (Spain). *Transfusion.* 2008 Sep; 48(9): 1.862-8.
 121. Portus Vinyeta M. La enfermedad de Chagas en España. *Ars Pharm.* 2010; 50(4): 195-204.
 122. Ramos JM, Milla A, Sánchez V, Verge M, Toro C, Gutiérrez F. Cribado prenatal de la infección por *Trypanosoma cruzi* y virus linfotrópico humano de células T en gestantes latinoamericanas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009; 27(3): 165-167.
 123. Ramos-Echeverría AA, Monteon-Padilla VM, Reyes-López PA. Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre. *Salud Publica de Mexico.* 1993 Ene-Feb; 35(1).
 124. Ramos-Ligonio A, Ramírez-Sánchez ME, González-Hernández JC, Rosales-Encina JL, López-Monteon A. Prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre del IMSS, Orizaba, Veracruz, México. *Salud Pública Méx.* 2006 Ene-Feb; 48(1): 13-21.
 125. Reesink HW. European strategies against the parasite transfusion risk Risque parasitaire, quelles stratégies en Europe? *Transfus Clin Biol.* 2005; 12: 1-4.
 126. Reiche EM, Cavazzana M Jr, Okamura H, Tagata EC, Jankevicius SI, Jankevicius JV. Evaluation of the western blot in the confirmatory serologic diagnosis of Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg.* 1998 Nov; 59(5): 750-6.
 127. Riera C, Guarro A, El Kassab H, Jorba JM, Castro M, Angrill R, Gállego M, FISA R, Martín V, Lobato A, Portús M. Congenital Transmission of *Trypanosoma Cruzi* In Europe (Spain): A Case Report. *Am J Trop Med Hyg.* 2006; 75(6): 1.078-1.081.
 128. Rodríguez-Bonfante C, Amaro A, García M, Mejías Wohlert LE, Guillén P, García RA, ÁlvarezN, Díaz M, Cárdenas E, Castillo S, Bonfante-Garrido R, Bonfante-Cabarcas R. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en el municipio Andrés Eloy Blanco, Lara, Venezuela: infestación triatomínica y seroprevalencia en humanos. *Epidemiology of Chagas disease in Andrés Eloy Blanco, Lara, Venezuela: triatomine infestation and human seroprevalence* *Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro.* 2007 May; 23(5): 1.133-1.140.
 129. Rodríguez-Guardado A, Rodríguez M, Alonso P, Seco C, Flores-Chavez P, Carton JA. Serological screening of Chagas disease in an immigrant population in Asturias, Spain proceeding from Chagas-endemic areas. *Scand J Infect Dis.* 2009; 41(19): 774-6.
 130. Rodríguez-Morales AJ, Benítez JA, Téllez I, Franco-Paredes C. Chagas disease screening among Latin American immigrants in non-endemic settings. *Travel Med Infect Dis.* 2008; 6: 162-163.
 131. Rodríguez-Morales AJ, Silvestre J, Cazorla-Perfetti DJ. Chagas disease in Barcelona, Spain. *Acta Trop.* 2009; 112: 86-87.
 132. Rojas de Arias A. Social and epidemiological determinants of Chagas disease: basic information for a surveillance and control policy in the Southern Cone. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro.* 2007; 102 (Suppl. 1): 19-21.
 133. Rojas ME, Várquez P, Villarreal MF, Velandia C, Vergara L, Morán-Borges YH, Ontiveros J, Calderón MY, Chiurillo-Siervo MA, Rodríguez-Bonfante CC, Aldana E, Concepción JL, Bonfante-Cabarcas RA. Estudio seroepidemiológico y entomológico sobre la enfermedad de Chagas en un área infestada por *Triatoma maculata* (Erichson 1848) en el centro-occidente de Venezuela. An entomological and seroepidemiological study of Chagas' disease in an area in central-western Venezuela infested with *Triatoma maculata* (Erichson 1848). *Cad. Saúde Pública, Río de Janeiro.* 2008; 24(10): 2.323-2.333.

134. Russomando G, Almiron M, Candia N, Franco L, Sánchez Z, de Guillén I. Implementation and evaluation of a locally sustainable system of prenatal diagnosis to detect cases of congenital Chagas disease in endemic areas of Paraguay. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005; 38(Suppl2): 49-54.
135. Russomando G, de Tomassone MM, de Guillén I, Acosta N, Vera N, Almiron M, Candia N, Calcena MF, Figueredo A. Treatment of congenital Chagas' disease diagnosed and followed up by the polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg*. 1998 Sep; 59(3): 487-91.
136. Salamanca DD, La Ruche G, Tarantola A, Degail MA, Jeannel D, Gastellu-Etchegorry. Chagas disease in France: estimated number of infected persons and cardiac diseases in 2009, by risk groups. *Bull Soc Pathol Exot*. 2009 Dec; 102(5): 285-90.
137. Salas NA, Cot M, Schneider D, Mendoza B, Santalla JA, Postigo J, Chippaux JP, Brutus L. Risk factors and consequences of congenital Chagas disease in Yacuiba, south Bolivia. *Trop Med Int Health*. 2007 Dec; 12(12): 1.498-1.505.
138. Salazar PM, Rojas G, Bucio, Cabrera M, Garcia G, Ruiz A, Guevara Y, Tapia R. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* y su asociación con factores de riesgo en menores de 18 años de Veracruz, México. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*. 2007; 22(2).
139. Saldaña A, Samudio F, Miranda A, Herrera LM, Saavedra SP, Cáceres L, Bayard V, Calzada E. Predominance of *Trypanosoma rangeli* infection in children from a Chagas disease endemic area in the west-shore of the Panama canal. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 2005 Nov; 100(7): 729-731.
140. Sánchez Negrette O, Mora MC, Basombrio MA. High prevalence of congenital *Trypanosoma cruzi* infection and family clustering in Salta, Argentina. *Pediatrics*. 2005 Jun; 115(6): e 668-72.
141. Sartori MJ, Mezzano L, Lin S, Munoz S, de Fábros SP. Role of placental alkaline phosphatase in the internalization of trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* into HEP2 cells. *Trop Med Int Health*. 2003 Sep; 8(9): 832-9.
142. Schipper H, McClarty BM, Mccrue KE, Nash RA, Penney JC. Tropical diseases encountered in Canada: 1. Chagas' disease. *CMA Journal*. 1980 Jan 26; 122: 165-72.
143. Schmunis GA, Yadon ZE. Chagas disease: A Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta Trop*. 2010; 115: 14-21.
144. Schmunis GA. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 2007; 102(Suppl.1): 75-85.
145. Schofield CJ, Jannin J, Salvatella R. The future of Chagas disease control. *Trends Parasitol*. 2006; 22(12): 583-88.
146. Serrano O, Mendoza F, Suárez B, Soto A. Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en dos localidades del municipio Costa de Oro, estado Aragua, Venezuela. *Biomédica*. 2008; 28: 108-15.
147. Shippey SH 3rd, Zahn CM, Cisar MM, Wu TJ, Satin AJ. Use of the placental perfusion model to evaluate transplacental passage of *Trypanosoma cruzi*. *Am J Obstet Gynecol*. 192(2): 586-91.
148. Soriano Arandes A, Muñoz Gutiérrez J, Verges Navarro M, Castells Doménech C, Portus Vinyeta M, Gascón Brustenga J. Prevalence of Chagas disease in the Latin American immigrant population in a primary health centre in Barcelona (Spain). *Acta Trop*. 2009; 112: 228-230.
149. Steele L S, MacPherson D W, Kim J, Keystone J S, Gushulak B D. The sero-prevalence of antibodies to *trypanosoma cruzi* in Latin American refugees and immigrants to Canada. *J Immigr Minor Health*. 2007 Jan; 9(1): 43-7.
150. Stramer SL, Dodd RY, Leiby DA, Herron RM, Mascola L, Rosenberg LJ, Lawaczek E, Kuehnert MJ, Montgomery S, Bern C, Moore A, Herwaldt B, Kun H. Blood Donor Screening

- for Chagas Disease - United States, 2006–2007. *MMWR*. 2007 Feb 23; 56(7): 141-143.
151. Takeno M, Seto S, Kawahara F, Yamachika S, Yano K, Tsuda N, Yanai T, Kanbara H. Chronic Chagas' Heart Disease in a Japanese-Brazilian Traveler. *Jpn Heart J*. 1999 May; 40(3): 375-82.
 152. Teixeira ARL, Hecht MM, Guimaro MC, Sousa AO, Nitz Nadjar. Patogénesis of Chagas's Disease: Parasite Persistence and Autoimmunity. *Clin Microbiol Rev*. 2011 Jul; 592:630.
 153. Theis JH. Latin American immigrants-blood donation and *Trypanosoma cruzi* transmission. *Am Heart J*. 1990 Dec; 120(6 Pt1): 1.483-84.
 154. Tobler LH, Contestable P, Pitina L, Groth H, Shaffer S, Blackburn GR, Warren H, Lee SR, Busch MP. Evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Chagas antibody in US blood donors. *Transfusion*. 2007 Jan; 47(1): 90-6.
 155. Torrico F, Alonso C, Billot C, Truyens C, Carlier Y. Relaciones materno-fetales en la infección con *T. cruzi* y la implementación de un programa nacional de detección y tratamiento de Chagas congénito en Bolivia. *Enf Emerg*. 2007; 9 (Supl 1): 98-105.
 156. Torrico F, Alonso Vega C, Suárez E, Téllez T, Brutus L, Rodríguez P, Torrico MC, Schneider D, Truyens C, Carlier Y. Are maternal re-infections with *Trypanosoma cruzi* associated with higher morbidity and mortality of congenital Chagas disease? *Trop Med Int Health*. 2006 May; 11(5): 628-635.
 157. Torrico F, Alonso-Vega C, Suárez E, Rodríguez P, Torrico MC, Le Dramaix M, Truyens C, Carlier Y. Maternal *Trypanosoma Cruzi* Infection, Pregnancy Outcome, Morbidity, and Mortality of Congenitally Infected and Non-Infected Newborns In Bolivia. *Am J Trop Med Hyg*. 70(2), 2004, pp. 201–209.
 158. Torrico F, Castro M, Solano M, Rodríguez P, Torrico MC, Truyens C, Carlier Y. Effects of maternal infection with *Trypanosoma cruzi* in pregnancy development and in the newborn infant. *Rev Soc Bras Med Tro*. 2005; 38(Supl 2): 73-6.
 159. Verani JR, Seitz A, Gilman RH, LaFuente C, Galdos-Cárdenas G, Kawai V, de LaFuente E, Ferrufino L, Bowman NM, Pinedo-Cancino V, Levy MZ, Steurer F, Todd CW, Kirchhoff LV, Cabrera L, Verastegui M, and Bern C. Geographic Variation in the Sensitivity of Recombinant Antigen-based Rapid Tests for Chronic *Trypanosoma cruzi* Infection. *Am J Trop Med Hyg*. 2009; 80 (3): 410-415.
 160. Villagrán ME, Sánchez-Moreno M, Marín C, Uribe M, de la Cruz JJ, de Diego JA. Seroprevalence to *Trypanosoma cruzi* in rural communities of the state of Queretaro (Mexico): statistical evaluation of tests. *Clin Biochem*. 2009 Jan; 42(1-2): 12-6.
 161. Villalba R, Fornes G, Álvarez MA, Román J, Rubio V, Fernández M, García JM, Vinals M, Torres A. Acute Chagas's disease in a recipient of a bone marrow transplant in Spain: case report. *Clin Inf Dis*. 1992 Feb; 14(2): 594-5.
 162. Virreira M, Torrico F, Truyens C, Alonso-Vega C, Solano M, Carlier Y, Svoboda M. Comparison of polymerase chain reaction methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg*. 2003 May. 68(5): 574-82.
 163. Virreira M, Truyens C, Alonso-Vega C, Brutus L, Jijena J, Torrico F, Carlier Y, Svoboda M. Comparison of *Trypanosoma cruzi* Lineages and Levels of Parasitic DNA in Infected Mothers and Their Newborns. *Am J Trop Med Hyg*. 2007; 77(1): 102-106.
 164. Williams JT, Mubiru JN, Schlabritz-Loutsevitch NE, Rubicz RC, VandeBerg JL, Dick EJ, Jr, and Hubbard GB. Polymerase Chain Reaction Detection of *Trypanosoma cruzi* in *Macaca fascicularis* Using Archived Tissues. *Am J Trop Med Hyg*. 2009; 81: 228-234.
 165. Workshop on Epidemiology and Social Determining Factors of Chagas Disease: basic information for surveillance and control policy in Latin America. Introduction, Regional Context, Precedings, and Recommendations. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 2007 oct 30; 120 (Suppl1): 5-10; Epub 2007 Nov 5.

166. Yadon ZE, Schmunis GA. Congenital Chagas Disease: estimating the Potential Risk in the United States. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 81(6): 927-933.

167. Zeledón R, Marín F, Calvo N, Lug E, Valle S. Distribution and ecological aspects of *Rhodnius pallescens* in Costa Rica and Nicaragua and their epidemiological implications. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 2006Feb; 101(1): 75-79.

ANEXOS

ANEXO I. SEROPREVALENCIA EN LOS DIFERENTES PAÍSES

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
62	Gürtler, 2007	Estudio comparativo de dos campañas de pulverización de insecticidas de las casas, efectos a largo plazo.	Población de Amamá, Chaco, Argentina.	Tras rociar las casas con insecticidas piretroides, se redujo rápida y enormemente la infestación domiciliar y la infección por <i>T. cruzi</i> en <i>T. infestans</i> y en perros y más gradualmente se observó al disminución en la seroprevalencia en los niños menores de 15 años. En este mismo estudio se observó 2 o 3 años después que como no se había continuado con el control del vector, la transmisión resurgió. Una nueva campaña y ésta continuada, suprimió el restablecimiento de colonias de chinches y conllevó a la interrupción local de la transmisión de <i>T. cruzi</i> .
100	Moreno, 2009	Se estudió la seroprevalencia con diseño de corte mediante ELISA, confirmado por IFI y HAI.	5.240 personas que siempre han vivido en ambiente rural (192 comunidades) de entre seis meses y 40 años.	La seroprevalencia fue 5,4 %, 7,9 % y 7,5 % en las áreas del norte, noroeste y oeste (6,95 % la media) y aumentaba con la edad, especialmente en los mayores de 15 años. Los niños menores de 15 años mostraron una seroprevalencia de 0,59 % en el norte y oeste, y de 3,08 % en el noroeste. Análisis comparativos muestran que actividades de control de vector y los cambios en el uso de la tierra en las últimas décadas son las causas más probables de la disminución de la seroprevalencia. Los resultados sugieren que probablemente se hay reducido o incluso interrumpido la transmisión vectorial en las áreas norte y oeste, pero todavía está activa en los asentamientos rurales del noroeste de la provincia de Córdoba.
2	Alonso, 2009	Estudio de seroprevalencia.	455 individuos (2-62 años), 145 de la etnia Quom o Toba residentes en dos localidades de la provincia de Chaco, 199 de la etnia Wichi, residentes en otras dos localidades de Chaco y 111 de la etnia Pilagá en la provincia de Formosa.	En un estudio publicado en 2009, de poblaciones aborígenes en el noroeste de Argentina, la seroprevalencia fue de 54,3 % (247/455); 49,6 % en la provincia de de Formosa y 57,3 % en la de Chaco, aumentando con la edad pero con altos valores para los menores de 15 años. Estos datos muestran la magnitud de la infección chagásica entre los aborígenes de ciertas áreas de la región del Gran Chaco americano. Esta región presenta características eco-epidemiológicas propias por lo que se requieren intervenciones enfocadas a la propia región y no enfocadas a áreas con límites políticos-administrativos.
94	Medrano-Mercado, 2008	Estudio de los datos demográficos desde 1995 a 1999 de niños de dos zonas de la ciudad de Cochabamba.	2.218 niños de entre 5 y 13 años de dos zonas con diferencias sociales, ambientales y de condiciones agrícolas.	Transmisión activa de la infección en el área urbana. Seroprevalencia de 25 % en la Zona Sur (ZS) y del 19 % en la Zona Norte (ZN). Se observó alto riesgo de infección en niños de 5 a 9 años en la ZS, pero en la ZN, el mayor riesgo se producía entre los niños de 10 a 13 años, con odds ratio para la infección tres veces mayor en la ZN que en la ZS. Esta diferencia puede ser secundaria a la tasa de infección del vector (79 % en ZS y 37 % en ZN). Se observaron alteraciones del electrocardiograma (ZS=40 %, ZN=17 %) lo que puede indicar que las exposiciones continuas a la infección y a la reinfección pueden desarrollar una forma severa de la infección en una edad temprana. Con estos resultados, ya no se puede definir esta enfermedad como puramente rural puesto que en zonas urbanas también se han localizado nuevas infecciones.

.../...

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
30	Costa, 1998	Estudio epidemiológico: datos de un estudio de 1975-80, un estudio quasi-experimental de 1987 el estudio actual, 1997.	156 casas fueron rociadas y se tomaron muestras de sangre a 653 habitantes.	13 años (1983-1995) después de la aplicación del programa nacional se ha reducido un 83,5 % quedando la prevalencia en un 2,3 %, siendo 0 % en los grupos de edad entre 1-6 y 7-14 años. Cinco años de intervenciones no fueron suficientes para producir cambios en las tasas de infección.
108	Oliveira, 2007	Estudio seroepidemiológico. Detección de Ac por IFI, HAI y ELISA.	1.055 personas de la región oeste de la Amazonia brasileña (844 de área urbana y 211 de área rural).	Se identificó infección en nueve personas entre 16 y 72 años con una prevalencia de 0,6 % (IC95 %: 0,2-1,4) en áreas urbanas y 1,9 % (IC95 %: 0,6-4,5) en áreas rurales.
16	Borges-Pereira, 2006	Evaluación epidemiológica de la situación de la infección en el estado de Piauí, entre agosto y diciembre de 2002. Detección de AC por IFI.	36.399 habitantes tomados al azar del estado.	La seroprevalencia fue del 1,9 % y variaba de 0,1 % en niños menores de cinco años al 6,6 % en personas mayores de 79 años. La seroprevalencia fue significativamente mayor en mujeres (2,1 %) y en mujeres que con historial de aborto espontáneo (5,4 %). En comparación con el estudio serológico nacional (1975-1980), se había reducido significativamente la seroprevalencia (4,0 % a 1,9 %), lo que indica la eficacia de las medidas de control del vector llevadas a cabo entre 1975 y 2002.
33	Godoy I, 2007	Estudio epidemiológico en municipios de la región Botucatu. Detección de Ac por IFI, HAI y ELISA.	58 personas con xenodiagnóstico positivo divididas entre los nacidos antes y después de 1983.	En ambos grupos eran personas de bajos niveles educacionales y que habían trabajado en profesiones no cualificadas. Han mejorado las condiciones de las casas pero han aumentado los habitantes de zonas rurales. Los individuos nacidos antes de 1983 tenían un conocimiento y contacto con el vector estadísticamente mayor que los nacidos con posterioridad a esa fecha. El ELISA presentó la mayor sensibilidad.
17	Borges-Pereira, 2007	Estudio de prevalencia. Detección de Ac por IFI, HAI y ELISA.	541 habitantes de cuatro localidades del municipio de Jaguaruana, estado de Ceará.	La seroprevalencia era 3,1 %, siendo mayor en los en las personas con mayor edad (0,8 % en el grupo de edad entre 10 y 19 años hasta 11,8 % en los mayores de 70 años). De las personas con serología positiva, un 11,8 % presentaba parasitemia positiva por xenodiagnóstico y un 75 % PCR positiva. La tasa de prevalencia es parecida a la encontrada en el área de Caatinga de Piauí y mayor que en el área de Sertao de Paraíba, aunque en todas ellas los vectores históricos sean <i>T. brasiliensis</i> y <i>T. pseudomaculata</i> .
86	Nóbrega, 2009	Estudio de cohortes retrospectivo del 11 al 16 de diciembre de 2006. Examen parasitológico de la capa leucocitaria y gota gruesa. Detección de Ac por IFI, HAI y ELISA.	10 participantes del encuentro con examen parasitológico positivo.	De los 178 casos de Chagas agudos descritos en el estado de Pará, en 11 de ellos se implicó el consumo del fruto de la palmera «açai».
42	Ferrer, 2003	Estudio de la infección por <i>T. cruzi</i> y HTLV-II y consecuencias de la coinfección. Detección de Ac anti- <i>T. cruzi</i> por ELISA confirmación por HAI, de Ac anti-HTLV-II por ELISA y realización de la PCR.	519 indios paleoamericanos, 140 menonites descendientes de alemanes y 21 paraguayos descendientes de españoles. Con un rango de edad de entre 2 y 80 años.	La seroprevalencia de <i>T. cruzi</i> y HTLV-II respectivamente fue: paleoamerindios (43,5 % y 22,1 %) y los no-Indios (2,5 % y 3,7 %). La infección por <i>T. cruzi</i> aumentaba con la edad, era mayor en varones y se agrupaba en familias. La diferencia de prevalencia entre indios y no-indios se asoció a la diferente exposición entre los dos grupos a los factores de riesgo de la infección, como son el tipo de casa y la presencia de perros en los lugares donde se duerme.

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
106	Nicholls, 2007	Estudio descriptivo utilizando la información de historias clínicas, fichas epidemiológicas, informes de exámenes de laboratorio y análisis de sangre, se tabularon variables demográficas, hallazgos clínicos, paraclínicos y de laboratorio. Extensiones de sangre periférica, determinación de Ac por IFI, aislamiento en cultivo e inoculación en ratones, PCR y análisis isoenzimático.	10 casos de enfermedad de Chagas aguda notificados al Grupo de Parasitología del Instituto Nacional de Salud entre 2002 y 2005.	El 100 % de los casos procedían de zonas endémicas; tres en Putumayo, dos en cada uno de los departamentos de Arauca, Casanare, Norte de Santander y uno en Santander. La presunta vía de transmisión fue vectorial; en el 30 % había convivencia con el vector. El 70 % fueron adultos entre los 18 y los 50 años y el 30 % niños entre los seis meses y los dos años. El síntoma predominante fue fiebre en el 90 %. Los signos de puerta de entrada fueron infrecuentes; solamente un paciente presentó un probable signo de Romaña. Tres presentaron miocarditis, dos desarrollaron falla cardíaca, y uno taponamiento cardíaco. La parasitemia fue evidente en nueve casos; las pruebas serológicas fueron reactivas en cinco casos y también en cinco casos se logró aislamiento del parásito. El análisis isoenzimático identificó <i>Trypanosoma cruzi</i> grupo I.
71	Hoyos, 2007	Estudio para identificar factores de riesgo y determinar la seroprevalencia de una población del municipio de Morroa, departamento de Sucre, Colombia. Detección de Ac por ELISA, confirmación por IFI y PCR la parasitemia.	122 personas pertenecientes al área rural (n=76) y urbana (n=46).	Cuatro personas positivas por ELISA (3,28 %); sin embargo, negativas por HAI y PCR. La serología discordante fue definida con prueba de IFI, encontrándose una de las cuatro personas positivas. La población analizada mostró una baja presencia de anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> . No fue posible determinar la presencia del parásito en sangre usando la prueba PCR. Los principales factores de riesgo presentes fueron casas con techos de palmas, piso de tierra, paredes de bahareque y madera, y la presencia de reservorios (animales domésticos).
14	Carla, 2009	Estudio corte de la seroprevalencia de <i>T. cruzi</i> entre 2001 y 2003 en tres provincias rurales de Ecuador: Manabí, Guayas y Loja.	3.286 personas de 997 casas.	La seroprevalencia fue: Manabí (5,7 %), Guayas (1 %), y Loja (3,6 %). En las dos primeras provincias la seroprevalencia aumentaba al aumentar la edad pero en Loja la mayor prevalencia la presentaban los niños menores de 10 años. Estos resultados indican que en Ecuador existe la transmisión de <i>T. cruzi</i> aunque exista variedad geográfica en dicha transmisión (odds ratio dos veces mayor en personas que conviven con una persona seropositiva en Loja).
18	Bowman, 2008	Estudio serológico en menores de 18 años en distritos periurbanos de Arequipa, Perú.	1.615 menores de 18 años y 639 adultos.	La seroprevalencia en niños fue de 4,7 %, aumentando el riesgo de infección un 12 % por cada año de vida, presentando los adultos la misma probabilidad de estar infectados que los adolescentes. Los modelos de máxima probabilidad sugieren que la transmisión de <i>T. cruzi</i> empieza en esta comunidad en menores de 20 años.
41	Feliciangeli, 2007	Estudio de prevalencia en niños menores de 15 años para estudiar los factores de riesgo de infección por <i>T. cruzi</i> .	3.296 niños del estado de Barinas, Venezuela.	La seroprevalencia fue 0,12 % (4 niños). La madre de uno era positiva, lo que indica que la transmisión congénita es un posible factor de riesgo en esta área. Un modelo de regresión logística multivariable mostró una asociación entre la edad el suelo sucio y la distancia de las casa a las palmeras. El riesgo de infección es mayor con presencia de <i>R. prolixus</i> selvático y colonias transitorias o residuales. Los programas de rociamiento con insecticidas no parecen justificados en este escenario y son necesarios nuevos métodos para el control de la enfermedad de Chagas.

.../...

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
128	Rodríguez-Bonfante, 2007	Despistaje serológico y recolección de vectores en cuatro comunidades rurales del municipio Andrés Eloy Blanco, Estado Lara, Venezuela. La muestra fue escogida en forma sistemática y aleatoria basada en conglomerados familiares. Detección de Ac por IFI.	869 habitantes de las cuatro comunidades rurales.	La prevalencia fue de 6,9 % (n = 60); de los cuales 46,66 % son femeninos, 53,33 % masculinos y 60 % mayores de 40 años. Se observó que 5 (8,33 %) de los seropositivos eran menores de 10 años y 10 (16,66 %) menores de 20 años. <i>Rhodnius prolixus</i> y <i>Panstrongylus geniculatus</i> fueron los triatominos capturados, con índice de infestación de 1,9 y 10,54 %, índice de colonización, del 0 y 18,18 % en las viviendas infestadas e índice de infección a <i>T. cruzi</i> del 20 y 5,07 %, respectivamente. Existe una transmisión activa de la enfermedad de Chagas en el Municipio Andrés Eloy Blanco en las últimas dos décadas y que <i>P. geniculatus</i> está substituyendo a <i>R. prolixus</i> como vector de la enfermedad de Chagas.
133	Rojas, 2008	Estudio seroepidemiológico, entomológico y de factores de riesgo para la infestación de las viviendas en un área infestada por <i>Triatoma maculata</i> (Parroquia Caguas, Municipio Urdaneta, Estado Lara, Venezuela). Detección de Ac por ELISA y MABA. Detección de infección en triatominos por microscopía óptica y PCR.	140 viviendas, 509 personas y 110 cánidos.	La seroprevalencia en humanos de 1,57 % y en cánidos de 6,36 %. De los 545 triatominos capturados 97,98 % fueron <i>T. maculata</i> , 1,65 % <i>Eratyrus mucronatus</i> y 0,37 % <i>Panstrongylus geniculatus</i> ; con índices vectoriales de infección 0,36 %, infestación 16,4 %, colonización 39,1 %, coinfección 8,6 % y dispersión 100 %. La presencia de vectores en el domicilio y peridomicilio estuvo asociada a la presencia de gallinas, desorden en el peridomicilio, caprinos, gallineros y/o distribución del domicilio. <i>T. maculata</i> es el vector predominante en la región, con capacidad de infestar y colonizar el domicilio y estaría involucrado en la transmisión de la enfermedad de Chagas.
146	Serrano, 2008	Trabajo de campo descriptivo de corte transversal en dos comunidades rurales del municipio Costa de Oro, estado Aragua, Venezuela. Detección de Ac por HAI y ELISA.	195 menores de 16 años.	La seroprevalencia en niños menores de 16 años fue de 1,02 %. Se recolectaron 16 triatominos de tres especies diferentes: <i>Panstrongylus geniculatus</i> , <i>Rhodnius pictipes</i> y <i>Eratyrus mucronatus</i> . No se encontraron triatominos positivos para <i>T. cruzi</i> . El índice de infestación en el lugar y las casas fue de 100 % y 10,9 %, respectivamente; no se encontró asociación entre la serología positiva para <i>T. cruzi</i> y las variables estudiadas. El 95 % de los encuestados conocen el insecto transmisor de la enfermedad, pero menos del 46 % saben qué es la enfermedad, cómo se transmite y los daños que produce.
167	Zeledón, 2006	Estudio prospectivo de la infestación de casas en zonas limítrofes de Nicaragua y Costa Rica. Estudio serológico de los niños que viven en estas áreas. Detección de Ac por ELISA, confirmación con HAI e IFI.	Niños entre 7 y 14 años realizado en las zonas fronterizas de Costa Rica (811) y Nicaragua (665).	<i>R. prolixus</i> presente en algunas áreas de Nicaragua se ha introducido recientemente en Costa Rica. <i>R. pallescens</i> es un visitante común de las casa en ambos lados de la frontera. <i>T. dimidiata</i> , especie doméstica ampliamente distribuida, no se encontró en las áreas de Costa Rica estudiadas y apareció en raras ocasiones en Nicaragua. Pequeño grado de transmisión de la enfermedad de Chagas en Costa Rica (0,24 %) -sólo fueron positivas niñas- y más comúnmente en Nicaragua (6,7 %).

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
139	Saldaña, 2005	Estudio de anticuerpos frente a <i>T. cruzi</i> y <i>T. rangeli</i> mediante IFI y ELISA.	206 sueros de niños (3-14 años).	Los resultados de seroprevalencia fueron 2,9 % para <i>T. cruzi</i> y 6,8 % para <i>T. rangeli</i> . Esta alta prevalencia de anticuerpos frente a <i>T. rangeli</i> da idea del contacto entre el hombre y el vector, lo que supone un alto riesgo de sufrir enfermedad de Chagas en esta población.
31	Cruz-Reyes, 2006	Estudio bibliográfico de las publicaciones entre 1928 y 2004 de la enfermedad de Chagas en México.	907 publicaciones agrupadas en 19 temas.	Se han establecido mapas con la distribución de la enfermedad de acuerdo a varios criterios: enfermedad, vectores, reservorios y cepas para identificar regiones de riesgo, planificar programas de control del vector y estudiar la asociación de vectores. En los 31 estados se han informado 16.979 casos con una prevalencia total de 5,88 %, variando entre 1,04 % en Baja California Sur y 18,99 % en Querétaro.
138	Salazar, 2007	Estudio epidemiológico transversal, menores de 18 años que vivía, en 10 jurisdicciones sanitarias del estado de Veracruz, México, entre 2000 y 2001. Detección de Ac por HAI y ELISA en muestras de suero tomadas en papel de filtro, se confirmaron mediante las pruebas de HAI, ELISA e IFI en suero. Cuestionario para evaluar las condiciones de la vivienda. Cálculo de los índices entomológicos de triatomos intra y peridomiciliarios. Análisis bifactorial y multifactorial por regresión logística no condicional de los resultados.	1.544 menores de 18 años de poblaciones con menos de 500 habitantes.	De las 150 personas inicialmente reactivas, 14 resultaron positivas (5 mediante la prueba de HAI, ELISA e IFI; 6 por HAI y ELISA y 3 por ELISA e IFI), para una prevalencia general de 0,91 % (IC95 %: 0,85 % a 0,94 %). Los casos positivos residían en cinco jurisdicciones sanitarias y la mayor prevalencia se encontró en Tuxpan: 5,2 % (IC95 %: 1,2 % a 9,0 %). Los factores de riesgo fueron el haber visto chinches dentro de la vivienda y los techos con fisuras. La única especie del agente transmisor capturada fue <i>Triatoma dimidiata</i> . Los índices entomológicos de infestación, colonización e infección natural fueron: 10,9 %, 50,0 % y 9,0 %, respectivamente.
7	Becerril-Flores, 2007	Estudio serológico de la infección en tres zonas del estado de Hidalgo: El Ahorcado, San Antonio Tezoquipan y Caltimacan. Determinación de Ac por ELISA e HAI. Estudio de la infestación de las casa de las tres zonas.	2.258 personas entre 8 y 63 años de edad y 543 casas.	El Ahorcado (5,13 %), San Antonio Tezoquipan (4,76 %) y Caltimacan (1,94 %), las personas seropositivas más jóvenes vivían en Caltimacan. Se encontraron tres especies de vectores <i>Triatoma barberi</i> , <i>Triatoma mexicana</i> , y <i>Triatoma dimidiata</i> , El Ahorcado muestra la mayor probabilidad de infección por los vectores encontrados, donde <i>T. barberi</i> muestra los aislados más virulentos de <i>T. cruzi</i> .
88	Lozano-Casten, 2008	Estudio descriptivo de los casos agudos y crónicos de enfermedad de Chagas en México, entre los años de 1967 y 2006.	122 casos	En 2008 en Jalisco se encontró una seroprevalencia en bancos de sangre de la ciudad de Guadalajara de 1,2 % y del 15 % en la población general. Se necesita incrementar las investigaciones sobre la epidemiología de la enfermedad de Chagas, así como los estudios clínicos para determinar la salud de los individuos y las poblaciones.

.../...

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
77	Juarez-Tobias, 2009	Estudio prospectivo serológico y de factores de riesgo de una comunidad aislada.	999 amerindios teenek procedentes de nueve comunidades de la región Huasteca en el estado de San Luís de Potosí.	La seroprevalencia media fue 6,5 %, variando en las nueve comunidades entre 2 % y el 13 %. Por edades, la seroprevalencia variaba entre el 4 % (entre 25-44 años) y 14 % (mayores de 65 años).
160	Villagran, 2009	Estudio transversal para determinar la seroprevalencia en áreas rurales del estado de Querétaro, México. Detección de Ac por HAI, ELISA e IFI.	1.029 muestras de pacientes de esta áreas rurales.	Seroprevalencia de 6,6 %. Los tests con mayor reactividad fueron ELISA, seguido por IF e IFI. También la técnica ELISA presentó la mayor sensibilidad y los mayores valores predictivos.
121	Viyenta, 2010	Revisión de la situación epidemiológica y del conocimiento de esta parasitosis actuales en España.		Epidemiología de la enfermedad de Chagas en España.
143	Schmunis, 2009	Estimación de la seroprevalencia en los países no endémicos.	Datos de censos y periódicos.	Epidemiología de la enfermedad de Chagas en los países no endémicos.
144	Schmunis, 2007	Estimación de la seroprevalencia en los países no endémicos.	Datos de censos y periódicos.	Epidemiología de la enfermedad de Chagas en los países no endémicos.
54	Gascon, 2010	Estudio descriptivo.		Epidemiología de la enfermedad de Chagas en países no endémicos y direcciones futuras dirigidas al control de los pacientes.
142	Schipper, 1980	Revisión de casos en Canadá.	Dos casos.	Un inmigrante argentino nacido en Chile con fallo cardiaco congestivo y un niño con enfermedad subaguda de padres seropositivos diagnosticado postmortem.
149	Steele, 2007	Estudio de seroprevalencia entre los latinoamericanos que viven en Canadá.	102 inmigrantes.	La seroprevalencia que se encontró fue del 1 % (n=1, IC95 %: 0,2-5,3 %).
130	Rodríguez-Morales, 2008	Carta al editor.		Comentarios al artículo de Steele.
10	Bern, 2009	Estimación de la carga de la enfermedad de Chagas en Estados Unidos.	Cifras publicadas de la población inmigrante.	Se estima que 300.176 individuos presentan la infección, con 30.000-45.000 casos de cardiomiopatía y hay anualmente entre 63-315 casos de infección congénita.
97	Meymandi, 2008	Estudio de seroprevalencia de cardiopatía chagásica en los Estados Unidos. Detección de Ac por IFI y ELISA.	65 pacientes con cardiopatía idiopática de cardiología del hospital de Los Ángeles.	Edad media 52,9 años. Ha vivido una media de 20,8 años en los EEUU. Procedían de: México (40), El Salvador (16), Guatemala (4), Nicaragua (2), Honduras (2) y Argentina (1). 13,8 % fueron positivos y sus países de origen: cinco de El Salvador (31,2 %), tres de México (7,5 %), y uno de Guatemala (25 %). Es importante el diagnóstico etiológico de estas patologías cardiacas para un correcto pronóstico y tratamiento.
38	Díaz, 2008	Revisión de la enfermedad de Chagas. Estudio descriptivo de los primeros casos de enfermedad de Chagas autóctona en Estados Unidos.	Seis casos.	Los primeros casos se remontan a 1955 (un niño), 1984 (una señora de 56 años) y 1996 (dos niños) en Texas. El quinto caso se produjo en un niño de Tennessee y en 2007 el sexto caso en Nueva Orleans (Luisiana), una señora de 74 años.

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
65	Hanford, 2007	Revisión de la literatura para reconocer la evidencia de la enfermedad de Chagas endémica en Texas.	Diversos artículos.	A pesar de los paralelismos socio-económicos y las condiciones medioambientales entre Texas y la mayoría de América Latina, la enfermedad de Chagas en Texas no tiene gran relevancia. El reservorio humano debido a la inmigración está aumentando y puede llegar a aumentar la incidencia de la enfermedad si no se toman las medidas adecuadas de prevención (intervención y educación) y resultará una carga para el sistema de salud.
151	Takeno, 1999	Estudio descriptivo.	Un caso.	Un brasileño de 53 años que acude al hospital universitario de Nagasaki con una enfermedad de Chagas cardíaca crónica, confirmado por la demostración de <i>T. cruzi</i> en sangre y la presencia de anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> .
95	Melliez, 2008	Estudio descriptivo.	Nueve casos de enfermedad de Chagas en Francia.	Entre 2004 y 2006 se diagnosticaron en Francia nueve casos de enfermedad de Chagas importada: un caso de miocarditis aguda (había estado dos meses en Guayana Francesa), cuatro casos de cardiomiopatía crónica (Bolivia) y cuatro casos de Chagas crónico indeterminado (Bolivia), con una edad media de 38 años (24-48) y la mayoría con antecedentes familiares de cardiomiopatía crónica.
60	Guerri-Guttenberg, 2009		Comunidad de inmigrantes latinoamericanos de Italia.	El 9,5 % de los inmigrantes Italianos son de Latinoamérica y puesto que la infección se puede transmitir en países no endémicos por vía congénita, por transplantes de órganos y por transfusiones sanguíneas, la enfermedad de Chagas ha de considerarse como un problema de salud pública emergente, de modo que se necesitan guías clínicas y protocolos de salud para tratar esta enfermedad.
73	Jackson, 2008			En Suiza se han diagnosticado varios casos de enfermedad de Chagas crónica, por lo que se hace necesario un cribado sistemático de los grupos de riesgo y el tratamiento de los individuos infectados para conseguir interrumpir la transmisión congénita y mejorar a largo tiempo el pronóstico.
46	Frank, 1997	Investigación de la infección por <i>T. cruzi</i> y evaluación de los posibles factores de riesgo.	100 inmigrantes latinoamericanos que viven en Berlín.	Seroprevalencia del 2 % por IFI y confirmada por ELISA. Una persona seropositiva tenía factores de riesgo. Estos resultados indican que el cribado en latinoamericanos está indicado para reducir el riesgo de transmisión por transfusión sanguínea y transmisión congénita.
36	Develoux, 2010	Estudio descriptivo de los de enfermedad de Chagas en París 2004-2007.	18 casos de enfermedad de Chagas.	Se recopilaron 18 casos en dos hospitales de París. 17 provenían de Bolivia (Cochabamba y Santa Cruz) y uno de El Salvador. 11 presentaron Chagas crónico indeterminado, y 7 cardiomiopatía crónica. Se trataba de 12 mujeres y seis hombres con edad media de 38 años. Basándose en estos datos, las mayores prioridades en Francia son la mejora del diagnóstico serológico y la prevención de la transmisión vertical.
136	Salamanca, 2009	Estimación de prevalencia.		En 2009 se estimó que 1.464 (895-2619) personas están infectadas por <i>T. cruzi</i> en Francia y que entre 63 y 555 pueden evolucionar a una cardiomiopatía.

.../...

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
84	Lescure, 2009	Estudio prospectivo para determinar el valor del cribado en pacientes de riesgo en Francia entre junio de 2008 y junio de 2009. Detección de Ac por IFI y ELISAs. Detección del parásito por PCR.	254 voluntarios.	La seroprevalencia de 23,6 % con una media de edad de 33 años (11-63). El 87,4 % eran bolivianos y el 100 % presentaba la forma crónica (23 % con manifestaciones cardíacas funcionales y 22 % con problemas gastrointestinales. La PCR fue positiva en el 61 % de los individuos seropositivos.
161	Villalba, 1993	Estudio descriptivo.	Un caso.	Enfermedad de Chagas aguda en un receptor de médula ósea.
131	Rodríguez-Morales, 2009	Carta al editor.		
129	Rodríguez-Guardado, 2009	Estudio prospectivo para el cribado de la población inmigrante realizado en la Unidad de Medicina Tropical del Hospital Central de Asturias entre junio de 2006 y junio de 2008.	64 pacientes.	14 % presentaron anticuerpos, seis pacientes procedían de Bolivia, dos de Paraguay y uno de Brasil.
148	Soriano, 2009	Estudio de prevalencia descriptivo para determinar la seroprevalencia en niños y en mujeres en edad fértil realizado en un centro atención primaria Barcelona entre marzo de 2006 y marzo de 2007. Detección de Ac por ICT confirmación por ELISA.	108 niños (entre 0 y 14 años). 116 mujeres en edad fértil (entre 15 y 45 años).	De los niños 108, 13 reaccionaron con ICT y sólo tres presentaron anticuerpos con ELISA, estos tres niños tenían entre 2-5 meses de edad y habían nacido en España de madres procedentes de Bolivia (Sucre y Santa Cruz). Realizado el análisis a los ocho meses los tres niños habían negativizado. El grupo de mujeres presentó una seroprevalencia de 4,3 %, las cinco mujeres positivas procedían de Bolivia (Sucre, Santa Cruz y Cochabamba).
58	González, 2009	Estudio descriptivo transversal de todos los pacientes latinoamericanos diagnosticados de enfermedad de Chagas y atendidos en la Unidad de Medicina Tropical y Salud Ambiental de Barcelona durante 2004-2006.	216 pacientes.	A 46 pacientes se les diagnosticó enfermedad de Chagas (21,3 %) y 17 tenían una prueba parasitológica positiva (PCR). 82,6 % eran mujeres. 42 procedían de Bolivia (52,38 % de Cochabamba), dos de Brasil, una de Honduras, y una de Chile. Motivos de consulta: diagnóstico previo 37 %, eosinofilia 17 % y cribado general 15 %. El porcentaje de pacientes que acudió por cuenta propia fue el mismo que los derivados por el médico de cabecera.

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
103	Muñoz, 2009	Estudio descriptivo de inmigrantes latinoamericanos en dos centros de enfermedades importados de Barcelona durante tres años.	489 pacientes.	La seroprevalencia fue de 41 %, la mayoría procedentes de Bolivia. 19 % presentaba alteraciones cardiacas, y un 9 % problemas digestivos.
56	Gil-Brusola, 2008	Estudio prospectivo de sueros de inmigrantes latinoamericanos enviados al Servicio de Microbiología del H.U. La Fe de Valencia. Detección de Ac por ELISA e IP.	102 sueros de 97 pacientes.	Pacientes provenientes de Bolivia (54 %), Ecuador (22 %), Argentina, Perú, Paraguay, República Dominicana, Colombia y Venezuela (distribuidos equitativamente) con una seroprevalencia de 12,5 %, la mayoría procedentes de Bolivia (92 %) y mujeres (75 %), cuatro de ellas gestantes.
66	Haro, 2009	Estudio prospectivo observacional de todos los pacientes atendidos en el H. U Virgen del Rocío diagnosticados de enfermedad de Chagas entre enero de 2005 y septiembre de 2009. Recogida de datos demográficos, epidemiológicos y clínicos. Detección de Ac por IFI y ELISA.	150 pacientes.	Seroprevalencia del 22 %. La mayoría, 32, de Bolivia (22 de Santa Cruz, nueve de Cochabamba y dos de Chuquisaca). Un 66,7 % (22) de los pacientes presentaron una PCR positiva en sangre. 16 se encontraban en la fase crónica indeterminada (asintomática) de la enfermedad. El resto 15 tenía manifestaciones cardiacas y dos enfermedad diseminada (transmisión materno-fetal y receptora de trasplante hepático).
114	Pérez de Ayala, 2009	Estudio descriptivos de casos de cardiopatía chagásica y prevalencias de la enfermedad en España.		

ANEXO II. SEROPREVALENCIA EN DONANTES

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
69	Hernández, 2005			Aspectos legales de la donación de sangre en relación con la enfermedad de Chagas: países endémicos y no endémicos.
39	Díaz-Bello, 2008	Estudio para establecer el diagnóstico confirmatorio de Ac anti- <i>T. cruzi</i> . que acudieron durante 48 meses entre los años 1997-1998 y 2003-2004 a la Sección de Inmunología del Instituto de Medicina Tropical en Caracas. Detección de Ac mediante al menos dos de las siguiente técnicas: ELISA, HAI, FC.	254 donantes de diferentes bancos de sangre de Caracas.	Se confirmó la presencia de anticuerpos en 129/254 (50,79 %) de los individuos por las técnicas de ELISA-IgG o RHI y RFC. El «xenodiagnóstico artificial» fue positivo en 10/118 (8,5 %) personas con serología positiva. De 129 donantes encontrados reactivos por técnicas serológicas, 68 eran residentes de la región capital y 61 del interior del país. Asimismo, 113 nacieron en el interior del país, ocho en Caracas y ocho en Colombia. En 12 individuos confirmados serológicamente se constató la donación de sangre en mínimo cuatro ocasiones antes de detectar la infección. El presente estudio resalta la importancia de la búsqueda activa de individuos con Enfermedad de Chagas a través de la detección de anticuerpos contra <i>T. cruzi</i> en la evaluación integral de donantes de sangre para descartar el riesgo de transmisión a otras personas. Muchos de estos donantes con anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> , la gran mayoría clínicamente asintomáticos, habían donado sangre en varias ocasiones previas al diagnóstico.
4	Assal, 2007	Estudio comparativo de cinco ELISAs comerciales.	Cuatro ELISAs con antígenos crudos y uno con antígenos recombinantes	Debido al incremento de la prevalencia de la enfermedad de Chagas en la Guayana Francesa, las autoridades sanitarias decidieron interrumpir la donación de sangre en este territorio e implementar un cribado para <i>T. cruzi</i> en los donantes con riesgo de padecer la enfermedad. El cribado (dos pruebas de ELISA con antígenos recombinantes una y crudos la otra) se realizará en donantes de sangre de riesgo: personas nacidas en o de madre nacida en zona endémica y donantes que han viajado a América Latina, independientemente de la duración de su estancia.
1	Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre			Se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión.
83	Len, 207	Estudio descriptivo de las infecciones transmitidas por el donante.		En el contexto del trasplante, la evaluación previa del donante representa una actuación muy importante que se debe efectuar con sumo rigor, para minimizar al máximo el riesgo de transmisión de ciertos procesos infecciosos. Los profesionales que se dedican a esta función deben conocer muy bien las posibles patologías implicadas así como el conjunto de infecciones emergentes, que como consecuencia de la globalización, adquieren día a día un creciente protagonismo.

.../...

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
80	Leiby, 1998	Estudio de seroprevalencia a todos los donantes de sangre de la Región Suroeste de la Cruz Roja Americana, durante 10 meses. Detección de Ac por ELISA, confirmación por RIPA.	100.089 donaciones de sangre	150 fueron positivas y dos (0,03 %) fueron confirmadas como positivas. Los tres donantes procedían de Waco, Texas, donde la seroprevalencia estimada es de una por cada 7.700. De estos tres donantes, dos no informaron sobre factores de riesgo: habían nacido en Estados Unidos, no habían viajado a áreas endémicas. Ambos tenían historiales familiares extensos de enfermedad cardíaca y complicaciones. Los donantes seropositivos para <i>T. cruzi</i> están presentes en poblaciones con bajo o moderado riesgo, aunque con tasas bajas. La presencia de donantes de sangre seropositivos sin los factores de riesgo identificables, va en contra del uso de preguntar como cribado el lugar de nacimiento o residencia y también sugiere que otras rutas de transmisión, incluyendo la congénita, se deben considerar para conseguir aumentar la seguridad de la sangre.
81	Leiby, 2008	Estudio para afirmar que los donantes de sangre de Estados Unidos seropositivos para <i>T. cruzi</i> tenían infección persistente con parasitemia demostrable mucho tiempo después de adquirir la infección, desde noviembre de 1997 hasta septiembre de 2000 en los Servicios regionales de sangre del sur de California de la Cruz Roja americana. Estudio por PCR y hemocultivo.	Hasta tres muestras de sangre de los donantes 52 seropositivos; de la mayoría de los participantes (67 %) sólo se obtuvo una muestra.	Al evaluarlos después de dos décadas de su emigración, 33 donantes (63 %) presentaron PCR positiva; tres también tuvieron el cultivo positivo. De estos donantes 51 (98 %) la mayoría (80 %) procedían de México (n=25 o de El Salvador (n=16). Los tres cultivos positivos procedían del El Salvador, Argentina y Colombia.
67	Health Canada Centre for Infectious Disease Prevention and Control Bureau of Infectious Diseases Blood-borne Pathogens Division			En Canadá existen varios sistemas de vigilancia informales para conocer el impacto de las infecciones parasitarias en el país. Esta vigilancia es importante debido al número de refugiados e inmigrantes que llegan a Canadá.
144	Schmunis, 2007	Estimación de la seroprevalencia en los países no endémicos.	Datos de censos y periódicos.	Epidemiología de la enfermedad de Chagas en los países no endémicos.

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
123	Ramos-Echevarría, 1993	Estudio prospectivo de la seroprevalencia de donantes de sangre en México durante un periodo de tres meses. Detección de Ac por ELISA-DOT, ELISA y Western blot.	1.076 donantes	La transfusión sanguínea es la segunda vía de infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> . Con objeto de conocer la seroprevalencia de anticuerpos IgG anti <i>Trypanosoma cruzi</i> se investigaron 1.076 donantes de sangre del Instituto Nacional de Cardiología «Ignacio Chávez». A todos los donantes se les aplicó un cuestionario sobre su lugar de nacimiento y residencia los primeros años de vida. La prevalencia de anticuerpos IgG anti- <i>T. cruzi</i> , confirmada con una prueba de alta especificidad, en la población estudiada fue 0.28 %, cifra superior a la detectada para otros agentes infecciosos. La investigación de anticuerpos contra <i>T. cruzi</i> debe ser incorporada a las actividades de control y seguridad biológica de los bancos de sangre.
145	Schofield, 2006	Estudio descriptivo.		Control de la enfermedad de Chagas a través del: vector, detección de casos y tratamiento, donantes y mujeres embarazadas.
8	Beltrán, 2005	Estudio para la evaluación de algunas estrategias de control de la infección en donantes y estimar el riesgo transfusional por enfermedad de Chagas.	482.371 unidades en 2003.	De las unidades captadas, 99,91 % fueron analizadas para anti- <i>T. cruzi</i> , resultando reactivas 0,42 %. Casanare presentó la mayor reactividad con 107/1.487 (7,2 %), de los cuales se confirmaron como positivos 75. En el PEED participaron 45,5 % bancos, la totalidad de los cuales utilizó ELISA para cribado; se hallaron 1,1 % resultados falsos positivos y ningún falso negativo. En 12 departamentos que analizaron 338.563 unidades para anti- <i>T. cruzi</i> , 1.298 casos fueron notificados como reactivos y 1.108 (85,4 %) se confirmaron por la prueba de IFI, registrando una positividad de 0,33 %
26	Comité de parasitología, Dpto. de Enfermedades Emergentes y Re-Emergentes, Ministerio de Salud de Chile		Parte III.	En este capítulo se establece la importancia de otorgar seguridad desde el punto de vista biológico y garantizar transfusiones de calidad y sin agentes infectantes detectables. Se analiza la importancia de la infección por <i>T. cruzi</i> a través de transfusión sanguínea, el cribado obligatorio que se efectúa en Chile y las técnicas serológicas empleadas, la seroprevalencia encontrada en los bancos de sangre, la importancia de la confirmación y las técnicas empleadas y, la notificación al donante una vez confirmada la infección. Se acompaña de una carta tipo de notificación al donante positivo y una interesante guía para efectuar la consejería que debe seguir a la notificación, adjuntándose un formato de una ficha clínico-epidemiológica para su derivación a médico para estudio y tratamiento.

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
50	Galaz, 2006	Estudio descriptivo de aspectos parasitológicos y epidemiológicos de las donantes de sangre seropositivos para <i>T. cruzi</i> entre 2000 y 2004.	30.309 donantes.	A 75 donantes ELISA positivo y a 79 ELISA negativos se les realizó una encuesta sobre antecedentes personales y familiares sobre picadura por vinchuca. También se les realizó una extracción de sangre para realizar una PCR y xenodiagnóstico. La frecuencia anual de donantes seropositivos varió entre 0,31 % y 0,45 %. 26 % de los seropositivos y 6 % de los seronegativos comentaron picadura por el vector, esta diferencia fue estadísticamente significativa. La PCR y el xenodiagnóstico fueron positivos en 52 (69 %) y 16 (21 %) de los donantes seropositivos respectivamente. El xenodiagnóstico fue positivo en cinco pacientes con PCR negativa. En las regiones donde no se hace cribado en donantes de sangre se encontró una seroprevalencia de 0,15 % y en las zonas no endémicas de transmisión vectorial la prevalencia varía entre 0,6 y 1,5 por 1.000, estimándose con esto una cifra de 1 por cada 1.000 para bancos de sangre en estas zonas.
165	Guzmán, 1998	Encuesta centinela de 18 bancos de sangre de la Secretaría de Salud en 1994 para conocer el riesgo de transmisión por transfusión de sangre y estimar la prevalencia nacional de infección en los candidatos a donantes, para disponer de indicadores generales de la situación de la enfermedad y de la relevancia de ese tipo de transmisión. Detección de Ac por HAI, confirmación por IFI.	64.969 donantes.	Para el análisis de los resultados, los centros se agruparon según el flujo migratorio para detectar cualquier posible relación entre este y la transmisión de la enfermedad de Chagas en el país. Se detectaron 996 personas con resultados positivos, que representan una prevalencia de 1,5 % (IC95 %: 1,44 a 1,63). La concordancia de los resultados finales entre los laboratorios locales y el laboratorio central presentó un índice kappa de 0,87 (IC95 %: 0,862 a 0,877). En las ciudades con los índices más altos de emigración, el riesgo de transmisión fue tres veces mayor que en las ciudades receptoras de inmigrantes (razón de posibilidades = 2,82; IC95 %: 2,18 a 3,65). Se recomienda ampliar el cribado serológico obligatorio en todo México, ya que debido al fenómeno de las migraciones, la definición de área endémica es inestable.
124	Ramos-Ligonio, 2005	Estudio de seroprevalencia de donantes de sangre del Hospital General Regional del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en la ciudad de Orizaba, Veracruz, desde octubre de 2001 a enero de 2002. Detección de Ac por ELISA, WB e IFI.	420 muestras de suero.	Los donantes de sangre fueron seronegativos para HBV, HCV, BrA, VDRL y HIV. Se identificaron dos individuos seropositivos por las pruebas de ELISA, Western blot e IFI, con una seroprevalencia de 0,48 %. Se muestran evidencias de seropositividad para <i>T. cruzi</i> en donadores de sangre del HGRO, lo que sugiere la existencia de riesgo de contaminación por transfusión sanguínea. Por tal motivo, es necesario aplicar programas para el cribado serológico a través de técnicas inmunológicas con alta sensibilidad y especificidad.

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
49	Galavíz-Silva, 2009	Estudio de la seroprevalencia entre donantes de sangre en el Hospital Cardiológico, Seguridad Social del Instituto Mexicano, Nuevo León. Detección de Ac por ELISA y HAI.	1.000 donantes.	Seropositividad de 2,08 %, más exactamente el 2,59 % procedían de Nuevo México, el 2,07 % de Coahuila y 3,96 % de Tamaulipas. Esta seroprevalencia es mayor que la del estudio realizado en 1998, 0,5 %. Lo que corrobora la importancia de realizar un programa de vigilancia para detectar y prevenir la transfusión de <i>T. cruzi</i> de donantes asintomáticos en los bancos de sangre situados en ciudades urbanas consideradas como no endémicas.
125	Reesink, 2005	Estudio descriptivo.		Estrategias para evitar la transmisión de parásitos por la sangre en Europa.
153	Theis, 1990	Carta al editor.		En 1985 se había advertido sobre la posibilidad de la infección vía transfusional. Es cada vez más importante que se obtenga la historia del país de origen y que la posibilidad de infección por <i>T. cruzi</i> sea evaluada serológicamente donde la historia del donante sea compatible con la exposición. La recomendación de Kirchhoff de eliminar a los donantes provenientes de áreas endémicas no es una solución práctica. Por lo tanto, ya a principios de los noventa se aconsejó tomar acciones, mientras las infecciones por <i>T. cruzi</i> post-transfusionales son raras, para desarrollar métodos serológicos más simples y disponibles para el cribado de los donantes de sangre procedentes de áreas endémicas de enfermedad de Chagas
150	Stramer, 2007	Estudio para detectar infección por <i>T. cruzi</i> en donantes de sangre durante agosto de 2006 a enero de 2007.	148.969 muestras de sangre.	61 donantes fueron repetitivamente positivos. 50 (el 79 % de los donantes del centro de Los Ángeles), 9 (el 14 % de los donantes del centro de Oakland) y 4 (el 6 % de los donantes del centro de Tucson). 32 donaciones se confirmaron (mediante RIPA) positivas para anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> .
107	Nowicki, 2006	Estudio para cribado de donantes de órganos mediante la detección de anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> .	404 muestras de donantes de órganos del sur de California.	A las muestras se les realizó un cribado con ELISA (6 positivos) y tres de ellos fueron posteriormente repetidamente positivos. Uno de ellos se confirmó mediante IFI (0,25 % de seroprevalencia). En áreas con un elevado número de inmigrantes de países endémicos de <i>T. cruzi</i> , el cribado de anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> en donantes puede ser beneficioso.
154	Tobler, 2007	Evaluación de un nuevo ELISA para la detección de Ac anti- <i>T. cruzi</i> .	Dos poblaciones: 1) 10.192 donaciones de donantes de sangre de El Paso, Texas y 2) 178 muestras de Sudamérica que eran presumiblemente positivas y los suministró el fabricante del test.	El 0,03 % (n=3) de los donantes fueron inicialmente positivos. Después repetidamente positivos y confirmados mediante RIPA. De las muestras de Sudamérica 173 fueron reactivas con el ELISA. Las cinco muestras no reactivas tampoco reaccionaron con IFI pero fueron positivas mediante RIPA. Por lo tanto, la sensibilidad del ELISA fue del 97,7 %. Este estudio indica que este ELISA tiene una excelente sensibilidad y especificidad para la detección de anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> en donantes.

.../...

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
11	Bern, 2008	Estudio de la enfermedad de Chagas en los bancos de sangre de Estados Unidos desde enero de 2007 a mitad de junio de 2008.	14 millones de donaciones de sangre.	1.851 muestras fueron repetidamente positivas, confirmando un 28 % mediante RIPA. Se han detectado 519 donaciones infectadas por <i>T. cruzi</i> . Casi el 80 % de estos datos los han recogido la Cruz Roja Americana y Blood Systems Laboratories: alrededor de 13 millones de donaciones 1.651 repetidamente positivas provenientes de 47 estados. 442 donantes confirmados positivos mediante RIPA procedían de 37 estados y de Puerto Rico, pero 253 (57 %) procedían de sólo dos estados, California y Florida. La seroprevalencia general fue de 1:27.500 (0,004 %) con las tasas más elevadas en Florida 1:3800 (0,026 %), seguido de California 1:8.300 (0,012 %). Con datos preliminares, 28 % de 104 infectados habían nacido en México, 26 % en Estados Unidos, 16 % en El Salvador y 11 % en Bolivia; el resto de seropositivos habían nacido en otros nueve países de Centro y Sudamérica. Entre los donantes infectados confirmados nacidos en Estados Unidos, 10 no informaron de factores de riesgo específicos para la infección por <i>T. cruzi</i> . Todos estos donantes informaron sobre actividades al aire libre en el sur de los Estados Unidos, lo que puede indicar la exposición autóctona potencial al vector o a reservorios animales.
25	Comeau, 2007	Revisión de la situación de los bancos de sangre en Canadá.		Los potenciales enfermos de Chagas se han cribado durante años en Canadá a través de un cuestionario sobre las visitas o el haber vivido en las áreas afectadas.
78	Kerleguer, 2007	Un estudio de seroprevalencia en donantes de sangre militares franceses durante 11 meses (2006-07).	1.579 sueros de donantes de sangre.	Se encontró una positividad (con dos ELISAs) de 0,07 % entre los donantes que estaban en área endémica (7,95 % en la población general).
51	Garraud, 2008	Estudio descriptivo.		Estrategias llevadas a cabo por los distintos bancos de sangre para evitar la transmisión de la enfermedad de Chagas a través de la transfusión de sangre.

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
74	Jackson, 2010	Estudio de seroprevalencia en los donantes de sangre de Ginebra, entre junio y diciembre de 2008. Recogida de datos por cuestionario. Detección de Ac por dos ELISAs.	1.012 inmigrantes latinoamericanos.	Se reclutaron 1.012 personas, 83 % mujeres, 48 % bolivianos (n= 485). El 96 % no tenía permiso de residencia. La enfermedad de Chagas fue diagnosticada en 130 personas (12,8 %) incluyendo 127 bolivianos (26,2 %). A los sujetos infectados se les realizó un chequeo médico completo. Todos los pacientes se encontraban en la fase crónica de la enfermedad, incluyendo 11,3 % con complicaciones cardíacas y 0,8 % con complicaciones digestivas. Se analizaron los factores predictivos mediante un análisis de regresión logística univariable y multivariable. Los factores predictivos de la enfermedad fueron: origen boliviano, informe de infección maternal y más de 35 años. 22 (16,9 %) de los individuos infectados ya habían donado sangre, 24 (18,5 %) y 34 (26,2 %) pensaban donar sangre y órganos fuera de Latino América, respectivamente. El cribado de individuos con riesgo debiera implantarse en todos los países no endémicos y debe incluir a los inmigrantes indocumentados.
121 Rep*	Viyenta, 2010	Revisión de la situación epidemiológica y del conocimiento de esta parasitosis actuales en España.		Epidemiología de la enfermedad de Chagas en España.
21	Castro, 2006	Encuesta a los 22 centros existentes en España para conocer el manejo de la sangre procedente de potenciales enfermos de Chagas.	19 centros y Servicios de Transfundidos.	En siete Centros y Servicios de Transfusión ya se ha implantado la detección de anticuerpos anti- <i>T.cruzi</i> de forma sistemática. Las Comunidades Autónomas con menor proporción de ciudadanos procedentes de áreas endémicas: Andalucía (1,3 %), Aragón (2,4 %), Cantabria (1,9 %), Castilla La Mancha (2,1 %) y Extremadura (0,6 %) han optado, en general, por la exclusión de los candidatos de zonas endémicas y no hacen análisis. Sin embargo, Asturias (1,4 %), y Galicia (1,4 %) con tasas igualmente bajas, han introducido las técnicas de detección y Castilla León (1,4 %) está en plena fase de implantación. Baleares (5,5 %), Canarias (4 %), Navarra (4,5 %) y Murcia (5,7 %), con proporciones más altas, están en la fase de implantación de las técnicas de detección, por lo que todavía no disponen de datos. Madrid (6,9 %), Cataluña (4,3 %) y Valencia (3,5 %), tienen las cifras más altas de población hispanoamericana y concentran al 61 % de las personas de riesgo de todo el país.
120	Pirón, 2008	Seroprevalencia de la infección por <i>T. cruzi</i> en donantes de sangre en Cataluña.	1.770 donantes.	La seroprevalencia general es de 0,62 %. De un total de 1.770 donantes estudiados, a 11 se les confirmó la infección, la tasa más elevada (10,2 %) se observó en donantes bolivianos. Un dato interesante es que uno de los donantes seropositivos era un español que había vivido durante varios años en un área endémico. Además, uno de los 11 donantes positivos presentaba parasitemia.

.../...

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
112	Parada, 2008	Estudio durante dos años de la prevalencia de la enfermedad de Chagas en gestantes en los hospitales Clínico Universitario (HCU), General Universitario (HGU) y en el Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana (CTCV). Cribado por IP y ELISA. Confirmación por IFI.	HGU 268 cribados. HCU 358 pruebas. CTCV 3625.	HGU 28 positivas (10,4 %). HCU 35 positivas (9,8 %). CTCV 45 positivos (1,24 %). La prevalencia es más alta de lo esperado, sobre todo porque la población boliviana es predominante en la ciudad de Valencia. Por ello creen necesario realizar las pruebas a todas las gestantes latinoamericanas y en los donante para evitar la transmisión de la enfermedad.
45	Flores-Chavéz, 2008	Estudio descriptivo de Enfermedad de Chagas transfusional. La detección de anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> se realizó mediante IFI y ELISAs. Y el DNA de <i>T. cruzi</i> se detectó mediante PCR.	Un caso.	En 2005 un paciente con leucemia murió debido a una infección por <i>T. cruzi</i> adquirida por vía transfusional con sangre contaminada. Al paciente se le transfundió sangre 176 donantes; 168 vivían en Madrid (159 de origen español, un brasileño, un ecuatoriano, dos colombianos, tres franceses, un polaco y un alemán), cinco vivían en Albacete y tres en Jaén. La PCR positiva en el paciente apareció por primera vez 48 días después de la transfusión de plaquetas. En el estudio de los donantes al procedente de Brasil se le detectaron anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> . En una primera PCR de 5 ml de sangre no se detectó DNA de <i>T. cruzi</i> , pero tras una segunda extracción de 10 ml el resultado fue positivo.
115	Pérez de Pedro, 2008	Estudio descriptivo.	Un caso de enfermedad de Chagas transfusional.	El 14 de junio de 2007 en un paciente diagnosticado de aplasia medular severa se detectó infección aguda por <i>T. cruzi</i> que llevaba con síntomas desde el 20 de mayo. Se le trató durante 80 días desapareciendo los síntomas. El paciente había sido transfundido con plaquetas el 28 de febrero de un donante de origen boliviano. El donante estaba asintomático, se le inició tratamiento pero hubo de suspenderse por los efectos adversos. De ese mismo donante otras 13 personas habían recibido hemoderivados. De los ocho receptores vivos sólo una persona presentó PCR y serología positiva y se le realizó tratamiento completo sin incidencias.
120	Piron		Donantes de sangre en Cataluña.	

* Rep- Figura en otro anexo

ANEXO III. SEROPREVALENCIA EN EMBARAZADAS

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
52	Gascón, 2008	Editorial.		Reto de la patología importada: control de la transmisión vertical de <i>T. cruzi</i> .
20	Carlier, 2008	Desarrollo de la enfermedad de Chagas congénita.		
155	Torrigo, 2007			Infección por <i>T. cruzi</i> y gestación. Enfermedad de Chagas congénita. Implementación de un Programa Nacional de detección y tratamiento de Chagas congénito en Bolivia.
65 Rep*	Hanford, 2007	Revisión de la literatura para reconocer la evidencia de la enfermedad de Chagas endémica en Texas.	Diversos artículos.	A pesar de los paralelismos socio-económicos y las condiciones medioambientales entre Texas y la mayoría de América Latina, la enfermedad de Chagas en Texas no tiene gran relevancia. El reservorio humano debido a la inmigración está aumentando y puede llegar a aumentar la incidencia de la enfermedad si no se toman las medidas adecuadas de prevención (intervención y educación), y resultará una carga para el sistema de salud.
75	Jackson Y, 2009	Descripción de dos casos y estudio retrospectivo para detectar la enfermedad de Chagas en mujeres latinoamericanas embarazadas en el Hospital Universitario de Ginebra.	72 mujeres latinoamericanas sin papeles embarazadas.	Procedían de Bolivia (n=30), Brasil (n=22), Perú (n=6), Ecuador (5), Colombia (4), Chile (2), Honduras (1) y con origen desconocido (2). Siete mujeres tuvieron IFI positivas (9,7 %) la mayoría de Bolivia (16,6 %). Se han publicado un bajo número de infecciones congénitas por <i>T. cruzi</i> en países no endémicos. La ausencia de programas de cribado de la enfermedad de Chagas en embarazadas y neonatos puede explicar este bajo número, pero también pueden estar involucrados otros factores (poca accesibilidad a la sanidad durante el embarazo por la situación legal,...).
35	Del Pino, 2006	Estudio descriptivo.	Protocolo de investigación de la enfermedad de Chagas congénito.	Transmisión e infección vertical.
15	Blanco, 1999	Estudio de la prevalencia de la enfermedad de Chagas en embarazadas y en sus hijos. Detección de la infección en recién nacido por la técnica del hematocrito.	58.196 mujeres embarazadas de 13 provincias.	9 % de seropositividad a <i>T. cruzi</i> . Probabilidad de transmisión vertical 1,9 % (rango: 0,1 %-3,5 %). Datos de transmisión vertical de otros estudios realizado en Argentina (2,5 %-6,7 %), en Paraguay (10,5 % por PCR). 30 de los 32 neonatos tratados con nifurtimox o benznidazol negativizaron.
63	Gürtler, 2003	Estimación de la transmisión congénita en Argentina.	Varias fuentes de datos.	En Argentina hubo cerca de 850 casos de enfermedad de Chagas congénito en 1993, o 6,3 casos por cada uno que se informó en 1994 y en 1994-2004. Los autores comentan que esta tasa es mayor que la de transmisión vectorial y por ello es necesario establecer una política a corto plazo de diagnóstico prenatal de las mujeres embarazadas infectadas por <i>T. cruzi</i> y el seguimiento de sus hijos.

.../...

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
157	Torrigo, 2004	Comparación de dos estudios epidemiológicos y clínicos (1992.1994 y 1999-2001) sobre las consecuencias de la infección crónica materna. Diagnostico de las madres por IHA y de los neonatos por microscopia del cordón umbilical o de la capa leucocitaria al mes de vida.	1.606 y 3.879 madres que acudieron al Hospital Materno-Infantil Germán Urquidi de Cochabamba.	La seroprevalencia de la infección en las madres fue de 27,6 % en el primer estudio y 17,3 % en el segundo. En ambos estudios la transmisión materno-fetal fue 5-6 % (incidencia 1,4 % y 1,0 % respectivamente); sin embargo sí se produjeron reducciones significativas en la frecuencia de los casos sintomáticos (de 54 % a 45 %) Apgar > 7, bajo peso al nacer y prematuridad (de 32-50 % a 6-16 %) entre los bebés congénitamente infectados. La mortalidad neonatal asociada a la enfermedad de Chagas congénita también disminuyó del 13 % al 2 %. Estos resultados sugieren que la disminución de la pobreza que ha ocurrido en Bolivia en este intervalo de tiempo ha contribuido a reducir la morbilidad y la mortalidad, pero no la tasa de transmisión de la infección congénita por <i>T. cruzi</i> , que todavía es un problema serio de salud pública en este país.
156	Torrigo, 2006	Comparación de los datos hematológicos y parasitológicos de madres infectadas y de los datos biológicos y clínicos obtenidos de sus hijos (infectados y no infectados), estratificados según la densidad vectorial en el área de residencia materna.	1.606 y 3.879 madres que acudieron al Hospital Materno-Infantil Germán Urquidi de Cochabamba.	A pesar de que las frecuentes picaduras de los reducidos durante el embarazo no producen anemia materna, sí que a través de las múltiples reinfecciones con <i>T. cruzi</i> , aumenta la parasitemia materna y empeora la enfermedad de Chagas congénita. Los embarazos y partos en lugares de alta densidad vectorial están asociados con un riesgo mayor de enfermedad de Chagas congénita severa y mortal.
137	Salas, 2007	Estudio para determinar los factores de riesgo de la enfermedad de Chagas congénita y las consecuencias en el recién nacido. Determinación de la infección en embarazadas por serología y en el RN por Técnicas parasitológicas.	2.712 embarazadas de Yacuiba (Tarija) que acudían al área de maternidad del Hospital de Yacuiba y 2.742 recién nacidos.	La prevalencia de enfermedad de Chagas era de 42,4 % y la transmisión congénita del 6 % lo que sitúa la incidencia en 2,6 % entre los neonatos. Los principales factores de riesgo fueron la seropositividad de las madres y la parasitemia. La paridad fue mayor entre la infectadas pero no se asoció a riesgo de transmisión congénita. La tasa de infección congénita fue significativamente mayor en neonatos de embarazos múltiples. No hubo consecuencias estadísticamente significativas de enfermedad de Chagas en embarazos únicos que entre gemelos.
158	Torrigo, 2005	Estudio realizado en el Hospital Materno-Infantil Germán Urquidi de Cochabamba.	2.154 madres (554 infectadas y 1.520 no infectadas) y 2.155 recién nacidos.	La prevalencia fue del 26,3 %. Las madres infectadas eran mayores ($p < 0,05$) que las no infectadas, probablemente influido por los antecedentes del nº de gestaciones y de abortos ($p < 0,0y$ y $p = 0,01$ respectivamente). No hubo diferencias significativas éntrelos parámetros antropométricos y biológicos de los recién nacidos.
19	Brutus, 2007	Estudio de seroprevalencia.		En el área donde <i>T. infestans</i> abundaba, la seroprevalencia fue significativamente mayor que en otra área donde el vector estaba ausente. Por lo que la transmisión congénita se puede dar a pesar del control activo del vector en esas áreas.

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
134	Russomando, 2005	Evaluación de la instauración de sistemas de cribado prenatal en los centros de atención sanitaria rurales en las áreas endémicas. Estudio en los niños parasitológico por microscopía y PCR; y serológicamente por ELISA, ELISA-SAPA e IFI.	61.091 mujeres de los Departamentos de Paraguari y Cordillera. 1.865 recién nacidos.	7.802 (12,7 %) presentaron anticuerpos frente a <i>T. cruzi</i> . Entre los recién nacidos 104 (5,58 %) presentaron la infección, continuando en un 7 % detectándose los anticuerpos maternos a los seis meses de edad. La PCR fue la técnica más sensible para la detección de la infección en los recién nacidos pero no la recomiendan porque es necesario la realización de un gran número de PCR para detectar la infección.
109	Olivera, 2006	Estudio de la transmisión materno-fetal de <i>Trypanosoma cruzi</i> . Determinación de anticuerpos en las madres y PCR y Hemocultivo en los recién nacidos.	145 madres y sus recién nacidos de dos hospitales de áreas endémicas en México.	Seroprevalencia de 4,1 % en 145 madres (3,5 % en Veracruz y 5 % en Chiapas), pero en ninguno de ellos la PCR o el hemocultivo resultaron positivos.
54 Rep*	Gascon, 2010	Estudio descriptivo.		Epidemiología de la enfermedad de Chagas en países no endémicos y direcciones futuras dirigidas al control de los pacientes.
57	Gilson, 1995	Estudio descriptivo.	Un caso.	Mujer embarazada de 32 años procedente de México con infección crónica por <i>T. cruzi</i> que presentaba síntomas gastrointestinales y cardíacos. El recién nacido a las seis semanas del nacimiento presentaba el mismo título de anticuerpos que cuando nació (1/256). Los autores señalan que las personas que trabajan es obstetricia en los Estados Unidos deben estar familiarizados con la tripanosomiasis americana porque se puede presentar durante el embarazo.
92	Martin, 1996	Estudio descriptivo.	Un caso.	Mujer embarazada de 32 años procedente de Latinoamérica con infección crónica por <i>T. cruzi</i> que presentaba síntomas cardíacos. El recién nacido a las seis semanas del nacimiento presentaba el mismo título de anticuerpos que cuando nació (1/256). El artículo revisa el parásito, las fases aguda y crónica de la enfermedad de Chagas y resalta sus implicaciones médicas incluyendo la transmisión materno-fetal de <i>Trypanosoma cruzi</i> .
37	Di Pentima, 1999	Diseño de corte para determinar la seroprevalencia entre mujeres hispanas embarazadas en Houston (Texas) desde 1993 a 1996. Cribado por ELISA confirmación por HAI.	2.107 mujeres embarazadas, de origen hispano y 1.658 de origen no hispano.	Se detectó a 22 (0,6 %) la presencia de anticuerpos y a 11 se les confirmó el resultado, 0,3 %, (95 % CIC, 0-1 %); nueve de origen hispano y dos de origen no hispanos (0,4 % y 0,1 % respectivamente). A la vista de estos resultados la transmisión transplacentaria ocurre en Estados Unidos y el cribado de las embarazadas provee de un diagnóstico temprano para el tratamiento de la enfermedad de Chagas congénita.

.../...

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
166	Yadon, 2009	Estimación de la enfermedad de Chagas congénita en Estados Unidos.	Varias fuentes de datos: censo, tasas de fertilidad y la tasa de la transmisión congénita total (1,33 %) de la OMS.	Las mujeres en edad fértil provenientes de países endémicos de Chagas en Estados Unidos eran 2.384.644 y 5.841.538 en 1990 y 2000, respectivamente. Considerando las tasas de prevalencia de infección por <i>T. cruzi</i> en sus países originarios y el riesgo de adquirir infección congénita para el neonato es 1,33 % a 5 %, se estimó que el número de recién nacidos infectados era de 85-318 en 1990 y 166-638 en 2000.
93	Martínez de Tejada, 2009	Estudio prospectivo a las mujeres embarazadas latinoamericanas en el Hospital Universitario de Ginebra.	305 mujeres.	Prevalencia total de 2 % y del 8,8 % en las bolivianas. Todas estaban en fase crónica indeterminada y dos recién nacidos se infectaron. Considerando el potencial de transmisión vertical y el riesgo de complicaciones a largo plazo es necesario implantar programas de cribado en las personas de riesgo.
121 Rep*	Viyenta, 2010	Revisión de la situación epidemiológica y del conocimiento de esta parasitosis actuales en España.		Epidemiología de la enfermedad de Chagas en España.
143 Rep*	Schmunis, 2009	Estimación de la seroprevalencia en los países no endémicos.	Datos de censos y periódicos.	Epidemiología de la enfermedad de Chagas en los países no endémicos.
127	Riera, 2006	Estudio descriptivo.	Un caso.	Descripción de la infección congénita en Europa (España, Barcelona) de una mujer procedente de Bolivia que en el momento del parto informó de su condición (infectada a los seis años y tratada con 22). El niño diagnosticado por diagnóstico directo, cultivo y PCR se trató con benznidazol y a los cuatro y siete meses no presentaba anticuerpos.
104	Muñoz, 2007	Estudio descriptivo.	Un caso.	Una mujer procedente de Argentina y que había pasado largos periodos en áreas rurales y endémicas de su país, habiendo sido diagnosticada allí de enfermedad de Chagas acudió a la consulta para revisar el estado de su infección y excluir cualquier desorden cardíaco. Como tenía un niño de dos años nacido en España también se le realizaron pruebas al niño. Madre e hijo presentaron anticuerpos frente a <i>T. cruzi</i> y un PCR positiva. El diagnóstico directo y el cultivo fueron negativos. Se les trató a ambos y al cabo de seis meses la PCR era negativa.

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
113	Paricio-Talayero, 2008	Estudio prospectivo a mujeres latinoamericanas embarazadas se les practicó una prueba de IP para detectar Ac anti- <i>Trypanosoma cruzi</i> . A las madres positivas se les realizó IFI y (PCR, y a sus hijos, microhematocrito y PCR en el período neonatal e inmunoprecipitación a partir de los 7 meses de vida. Se calculó el porcentaje de serología positiva total y por países.	624 mujeres latinoamericanas embarazadas que dan a luz en tres maternidades públicas de la Comunidad Valenciana.	Un total de 29 mujeres (4,8 %; intervalo de confianza [IC] del 95 %: 3,1-6,3) eran seropositivas, todas asintomáticas y con PCR negativa. Ninguno de sus hijos resultó positivo en las pruebas realizadas. Las mujeres bolivianas fueron las más frecuentemente afectadas: 24 de 137 (17,5 %; IC 95 %: 11,2 a 23,9).
102	Muñoz, 2009	Estudio prospectivo en dos hospitales universitarios de Barcelona entre marzo de 2005 y septiembre de 2007. Diagnóstico serológico por dos ELISAs. Diagnóstico parasitológico por microhematocrito y detección de DNA por PCR.	1.350 mujeres latinoamericanas embarazadas y sus hijos recién nacidos.	La seroprevalencia en las embarazadas es de 3,4 % (IC 95 %, 2,43 %-4,73 %) y tiene una media de edad de 31 (18-43) años. Las mujeres procedían de Ecuador (34 %), Perú (16 %), Bolivia (14 %), y Colombia (12 %). El 51 % de las estudiadas presentaron una PCR positiva en sangre. El 7,3 % (IC 95 %, 1,5 %-19,9 %) de los recién nacidos infectados (tres niños). Se citan las características de las viviendas en estas mujeres.
110	Orti, 2009	Estudió de las mujeres gestantes entre febrero de 2005 y julio de 2007. Cribado mediante IP, confirmación mediante IFI. En hijos de mujeres positivas: microhematocrito, PCR y detección de anticuerpos IgM por IFI, al nacer, e IgG, a los 6 y 12 meses.	383 mujeres gestantes asistidas en el HCU.	El 9,7 % de las mujeres presentaban Ac. De ellas el 54,1 % eran bolivianas, el 13,5 % argentinas y 8,1 % colombianas. 81,1 % vivieron en zonas rurales y casas de adobe, el 89,2 % tenía antecedentes familiares y el 100 % conocían la enfermedad y el vector. La seroconversión en un niño de 8 meses supuso una transmisión vertical del 2,7 % y una incidencia en mujeres procedentes de zona endémica del 0,3 %.
122	Ramos, 2009	Estudio prospectivo en gestantes latinoamericanas que acudieron a la consulta de fisiopatología fetal de un hospital español atendidas durante 18 meses (desde enero de 2006 hasta julio de 2007).	229 embarazadas latinoamericanas que acudieron al Hospital General Universitario de Elche, Alicante.	Cuatro fueron positivas frente a <i>T. cruzi</i> (1,75 %; IC del 95 %, 0,68-4,4): dos de Bolivia (13,33 %; IC del 95 %, 3,73-37,88) y dos de Paraguay (11,76 %; IC del 95 %, 3,29-34,33). Ninguna mujer presentó anticuerpos frente al HTLV-1 (IC del 95 %, 0-1,6) y dos presentaron anticuerpos frente al HTLV-2 (0,87 %; IC del 95 %, 0,24-3,12). Una proporción apreciable de las gestantes inmigrantes latinoamericanas presenta anticuerpos frente a <i>T. cruzi</i> . La seroprevalencia frente a HTLV es baja.

.../...

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
112	Parada, 2008	Estudio durante dos años de la prevalencia de la enfermedad de Chagas en gestantes en los hospitales Clínico Universitario (HCU), General Universitario (HGU) y en el Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana (CTCV). Cribado por IP y ELISA. Confirmación por IFI.	HGU 268 cribados. HCU 358 pruebas. CTCV 3625 donantes.	HGU 28 positivas (10,4 %). HCU 35 positivas (9,8 %). CTCV 45 positivos (1,24 %). La prevalencia es más alta de lo esperado, sobre todo porque la población boliviana es predominante en la ciudad de Valencia. Por ello, creen necesario realizar las pruebas a todas las gestantes latinoamericanas y en los donante para evitar la transmisión de la enfermedad.
59	González-Granado, 2009	Estudio prospectivo observacional realizado desde junio de 2007 a agosto de 2008. Cribado mediante Inmunocromatografía (IC), confirmación mediante ELISA e IFI. En el neonato PCR o micrométodo y detección de Ac con siete meses.	230 embarazadas del hospital Doce de Octubre de Madrid (consultad de ginecología) y sus hijos (230) recién nacidos.	Las embarazadas habían nacido en: 59,2 % de Cochabamba, 28,6 % de Santa Cruz, 10,25 % de Sucre y 2 % de Beni. El 60,6 % procedía de área rural y un 36,6 % han tenido algún familiar directo con Chagas (10 % de fallecidos). Un 18,6 % presentaron ICT positiva y se produjo un caso de enfermedad de Chagas de transmisión vertical (prevalencia 2,6 %).

* Rep- Figura en otro anexo

ANEXO IV. DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
27	Comité de Parasitología, Departamento de Enfermedades Emergentes y Re-emergentes, Ministerio de Salud de Chile.	Revisión del diagnóstico de la infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> en humanos, la interpretación de los resultados y un algoritmo de diagnóstico de laboratorio en inmunocompetentes.	Parte V.	La enfermedad de Chagas se puede diagnosticar por medio de tres tipos de técnicas: <i>directas</i> , que permiten evidenciar la presencia del parásito en diferentes tipos de muestras; <i>indirectas</i> , que corresponden a la búsqueda de anticuerpos específicos contra antígenos de <i>T. cruzi</i> y <i>moleculares</i> , basadas en la detección del material genético del parásito. Por la posibilidad de reacciones falsas positivas, la recomendación es que los resultados positivos o indeterminados sean confirmados con, por lo menos, otra técnica diferente (inmunofluorescencia indirecta o hemaglutinación indirecta). Los métodos moleculares pueden ser empleados para el diagnóstico en fase aguda o crónica, teniendo mayor rendimiento en la primera, y su uso es recomendado principalmente como apoyo para la pesquisa de hijos de madres infectadas en la transmisión transplacentaria de la infección, donde el diagnóstico precoz aumenta las posibilidades de cura del niño y es un buen marcador para evaluar el éxito del tratamiento.
32	Curso virtual de capacitación médica en el diagnóstico, manejo y tratamiento de la enfermedad de Chagas, OPS y MSF.			Descripción de los diferentes métodos existentes para el diagnóstico de fase aguda y crónica así como sus ventajas y desventajas. También se dan recomendaciones para la realización del diagnóstico de la enfermedad de Chagas.
89	Luquetti, 2003	Evaluación de un test serológico rápido para el diagnóstico de la infección por <i>T. cruzi</i> (Chagas Stat Pak), ensayo inmunocromatográfico mediante: un estudio multicéntrico evaluándose primero a ciegas. Segunda evaluación con sueros de cuatro países Latinoamericanos testados independientemente en cada país.	Estudio a ciegas: 393 sueros. Segunda evaluación con 352 sueros.	Sensibilidad del 100 % y una especificidad del 98,6 %. Se realizó una tercera comparación utilizando sueros, plasmas, eluidos de papel de filtro y sueros conservados en 50 % de glicerol, obteniéndose idénticos resultados que los obtenidos con suero. Este test rápido (15 minutos) utiliza un dispositivo por muestra, no requiere refrigeración ni una estructura de laboratorio ni destreza especial para realizarlo, acepta diferentes tipos de muestras y puede almacenarse durante largos periodos de tiempo para la obtención del resultado. Todas estas ventajas junto con la alta sensibilidad y especificidad demostrada, le hacen un test apropiado para estudios de campo, laboratorios pequeños y emergencias en los bancos de sangre en las zonas endémicas rurales.

.../...

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
24	Chippaux, 2009	Estudio prospectivo para la evaluación comparada de Stat-Pak test con ELISA de antígenos recombinantes.	995 individuos de todas las edades en una población rural del sur de Bolivia.	495 mujeres de la misma población y 1.030 mujeres parturientas de un área urbana del este de Bolivia. La sensibilidad del test para toda la población estudiada fue de 94,73 %; la especificidad 97,33 %. Sin embargo, la especificidad defirió significativamente entre las mujeres embarazadas rurales y las parturientas urbanas, lo que puede atribuirse a las distintas cepas del parásito o a la diferente prevalencia del Chagas en esas áreas. Los autores concluyen que el test es de uso sencillo, fiable, relativamente barato y su realización es compatible con el uso en el campo para realizar grandes cribados.
159	Verani, 2009	Estudio prospectivo para detectar la variabilidad geográfica en la sensibilidad de tests rápidos. Las muestras positivas mediante tres ensayos convencionales (IFI, HAI, ELISA) se confirmaron como positivas; muestras negativas por dos a más ensayos se confirmaron como negativas.	516 muestra de Bolivia y 335 muestras de Perú.	Se evaluaron las técnicas Stat-Pak y Trypanosoma Detect rapid en muestras de Bolivia y Perú. En las muestras boliviana, Stat-Pak y Trypanosoma Detect tuvieron una sensibilidad de 87,5 % y 90,7 %, respectivamente; ambas mostraron una especificidad del 100 %. La sensibilidad en la población peruana fue mucho más baja: 26,6 %-33 % (Stat-Pak) y 54,3 %-55,2 % (Trypanosoma Detect); en ambas la especificidad fue >98 %. Estas sensibilidades son inadecuadas como único test de cribado. La baja sensibilidad en las muestras peruanas puede deberse a las diferencias entre las cepas del parásito. Los test de diagnóstico rápido han de probarse en cada lugar geográfico antes de su implantación como técnica de cribado.
87	Lorca, 2008	Evaluación de una prueba rápida para el diagnóstico de infección por <i>T. cruzi</i> en suero. Test: test rápido Dipstick test <i>Trypanosoma cruzi</i> Detect, (Inbios, Seattle, WA).	284 sueros humanos: • 145 casos probados de infección chagásica. • 139 a individuos sanos de zonas no endémicas. • 56 muestras negativas para enfermedad de Chagas pero con otras patologías parasitarias y no parasitarias.	El «test» rápido de INBIOS demostró una especificidad de 99,3 % al igual que la sensibilidad. Y una concordancia con el ELISA y la IFI de de 98,2 %. De acuerdo a estos resultados y a la facilidad de su ejecución, Dipstick test <i>T. cruzi</i> Detect (INBIOS) resulta ideal como tamiz para la vigilancia y los programas de intervención de la enfermedad de Chagas.
12	Berrizbietia, 2004	Estudio de la sensibilidad y especificidad de tres EIA.	435 sueros de los siguientes grupos: • venezolanos positivos por IFI (n=70). • venezolanos sanos (n=85). • canadienses sanos (n=166) y; personas con otras enfermedades parasitarias (n=114).	Se desarrollaron tres enzimo-inmunoensayos (EIA) para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, con formas fijadas de <i>Trypanosoma cruzi</i> . Todos los ensayos demostraron una sensibilidad del 100 % y una especificidad razonable para amastigotes (97,6 %), epimastigotes (98,3 %) y tripomastigotes (99,3 %). El ensayo con tripomastigotes fijados era estable más de cuatro meses a 4 °C y a temperatura ambiente. Estos datos sugieren que EIA con tripomastigotes fijados puede ser un buen candidato para el cribado en bancos de sangre.
90	Malan, 2006	Evaluación de tres ELISAs y un IFI disponibles en Estados Unidos para el diagnóstico serológico de <i>Trypanosoma cruzi</i> .	220 sueros.	CeLLabs y Hemagen tuvieron una concordancia, sensibilidad y especificidad del 100 %. IVD Reserch tuvo 94,6 % de concordancia 100 % de sensibilidad y 93 % de especificidad.

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
48	Furuchó, 2008	Recogida de datos epidemiológicos, ensayo de linfoproliferación, pruebas parasitológicas y detección de Ac por TESA y ELISA.	Sueros de 178 pacientes.	En 2008 se evaluó la respuesta humoral y celular. Trypomastigote Excreted-Secreted Antigens (TESA) blot es un buen método confirmatorio para la enfermedad de Chagas en resultados indeterminados por métodos serológicos convencionales (IFI, HAI), ELISA) pero la linfoproliferación aunque sugiere el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en ausencia de anticuerpos, los datos/resultados del estudio no apoyan su utilización como técnica confirmatoria
118	Pirard, 2005	Estudio de muestras al azar de donantes de sangre de Santa Cruz, Bolivia, entre agosto de 1998 y enero de 1999. Detección de Ac por HZI, IFI y ELISA.	400 de 1.200 sueros.	La sensibilidad de cada ensayo individual varió de 96,5 % al 100 % y la especificidad de 87 % a 98,9 %. La combinación de dos ensayos en paralelo, incluso con una prevalencia del 40 % sólo perdía una unidad de cada 10.000 cribadas. Con prevalencias del 5 %, sin embargo, se observaban entre 75 y 120 positivos por cada 1.000 unidades cribadas. La realización en paralelo de IFI más ELISA o HAI más IFI es más coste efectiva que realizar únicamente HAI, sólo ELISA o únicamente IFI, independientemente de la prevalencia. Realizar el cribado de los donantes de sangre con una única técnica resulta inaceptable debido al elevado número de falsos negativos en áreas altamente endémicas o en grupos de población de riesgo. El incluir una segunda prueba es indispensable, pero la elección de la técnica dependerá de la experiencia y disponibilidad de cada laboratorio.
34	De Moraes, 2008	Comparación de las reacciones cruzadas entre dos especies de Tripanosomas utilizando epimastigotes y la forma relevante patógena, tripomastigotes, mediante IFI e Inmunoblotting (IB).	26 pacientes con cardiopatía chagásica.	Importante descenso de reacciones cruzadas cuando se utilizan tripomastigotes de <i>T. rangeli</i> en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas basándose en IFI. Los resultados del IB utilizando suero de pacientes en fase aguda, indeterminada y crónica con síntomas cardíacos, o digestivos muestran resultados parecidos pero no idénticos perfiles antigénicos.
111	Otani, 2009	Establecimiento de un panel de sueros perfectamente caracterizado. Evaluación de 19 ensayos de cribado durante 2001-2005	437 muestras procedentes de 10 países recogida en el 2000.	Las muestras eran consideradas positivas o negativas basándose en el resultado concordante de tres de los cuatro ensayos confirmatorios (IFI, Western blot, RIPA e inmunoblot recombinante). El 39 % (168 muestras) fue positivo, el 61 % negativo (262) y siete muestras (2 %) se las identificó como indeterminadas y se las eliminó del estudio. La sensibilidad y especificidad varió considerablemente: 88 a 100 % y 60 a 100 % respectivamente. En general, los EIAs funcionaron mejor que los otros ensayos de cribado. Cuatro EIAs tuvieron ambos parámetros con valores superiores a 99 %. De los cuatro ensayos confirmatorios sólo RIPA coincidió al 100 % con el estado serológico de las muestras. Debido a los valores que presentaban estos cuatro EIAs para la enfermedad de Chagas, son probablemente lo suficientemente elevados como para justificar su uso como ensayo único de cribado en las donaciones de sangre. Los datos sugieren que la mayor parte de las HAI no deben usarse para el cribado de los donantes de sangre y que RIPA debiera ser considerado como el patrón oro para la evaluación de los otros ensayos.

.../...

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
43	Flores-Chávez, 2010	<p>Estudio para: i) comparar 10 técnicas de determinación de Ac anti-<i>T. cruzi</i>; ii) evaluar su reactividad cruzada frente a enfermedades relacionadas, y iii) valorar el (ELISA)-rk39 y la (IFI)-<i>Leishmania</i> para el diagnóstico diferencial de la leishmaniasis por <i>Leishmania infantum</i>. Las pruebas utilizadas fueron IFI y ELISA casero («in house»), cinco ELISA comerciales (), la prueba de aglutinación en gel y dos pruebas inmunocromatográficas (Operon y CTK Biotech). Los últimos cuatro ensayos utilizaban antígenos recombinantes (pruebas no convencionales).</p>	<p>223 sueros (chagásicos=66, sanos=97, leishmaniasis visceral=30 y malaria=30):</p> <ul style="list-style-type: none"> • 40 caracterizados por la empresa Qpanel y • 183 procedentes de la seroteca del Servicio de Parasitología, Centro Nacional de Microbiología. 	<p>La IFI y los ensayos de ELISA presentaron una sensibilidad entre el 97 % y el 100 %. Las pruebas inmunocromatográficas presentaron menor sensibilidad (92–96 %). Todas las pruebas no convencionales presentaron menor número de reacciones cruzadas. El ELISA-rk39-<i>Leishmania</i> no presentó reactividad cruzada con los sueros chagásicos. Estos resultados confirman los datos obtenidos por otros autores. La sensibilidad de los ELISAs es superior con respecto al resto de las pruebas, por lo que estas técnicas serían las más adecuadas para realizar el cribado serológico de la infección por <i>T. cruzi</i>. Una aproximación adecuada es la combinación de una prueba que utilice antígeno total con otra basada en antígenos recombinantes o péptidos sintéticos.</p>

ANEXO V. DIAGNÓSTICO POR PCR

Nº	Autor y año	Diseño	Participantes	Resultado
163	Virreira, 2007	Comparación de las cepas de <i>T. cruzi</i> y niveles de DNA del parásito en madres y en sus recién nacidos.	36 neonatos infectados congénitamente 15 de sus madres.	Las parasitemias de las madres son bajas (< 10 parásitos/ml) y en los niños elevada (>100 parásitos/ml).
5	Barbosa, 2002	Evaluación del diagnóstico por PCR en pacientes crónicos chagásicos y en serologías dudosas.	50 paciente crónicos y 30 con serologías dudosas.	Se detectó un fragmento de 149 pb originario de DNA nuclear en pacientes con enfermedad de Chagas crónica. Se compararon los resultados de estas pruebas con diagnóstico serológico utilizando técnicas estándar y xenodiagnóstico. 43 de 50 pacientes previamente serodiagnosticados como chagásicos fueron positivos utilizando el método nested-PCR. 13 de 30 pacientes con resultados serológicos dudosos se confirmaron como positivos con N-PCR. Estos resultados sugieren que la N-PCR puede ser una herramienta complementaria en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica, y que es útil para la detección de parásitos en pacientes con enfermedad crónica y pacientes con resultados serológicos dudosos.
119	Pirón	Estudio para desarrollar una técnica de PCR a tiempo real (t-PCR) para detectar DNA de <i>T. cruzi</i> en la sangre de los pacientes chagásicos.	38 muestras de pacientes con enfermedad de Chagas crónica. Una muestra de sangre de un niño con infección congénita aguda. Muestras de: • 100 individuos seronegativos de áreas endémicas, • 40 individuos seronegativos de áreas no endémicas y • 20 pacientes con leishmaniasis visceral por <i>Leishmania infantum</i>	La sensibilidad analítica de la t-PCR fue evaluada mediante diluciones seriadas de epimastigotes de <i>T. cruzi</i> en sangre seronegativa (de 7,8 a 0,06 epimastigotes/ml). La sensibilidad clínica fue probada con 38 muestras de sangre de pacientes adultos con enfermedad de Chagas y una muestra de sangre de un niño con infección congénita aguda. La especificidad se evaluó con 100 personas seronegativas de áreas endémicas, 24 personas seronegativas de áreas no endémicas y 20 pacientes con leishmaniasis visceral. Se diseñó la t-PCR para amplificar un fragmento del DNA satélite de <i>T. cruzi</i> . Se utilizó un control interno (gen humano) y se añadió UNG a la reacción para evitar posibles falsos positivos debido a contaminaciones. También se analizaron las muestras por una N-PCR previamente descrita que amplificaba la misma región de DNA. La sensibilidad de la t-PCR fue de 0,8 parásitos/ml (50 % positive hit rate) u 2 parásitos/ml (95 % positive hit rate). Ninguna de las muestras seronegativas fueron t-PCR positivas, especificidad 100 %. 16 de 39 pacientes fueron positivos por t-PCR (41 %). La concordancia con los resultados de la N-PCR fue del 90 %. Como conclusión, la t-PCR proporciona una óptima alternativa a la N-PCR, con parecida sensibilidad y especificidad, y puede ayudar a detectar parasitemia en pacientes chagásicos.

.../...

ANEXO VI. BASES METODOLÓGICAS

Conocido el gran impacto de la enfermedad de Chagas, desde su inicio cobró gran importancia el conseguir un diagnóstico rápido y fiable. En todos los países endémicos se han realizado estudios sobre las mejores técnicas para obtener dicho fin, y como síntesis de todos estos trabajos reflejamos un resumen de la *Parte V de la guía clínica (consta de seis partes) elaborada por un comité de expertos convocados por el Ministerio de Salud de Chile durante el año 2006 (27)*.

Introducción

El diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas, puede realizarse por:

- *Métodos directos*: comprueban la presencia de *Trypanosoma cruzi* o su material genético en la muestra estudiada.
- *Métodos indirectos o serológicos*: evidencian la presencia de anticuerpos específicos contra *T. cruzi* en las muestras, las cuales pueden ser suero, LCR, humores del ojo, etc.

La elección del tipo de examen a solicitar dependerá de la fase clínica de la enfermedad. En la etapa aguda, los métodos de elección son los directos, puesto que tienen una alta sensibilidad, y en la fase crónica latente o indeterminada y crónica determinada, están indicados los métodos indirectos o serológicos.

Período óptimo para la toma de muestra

- *Etapa aguda*: los métodos directos deben realizarse precozmente después de ocurrida la primoinfección; en cambio, el estudio indirecto debe realizarse después de 15 días.

En recién nacidos con sospecha de infección congénita, las muestras del binomio madre-hijo deben ser tomadas simultáneamente.

- *Etapa crónica latente o indeterminada y crónica determinada*: los métodos indirectos o serológicos se pueden tomar en cualquier momento de la etapa crónica. También pueden ser útiles los exámenes directos, aunque presentan una menor sensibilidad.

Fundamento de las técnicas utilizadas

Se hace referencia a las técnicas disponibles en el país, las que deben ser solicitadas frente a la sospecha de un paciente infectado.

Diagnóstico parasitológico directo

- *Observación microscópica al fresco*: identifica, por observación directa, la presencia de tripomastigotes de *T. cruzi* en una muestra de sangre periférica fresca.
- *Gota gruesa*: permite la concentración de la muestra de sangre. Se colocan tres a cuatro gotas de sangre sin anticoagulante en un portaobjeto, las que luego se desfibran para posteriormente teñirse y ser observadas al microscopio.
- *Método de concentración. MicroStrout*. Examen microscópico de la fracción leucoplaquetaria de la sangre total a partir de un microhematocrito del paciente, en búsqueda de las formas tripomastigotes de *T. cruzi*.

- *Xenodiagnóstico*. Búsqueda de formas tripomastigotes de *T. cruzi* en deyecciones de triatomíneos que han succionado sangre de pacientes. Se utilizan para ello, ninfas de insectos libres de infección. Es útil en todas las etapas de la enfermedad, con una sensibilidad aproximada de 98 a 100 % en la etapa aguda y de 50 a 70 % en la etapa crónica en condiciones óptimas.
- *Reacción de polimerasa en cadena (PCR)*. Técnica de biología molecular que utiliza partidores específicos para amplificar un segmento del ADN de *T. cruzi* en muestras clínicas de pacientes. Es útil para ser empleadas en diferentes tipos de muestras y tejidos en fase aguda, latente y crónica. La PCR utilizada en nuestro medio otorga resultados cualitativos y es útil, en especial en hospederos inmunocomprometidos y en niños bajo un año de edad.

La PCR cuantitativa permite medir la carga parasitaria circulante y es útil especialmente en los pacientes inmunocomprometidos y donantes de órganos, en los cuales la serología no resulta útil por bajos niveles de CD4. Con ella se puede monitorizar el tratamiento.

- *Biopsia*. En caso de pacientes con inmunosupresión grave debe contemplarse la posibilidad de efectuar una biopsia y visualizar el parásito en los tejidos.

Diagnóstico parasitológico indirecto

Estas técnicas permiten cuantificar la concentración de inmunoglobulinas y, de esta forma, monitorizar la respuesta inmunobiológica a las terapias, identificar reactivaciones y determinar la curación serológica en pacientes inmunocompetentes.

- *Aglutinación indirecta*. Este método se basa en la reacción de glóbulos rojos sensibilizados con *T. cruzi* que entran en contacto con anticuerpos específicos del parásito produciéndose aglutinación (reacción positiva).
- *Enzimoimmuno ensayo (ELISA)*. Este método está basado en una técnica colorimétrica en la cual se adhiere antígeno del parásito a placas de poliestirenos, las que son expuestas al suero en estudio, adhiriéndose las inmunoglobulinas presentes, las que son evidenciadas por una segunda inmunoglobulina con una reacción colorimétrica.
- *Inmunofluorescencia indirecta (IFI)*. Técnica que permite determinar la presencia de anticuerpos anti *T. cruzi* en diferentes muestras biológicas. Para estos efectos, se preparan placas de vidrio con pocillos a las que se le adhieren epimastigotes de *T. cruzi* (parásito completo) obtenidas de cultivo. Si el suero del paciente tiene anticuerpos, se produce una reacción antígeno-anticuerpo, la que se detecta con la adición de un segundo anticuerpo marcado con sustancias fluorescentes. Esta reacción se observa posteriormente en un microscopio de fluorescencia.

Muestras requeridas

Diagnóstico parasitológico directo

- *Observación microscópica al fresco*. 2 ml de sangre total con anticoagulante.
- *Gota gruesa*. Sangre, sin anticoagulante, obtenida por punción venosa o digital. Tres a cuatro gotas por preparación. Se deben realizar a lo menos cuatro preparaciones por paciente.
- *Método de concentración de MicroStrout*. Muestra de sangre recogida por punción digital en al menos seis capilares heparinizados, o sangre venosa tomada con anticoagulante.
- *Xenodiagnóstico*. El paciente inmunocompetente debe someterse a la picadura de triatomíneos libres de la parasitosis, por aproximadamente 20 min.

En niños y personas inmunodeprimidas, este examen ha sido reemplazado en la actualidad por PCR.

- *Reacción de polimerasa en cadena (PCR)*. Sangre total con anticoagulante en cantidad mínima de 1 ml. Se excluye el uso de heparina. También se puede recolectar sangre total con guanidina (1:4) y sangre en papel filtro.

Diagnóstico parasitológico indirecto

- *Aglutinación indirecta*
- *Enzimoimmuno ensayo (ELISA)*.
- *Inmunofluorescencia indirecta (IFI)*.

Para todas estas técnicas se requiere suero o plasma en cantidad mínima de 2 ml.

Conservación y transporte de las muestras

- Sangre total para métodos directos:
 - Conservación a 4 °C, por un máximo de tres días.
 - Transporte en tubo plástico con tapa hermética, con las medidas necesarias de bioseguridad y mantenimiento de temperatura.
- Suero o plasma para métodos indirectos:
 - Conservación a 4 °C, por un máximo de cinco días o congelada a -20 °C.
 - Transporte en tubo plástico estéril con tapa hermética, con las medidas necesarias de bioseguridad y cadena de frío.

Informe de resultados

Se recomienda usar el siguiente criterio para informar los resultados de los exámenes:

Diagnóstico parasitológico directo

- *Observación microscópica al fresco*.
- *Gota gruesa*.
- *Método de concentración de MicroStrout*:
 - *Negativo*: no se observan tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi*.
 - *Positivo*: presencia de tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi*.
- *Xenodiagnóstico*:
 - *Negativo*: no se observan tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi*.
 - *Positivo*: presencia de tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi*.
- *Reacción de polimerasa en cadena (PCR)*:

- *Negativo*: no se observa la banda específica de *T. cruzi*.
- *Positivo*: se observa la banda específica de *T. cruzi*.

Diagnóstico parasitológico indirecto

- *Aglutinación indirecta*:
 - *Negativa*: no se evidencian anticuerpos específicos anti-*Trypanosoma cruzi*.
 - *Positiva*: se evidencian anticuerpos específicos contra *Trypanosoma cruzi*.
- **ELISA**:
 - *Negativa*: no se evidencian anticuerpos específicos anti-*Trypanosoma cruzi*.
 - *Positiva*: se evidencian anticuerpos específicos contra *Trypanosoma cruzi*.
- *Inmunofluorescencia indirecta (IFI)*:
 - *Negativo*: título < 1/20 DO.
 - *Positivo*: título > a 1/20 DO.

Interpretación de resultados

Diagnóstico directo

- *Resultado positivo*. La observación microscópica de formas de *T. cruzi*, en cualquiera de los métodos parasitológicos directos descritos, deberá considerarse diagnóstico de certeza de infección por este protozoo.
- *Resultado negativo*. No descarta la presencia del parásito en la muestra, ya que estos métodos tienen diferentes niveles de sensibilidad analítica. Además, existen otras variables que intervienen en la sensibilidad biológica, como por ejemplo: carga parasitaria, etapa de la infección e inmunocompetencia del paciente. En pacientes chagásicos crónicos, los métodos directos, en general tienen baja sensibilidad; no obstante, la técnica de PCR ha demostrado una mayor sensibilidad que el resto de los exámenes directos.

Diagnóstico indirecto

- *Resultado positivo*. Los métodos serológicos mencionados, tienen alta sensibilidad y especificidad en inmunocompetentes. Las muestras que resulten positivas deben ser enviadas al Laboratorio de Referencia de Parasitología del Instituto de Salud Pública (ISP) o a los centros autorizados por éste para su confirmación. En el caso de donantes chagásicos provenientes de cribado (ELISA-IFI), siempre debe realizarse una contramuestra.
- *Resultado negativo*. Debido a las características de sensibilidad y especificidad de las técnicas serológicas en la etapa crónica, el resultado negativo en paciente inmunocompetente, tiene alta probabilidad de descartar la infección. Aún así, a nivel mundial, se recomienda realizar siempre dos técnicas serológicas complementarias para IgG *T. cruzi* en forma paralela. De preferencia se sugiere usar ELISA e IFI.

En la etapa aguda, es necesario repetir un examen serológico negativo, puesto que es posible que no se detecten los anticuerpos específicos IgG antes de los 15 días de producido el ingreso de *T. cruzi* al organismo.

Algoritmo diagnóstico

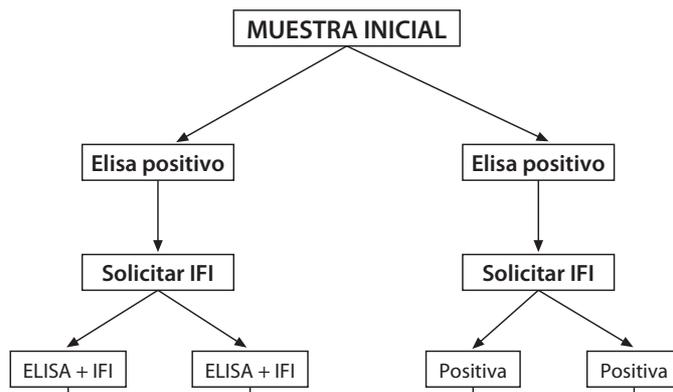
- *Algoritmo para métodos directos.* Los exámenes directos en que se compruebe la presencia del parásito, podrán ser informados sin necesidad de confirmación del resultado por otro método. En caso de duda del diagnóstico directo, la muestra deberá ser enviada al Laboratorio de Referencia de Parasitología del ISP o en centros confirmatorios autorizados por éste.
- *Algoritmo para métodos indirectos.* En el caso del diagnóstico de cribado en bancos de sangre o laboratorios clínicos, se deberá seguir el algoritmo expuesto en la figura siguiente.

Se entenderá por examen de cribado la determinación de anticuerpos anti *T. cruzi* realizada mediante técnicas de ELISA o aglutinación en los bancos de sangre y laboratorios clínicos del país, tanto públicos como privados.

Se entenderá como exámenes de confirmación aquellos realizados por el Laboratorio de Referencia de Parasitología del Instituto de Salud Pública (ISP) o bien en centros autorizados por éste.

El diagnóstico de laboratorio de la infección por *T. cruzi* sólo podrá ser informado al paciente después de realizada la confirmación.

Algoritmo para el diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas en pacientes inmunocompetentes



Tomado de Parte V de la *Guía clínica* (consta de seis partes) elaborada por un comité de expertos convocados por el Ministerio de Salud de Chile durante el año 2006 (27)

* * *

De igual modo, la OMS ha editado un *Curso virtual de capacitación médica, manejo y tratamiento de la enfermedad de Chagas, OPS y MSF*, basado en el segundo informe del comité de expertos de la OMS, 2002. A continuación plasmamos el capítulo «Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas» (32).

Diagnóstico de Laboratorio

Durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas aparecen numerosos parásitos en la sangre periférica y es posible detectarlos mediante pruebas parasitológicas directas. En este sentido, la observación microscópica de la sangre fresca puede revelar fácilmente la presencia del parásito, gracias a su motilidad.

Las extensiones de sangre en gota fina y gota gruesa, teñidas adecuadamente, permiten observar las características morfológicas del parásito, posibilitando así la diferenciación entre *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli*. Sin embargo, cuando el grado de parasitemia es bajo, es necesario utilizar métodos de concentración de parásitos, tales como el método de Strout y el microhematocrito.

El xenodiagnóstico y el hemocultivo (posibles sólo en laboratorios especializados) son los métodos parasitológicos indirectos clásicos, cuya sensibilidad depende del grado de parasitemia del paciente. En la actualidad, se dispone de un xenodiagnóstico artificial que se puede recomendar en lugar del xenodiagnóstico natural. Conviene subrayar que en las regiones y países en los que se ha interrumpido la transmisión se deben manejar con cuidado las especies de triatominos que fueron objeto de los programas de control, para evitar que los insectos se escapen accidentalmente del laboratorio.

Con el desarrollo de las técnicas moleculares, la reacción en cadena de la polimerasa se ha utilizado con el diagnóstico parasitológico de diversas enfermedades. Esa técnica se basa en la amplificación de secuencias específicas de ADN que son a un tiempo abundantes y específicas del parásito en cuestión. En el caso de *Trypanosoma cruzi*, hay dos secuencias específicas que han resultado útiles en el diagnóstico: la región variable del ADN minicircular del kinetoplasto y una secuencia repetitiva de 195 pares de bases del ADN del parásito.

Dada la complejidad de los procedimientos de la reacción en cadena de la polimerasa, este tipo de diagnóstico sólo se debe realizar en laboratorios especializados. Esta técnica es más sensible que el xenodiagnóstico y el hemocultivo. Sin embargo, la sensibilidad también depende del grado de parasitemia del paciente. Otra aplicación importante de la reacción en cadena de la polimerasa es en la detección de los parásitos en los tejidos de pacientes con infección crónica y en la transmisión congénita.

Inmunodiagnóstico

La utilización del inmunodiagnóstico está muy generalizada porque casi todos los pacientes infectados por *Trypanosoma cruzi* en la fase crónica crean anticuerpos contra la compleja mezcla de antígenos del parásito. En la fase crónica predominan los anticuerpos de la clase IgG, mientras que en la fase aguda se encuentran con mayor frecuencia anticuerpos IgM.

Existen varias pruebas diagnósticas, algunas de ellas consideradas convencionales, que han sido ampliamente validadas, están comercializadas y son utilizadas por la mayoría de los laboratorios. Sin embargo, ciertas pruebas que aún se están ensayando tienen mayor especificidad y algunas de ellas pueden presentar diversas ventajas de uso.

Pruebas serológicas convencionales

Hay tres pruebas convencionales cuya utilización está muy generalizada: la hemaglutinación indirecta (HAI), la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y la prueba de ELISA. Se ha considerado que la obtención de resultados positivos en más de una de estas pruebas equivale, a un diagnóstico definitivo de infección por *Trypanosoma cruzi*. Sin embargo, una sola prueba de IFI o ELISA positiva puede ser suficiente hoy en día, ya que su sensibilidad es del 99 %, aproximadamente, siempre que hayan seguido procedimientos técnicos normalizados y que los reactivos se hayan sometido a controles de la calidad y se hayan conservado en las condiciones prescritas.

En la mayoría de las pruebas convencionales se emplea una mezcla compleja de antígenos del parásito (HAI y ELISA) o todo el parásito (IFI). Con ello aumenta la probabilidad de diagnosticar la enfermedad, aun cuando el nivel de anticuerpos sea bajo. Por otra parte, aumenta la probabilidad de obtener resultados falsamente positivos debido a reacciones cruzadas entre *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania spp.* o *Trypanosoma rangeli*.

Una prueba serológica ideal sería la que fuera rápida, barata, y fácil de realizar en una sola fase, no requiriera instrumental especial ni refrigeración de los reactivos y tuviera una sensibilidad y especificidad del 100 %. No existe tal prueba, pero como técnica rápida está la Inmunoprecipitación (en minutos) y las pruebas convencionales presentan algunas de estas características. Con la HAI se pueden obtener resultados en unas dos horas y no se necesita instrumental complejo ni conocimientos técnicos especializados. Su sensibilidad oscila entre el 96 y el 98 %, inferior a la conseguida con la IFI y la prueba de ELISA. La HAI no suele detectar al 1,6-2,5 % de las personas infectadas (falsos negativos).

La IFI posee una sensibilidad del 99 %, pero tiene varias desventajas: consta de varias fases, se necesita un microscopio especial de luz ultravioleta y la interpretación, subjetiva, debe de correr a cargo de un técnico experto. La titulación de los conjugados es esencial, al igual que el control de los reactivos utilizados. Los estuches comerciales no son fáciles de encontrar y su especificidad es inferior a la de la HAI. Los diagnósticos falsamente positivos causan problemas a la hora de determinar si los pacientes y los donantes de sangre están infectados. La prueba tarda unas dos horas para unas pocas muestras. Así pues, la IFI es adecuada para pequeños laboratorios en los que se utilice un microscopio para el diagnóstico de otras infecciones y no se analicen más de 50 a 100 muestras al día, pero no se recomienda su utilización en los bancos de sangre que analicen gran número de muestras.

La prueba de ELISA tiene una sensibilidad excelente y una buena especificidad. Como en el caso de la IFI, su realización requiere varias horas y debe correr a cargo de un técnico experto. Presenta dos ventajas principales en comparación con la IFI: requiere un espectrofotómetro, que elimina la subjetividad, y se puede automatizar. Así, se puede utilizar en grandes centros para analizar simultáneamente muchas muestras. Como ocurre con otras pruebas, aun cuando se utilicen estuches diferentes, se pueden obtener resultados dudosos. Esto representa un problema para los bancos de sangre y también para establecer el diagnóstico etiológico en pacientes.

En los últimos años, en muchos países de Centroamérica y Sudamérica se ha logrado una considerable experiencia en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas con las tres pruebas mencionadas, que son las que se deben utilizar. En el 95 % de los sueros se obtienen resultados concordantes con las tres pruebas. La discordancia entre dos de ellas puede deberse a errores técnicos o a la presencia de un suero poco habitual. Estos problemas suelen resolverse repitiendo las pruebas, pero si se siguen obteniendo resultados discordantes, el suero es problemático y se le debe prestar especial atención. Si eso ocurre en un banco de sangre, se debe excluir al donante. Si el problema se plantea en el diagnóstico clínico, se deben utilizar pruebas no convencionales o enviar el suero a un laboratorio de referencia. En cualquier caso, si un suero resulta repetidamente positivo con una prueba, se debe considerar positivo.

En la fase aguda de la enfermedad de Chagas también se pueden detectar anticuerpos mediante serología convencional. Se recomienda la IFI con un conjugado anti-IgM, aunque los anticuerpos IgG también pueden ser positivos. En cuanto a la transmisión congénita, siempre que no se encuentren parásitos en la sangre del recién nacido, se pueden realizar pruebas serológicas convencionales seis a ocho meses después del parto, cuando los anticuerpos maternos transmitidos pasivamente al hijo deben haber desaparecido. Se pueden utilizar las mismas pruebas serológicas para el seguimiento de pacientes sometidos a quimioterapia. En el cuadro 2 se resumen estas recomendaciones.

Cuadro 2. Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas

Objetivos	Métodos serológicos y moleculares				
	Convencionales			No convencionales	
	ELISA	IFI	HAI	Antígenos recombinados	PCR
Demostración serológica (se recomiendan dos pruebas)	X	X	X	X	-
Detección en bancos de sangre (se recomienda una prueba)	X	-	-	-	-
Transmisión transplacentaria y perinatal (se recomiendan dos pruebas)	X	X	-	X	X
Encuestas epidemiológicas (se recomienda una prueba)	X	X	-	-	-
Seguimiento del tratamiento (se recomiendan dos pruebas)	X	X	X	-	X

Tomado de «Diagnóstico de Laboratorio de la enfermedad de Chagas». Control de la enfermedad de chagas, segundo informe del comité de expertos de la OMS, 2002 (32)

Pruebas serológicas no convencionales

Algunas de estas pruebas ya están disponibles en el mercado, pero para obtener la mayoría de ellas hay que recurrir a sus productores, principalmente universidades y centros de investigación. Se basan en técnicas de ELISA, pero utilizan reactivos tales como proteínas recombinadas, antígenos purificados o péptidos sintéticos, creados con el fin de aumentar la especificidad del diagnóstico serológico y evitar la reactividad cruzada con otras enfermedades parasitarias, como la leishmaniasis mucocutánea y visceral. Se ha propuesto la utilización de nuevas matrices para inmovilizar los antígenos, tales como tiras y cuentas de colores, y de nuevas técnicas como la inmunoelectrotransferencia (Western blot). Las pruebas utilizadas con mayor frecuencia son las que emplean antígenos recombinados y han sido validadas en ensayos multicéntricos.

Las proteínas recombinadas se pueden utilizar individualmente o, mejor, como mezclas de dos o más componentes. Conviene señalar que, aunque la mayoría de las pruebas no convencionales poseen gran especificidad, su sensibilidad puede ser inferior a la de la serología convencional. Si los resultados de las dos clases de pruebas no coinciden, se recomienda que se consideren correctos los de las pruebas convencionales.

Una ventaja clara de algunas de las pruebas no convencionales es su sencillez (una fase) y la brevedad de su ejecución. La única desventaja es que algunos de los estuches de pruebas que utilizan tiras o cuentas sólo proporcionan resultados cualitativos.

Para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi* se pueden adoptar los siguientes procedimientos, distintos según la situación:

- Para confirmar una sospecha clínica se deben utilizar dos pruebas convencionales. Si sus resultados no coinciden, se debe realizar una tercera prueba, convencional o no convencional.
- Para la detección en bancos de sangre se recomienda la prueba de ELISA.
- En caso de transmisión congénita se le debe hacer una prueba convencional a la madre y, si el resultado es positivo, confirmarlo mediante otra prueba convencional. En hijos de madres seropositivas

se debe realizar una prueba convencional de IgG ocho meses después del parto. Las pruebas parasitológicas son deseables, siempre que se puedan realizar.

- En las encuestas epidemiológicas se debe utilizar una sola prueba convencional. Para ello se puede utilizar suero, plasma o sangre, recogidos en papel de filtro.
- Para el seguimiento del tratamiento se recomiendan dos pruebas serológicas. En los centros especializados se pueden hacer pruebas de reacción en cadena de la polimerasa para confirmar la parasitemia.

La única forma de garantizar que los resultados del diagnóstico serológico sean correctos es la observancia de las buenas prácticas de laboratorio, incluida la aplicación de procedimientos de control de la calidad y la evaluación periódica del desempeño del laboratorio, junto con una legislación que obligue a evaluar los reactivos antes de comercializarlos.

Procedimientos utilizados

Inmunofluorescencia indirecta

Se utilizaron los reactivos suministrados por la casa MarDx, y de acuerdo con las indicaciones del fabricante se procedió de la siguiente manera:

- A Se han utilizando los sueros separados para la realización de la IFI.
- B Se dejaron atemperar los portas durante 15 minutos.
- C Se realizó la dilución de los sueros 1:8 añadiendo 0,1 µl de suero a 0,7 ml de PBS.
- D Se dispensaron en cada círculo del portaobjetos 10 µl de cada suero.
- E Se utilizó un testigo conjugado (10 µl de PBS) y un control positivo (10 µl del control suministrado en por la casa) por cada serie de sueros (porta).
- F Los portaobjetos se incubaron durante 30 minutos a T ambiente en cámara húmeda.
- G Lavado: se enjuagaron con un chorro suave de PBS (sin apuntar directamente a las células). Posteriormente se lavaron los portas en PBS, dos veces durante cinco minutos (con una ligera agitación) tras lo cual se depositaron en papel absorbente seco (con el antígeno hacia arriba) y con un papel secante de seis pocillos se secó la humedad de alrededor de los pocillos sin dejar que se secasen los pocillos con antígeno.
- H Se cubrió cada pocillo (incluida la que no ha recibido suero) con 10 µl de conjugado listo para su uso.
- I Se incubaron los portas como en el paso E.
- J Lavado: repetición del paso F.
- K Preparación para el microscopio: se depositaron dos gotas de Fluoprep sobre cada porta y se cubrieron con un cubreobjetos con cuidado para que no se formasen burbujas.
- L Lectura de los portas en microscopio de fluorescencia a 400X. Se consideró la reacción positiva solamente si la mayor parte (>80 %) de los parásitos en el pocillo muestran una fluorescencia superficial homogénea, incluidos los flagelos.

Si la lectura de algún pocillo era positiva se procedía a realizar diluciones dobles del suero (mezclando volúmenes iguales de suero y PBS). Se realizó el procedimiento descrito anteriormente para titular los sueros hasta el punto final.

D1	D2	D3	D4		
○	○	○	○	○	○
M1	M2	M3	M4	CN	CP

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) indirecto

ELISA de tercera generación:

Se utilizaron los reactivos suministrados por la casa DIA. PRO, y de acuerdo con las indicaciones del fabricante se procedió de la siguiente manera:

Se han utilizando los sueros separados para la realización de los ELISAs.

Se dejaron atemperar las microplacas durante una hora.

- Preparacion de reactivos:
 - Wash Buffer: (concentrado 20X) 1 de concentrado en 19 de H₂O destilada.
 - Calibrador: disolver con el volumen de H₂O destilada que figura en la etiqueta.
- Procedimiento:
 1. Dispensar los controles y sueros:
 - Dejar libre el primer pocillo (A1) para el blanco.
 - Dispensar 200 µl de Control Negativo (listo para el uso) en tres pocillos.
 - Dispensar 200 µl de Calibrador (listo para el uso) por duplicado.
 - Dispensar 200 µl de Control Positivo (listo para el uso).
 - Dispensar 200 µl DILSPE en todos los pocillos que llevarán suero.
 - Dispensar 10 µl de suero en cada pocillo.
 2. Dispensar 50 µl de DILAS en todos los pocillos (controles y sueros).
 3. Incubar 45' a 37 °C.
 4. Lavar la placa cinco veces con Wash Buffer diluido.
 5. Dispensar 100 µl de conjugado (listo para el uso). No echar al blanco (A1).
 6. Incubar 45' a 37 °C.
 7. Lavar la placa cinco veces con Wash Buffer diluido.
 8. Dispensar 100 µl de Sustrate solution (lista para el uso) a todos los pocillos (incluido A1).
 9. Incubar 15' a T ambiente en la oscuridad.

10. Dispensar 100 µl de stop solution (lista para el uso).

11. Leer a 450 / 620 nm.

- Control interno:
 - Blanco: <0,100 OD450
 - CN: 0,050 OD tras restar el blanco
 - Cal: S/Ratio>1,1
 - CP: >1.000 OD
- Interpretación de los resultados:
 - $CN + 0,350 = \text{Ratio}$
 - Ratio < 1,0 Negativo
 - Ratio > 1,0 Positivo

ELISA de segunda generación:

Aproximadamente 30 minutos antes de iniciar el procedimiento, se sacaban los reactivos de la nevera para alcanzar la temperatura ambiente (15 a 30 °C). Se invertían los reactivos suavemente varias veces evitando que formen espuma.

Disponer los pocillos de control del ensayo de forma que el pocillo 1A sea el sustrato en blanco.

- Preparación de reactivos:
 1. Preparación del tampón de lavado (X1): hubo que mezclar una parte de concentrado de tampón de lavado X20 con 19 partes de agua destilada o desionizada (dilución 1:20).
 2. Preparación de la solución sustrato: antes de finalizar la segunda incubación, se transfería una cantidad suficiente de tampón sustrato a un recipiente protegiendo el contenido de la luz. Se disolvía completamente el número apropiado de pastillas OPD en tampón sustrato antes de su uso. A continuación se incluyen las directrices de uso.

Número de pocillos	Número de microplacas	Número de pastillas OPD	Tampón sustrato (ml)
24	0,25	1	6
48	0,5	2	12
72	0,75	3	18
96	1	4	24
192	2	7	42
288	3	10	60

La solución sustrato en el momento de utilizarla, debía ser incolora o de color amarillo muy pálido.

- Procedimiento:
 1. Se dispensaron 200 µl de diluyente de la muestra a todos los pocillos, incluido el pocillo 1A.
 2. Se dispensaron 20 µl del calibrador, los controles o las muestras a los pocillos apropiados. Con el fin de garantizar la dispensación completa de los sueros de control o la muestra, se mezclaron las muestras y el diluyente de la muestra en el pocillo purgando varias veces la punta de la pipeta.
 3. Un cambio de color de verde a azul indica que se ha añadido al pocillo la muestra, calibrador o control.

4. La monitorización de omisión de la muestra (SOM) se realiza fotométricamente de la siguiente forma:
 - a) En el caso de haber humedad se limpiaba la humedad de la parte inferior de las tiras de pocillos con un paño de lino suave y absorbente antes de la lectura.
 - b) Se comprobaba que no hubiese burbujas en la vía óptica del lector en cualquiera de los pocillos antes de leer la SOM, por la posibilidad de dar lugar a resultados erróneos.
 - c) Se leía la microplaca a una longitud de onda de 610 nm. Los valores de SOM se determinaban dividiendo la densidad óptica a 610 nm para cada pocillo por la densidad óptica a 610 nm para el pocillo 1A.
 - d) Los calibradores positivos, los controles negativos o las muestras deben interpretarse usando la siguiente tabla:

Interpretación de los resultados SOM:

Resultado SOM de las muestras de control de calidad	Resultado SOM de la muestra de ensayo	Estado de procesamiento de la microplaca	Estado de la muestra
	Muestra de ensayo >1,400	Continuar con el procesamiento de la microplaca. Seguir los procedimientos de control de calidad para determinar la validez de la microplaca.	Seguir la sección INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS
dos o más calibradores positivos >1,400 Y controles negativos para T. cruzi >1,400	Muestra de ensayo <1,400	Continuar con el procesamiento de la microplaca. Seguir los procedimientos de control de calidad para determinar la validez de la microplaca.	Seguir la sección INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS. Si la muestra es no reactiva, volver a ensayar la muestra en un pocillo único. Verificar visualmente la dispensación de la muestra. O Si la muestra es reactiva, ésta deberá repetirse por duplicado. Verificar visualmente la dispensación de la muestra. O Repetir el SOM. Si la muestra es no reactiva y se ha vuelto a ensayar debido a un SOM fallido, seguir la sección INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.
dos o más calibradores positivos <1,400 Y/O controles negativos para T. cruzi <1,400	N/A	Interrumpir el procesamiento de la microplaca. El ensayo no es válido y debe repetirse.	No válido

5. Se cubría el soporte de la tira de pocillos con un adhesivo para microplacas. Se incubaba a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 60 minutos ± 5 minutos.
6. Con un lavador de microplacas se aspiraban y lavaban todos los pocillos cinco veces con tampón de lavado (X1). Cuando concluía el lavador, se invertía la microplaca y dando un golpe firme sobre una toalla de papel seca se eliminaba el exceso de tampón de lavado.
7. Se dispensaron 200 μl de conjugado a todos los pocillos, excepto al pocillo 1A.
8. La monitorización de omisión del conjugado (COM) se realiza fotométricamente de la siguiente forma:
 - a) En el caso de haber humedad se limpiaba la humedad de la parte inferior de las tiras de pocillos con un paño de lino suave y absorbente antes de la lectura.
 - b) Se comprobaba que no hubiese burbujas en la vía óptica del lector en cualquiera de los pocillos antes de leer la SOM, por la posibilidad de dar lugar a resultados erróneos.
 - c) Se leyó la microplaca a una longitud de onda de 490 nm o 492 nm.
 - d) No había que poner en blanco el lector en el pocillo 1A puesto que los valores de la densidad óptica (DO) de COM no están ajustados con respecto al blanco.

Interpretación de los resultados COM

Resultado COM de las muestras de control de calidad	Resultado COM de la muestra de ensayo	Estado de procesamiento de la microplaca	Estado de la muestra
dos o más calibradores positivos $>0,700$	Muestra de ensayo $>0,700$	Continuar con el procesamiento de la microplaca. Seguir los procedimientos de control de calidad para determinar la validez de la microplaca.	Seguir la sección INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS
Y			Seguir la sección INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.
controles negativos para <i>T. cruzi</i> $>0,700$	Muestra de ensayo $<0,700$	Continuar con el procesamiento de la microplaca. Seguir los procedimientos de control de calidad para determinar la validez de la microplaca.	Si la muestra es no reactiva, volver a ensayar la muestra en un pocillo único. Verificar visualmente la dispensación del conjugado. O Si la muestra es reactiva, ésta deberá repetirse por duplicado. Verificar visualmente la dispensación del conjugado.
dos o más calibradores positivos $<0,700$ Y/O controles negativos para <i>T. cruzi</i> $<0,700$	N/A	Interrumpir el procesamiento de la microplaca. El ensayo no es válido y debe repetirse.	No válido

9. Se cubría el soporte de la tira de pocillos con un nuevo adhesivo para microplacas. Incubar a $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durante 30 minutos ± 1 minuto.
10. Se preparaba la suficiente solución sustrato antes de utilizarla en el paso 14 para esperar a que las pastillas OPD se disuelvan completamente.
11. Después de la segunda incubación, se lavaban los pocillos en la forma descrita en el paso 8.
12. Se dispensaron 200 μl de solución sustrato a todos los pocillos, incluido el 1A.
13. Se incubo la microplaca a temperatura ambiente ($15\text{-}30\text{ °C}$) en la oscuridad 30 minutos ± 1 minuto.
14. Se dispensaron 50 μl de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 4N a todos los pocillos, incluido el pocillo 1A. Para garantizar un mezclado apropiado, se golpeaba suavemente la microplaca teniendo cuidado de no salpicar el contenido de los pocillos.
15. Se leyó la microplaca de la tira de pocillos en una longitud de onda de 490 nm o 492 nm con una longitud de onda de referencia a 620 nm o 630 nm.
16. Se puso el lector en blanco en el pocillo 1A.
17. Se calcularon los valores de absorbancia ajustados con respecto al blanco para obtener la lectura DO final, restando el valor de absorbancia del pocillo 1A de los valores de absorbancia de los pocillos de los calibradores, los controles y las muestras.

Nota: Las microplacas deben leerse antes de 60 minutos desde la dispensación del ácido sulfúrico 4N. Las microplacas deben mantenerse en la oscuridad hasta el momento de la lectura.

- Control de calidad

1. Criterios de aceptación del sustrato en blanco

- El valor de absorbancia del pocillo del blanco de sustrato (pocillo 1A) debe ser $> 0,010$ y $< 0,050$ de DO. La microplaca no es válida si el pocillo del blanco de sustrato no es válido.

2. Criterios de aceptación del calibrador positivo

Calcular los valores de absorbancia ajustados con respecto al blanco para obtener la lectura DO final, restando el valor de absorbancia del pocillo 1A de los valores de absorbancia de los pocillos del calibrador positivo antes de aplicar los criterios de control de calidad.

- Los valores de absorbancia del calibrador positivo deben ser $> 0,300$ y $< 1,800$ de DO. Si uno de los tres valores del calibrador positivo está fuera de los límites especificados de DO, el pocillo no es válido. Si dos o más de los pocillos del calibrador positivo no son válidos, la microplaca no es válida.
- Los valores del calibrador positivo (DO) se aplicarán para establecer el Test de Límites del Calibrador Positivo (como se describe a continuación).
- Requisitos de la media del calibrador positivo.

La media del calibrador positivo se calcula a partir de todos los pocillos válidos del calibrador positivo.

Test de Límites del Calibrador Positivo

- Calcular el intervalo aceptable para el valor de DO de cada calibrador positivo de la siguiente manera:
- $0,85 \times \text{media del PCAL} = \text{Valor inferior aceptable de DO para cada DO PCAL}$
- $1,15 \times \text{media del PCAL} = \text{Valor superior aceptable de DO para cada DO PCAL}$

- a) Si todos los calibradores positivos son válidos después de aplicar los límites del test especificados para SOM, COM y las lecturas finales, y uno de los tres valores de los calibradores positivos está fuera del intervalo del Test de Límites, el valor de ese calibrador positivo no será válido. Si el valor superior de los dos calibradores positivos restantes no se encuentra en el 15 % del inferior, todos los calibradores positivos no son válidos.
- b) Si todos los calibradores positivos son válidos después de aplicar los límites del test especificados para SOM, COM y las lecturas finales, y más de uno de los tres valores de los calibradores positivos están fuera del intervalo del Test de Límites, el valor del calibrador positivo más alejado del valor de la media de los calibradores positivos no será válido. Si el valor superior de los dos calibradores positivos restantes no se encuentra en el 15 % del inferior, todos los calibradores positivos no son válidos.
- c) Si dos de los calibradores positivos son válidos después de aplicar los límites del test especificados para SOM, COM y la lectura final, el valor superior de los calibradores positivos válidos deben encontrarse en el 15 % del valor inferior o sino todos los calibradores positivos no serán válidos.

3. Cálculo del punto de corte (CC)

- a) Determinar la media de los valores válidos del calibrador positivo.
- b) Calcular el punto de corte (cut-off).

Punto de corte = la media de DO del calibrador positivo multiplicado por 0,460 (constante del valor de corte).

4. Cálculo de la señal/punto de corte (S/C)

- a) Calcular los valores de señal/punto de corte (S/C) de los controles negativos y las muestras individuales dividiendo cada valor de absorbancia (DO) entre el punto de corte (punto de corte).
- b) Comunicar el S/C con tres decimales.

5. Criterios de aceptación del control negativo

La señal/punto de corte del control negativo debe ser $>0,012$ y $<0,300$. Si cualquiera de los dos valores está fuera de este límite, la microplaca no es válida y deben repetirse todas las muestras de la microplaca.

- Interpretación de los resultados

Nota: Antes de interpretar los resultados del ensayo, deberán interpretarse los resultados SOM y COM.

Consultar la interpretación de la tabla de resultados SOM en el paso 6 en la sección Procedimiento de la prueba y la interpretación de la tabla de resultados COM en el paso 10 en la sección Procedimiento de la prueba.

1. Las muestras con valores de absorbancia inferiores a -0,020 DO deben volver a ensayarse en un pocillo único. Se considerará que las muestras con valores de absorbancia menores que el valor límite son no reactivas, incluso aunque el valor de absorbancia al repetir el test continúe siendo inferior a -0,020 DO.
2. Las muestras con valores de absorbancia iguales o superiores a -0,020 e inferiores al valor límite se consideran no reactivas. No es necesario hacer nuevas pruebas.
3. Las muestras cuyo valor de absorbancia sea igual o mayor que el valor límite se consideran inicialmente reactivas y deben volver a ensayarse por duplicado antes de proceder a su interpretación definitiva.
4. Al volver a ensayar una muestra inicialmente reactiva, ésta se considerará repetidamente reactiva para anticuerpos a *T. cruzi* si cualquiera o ambas de las determinaciones por duplicado son reactivas, es decir, igual o mayor que el valor límite.
5. Después de volver a ensayar una muestra inicialmente reactiva, ésta se considerará no reactiva para anticuerpos frente a *T. cruzi*, si ambas determinaciones por duplicado son negativas, es decir, menores que el valor límite.

Detección de ácidos nucleicos (ADN)

Extracción de ADN

Para la extracción de ADN procedente de la sangre con EDTA se han utilizados tres métodos diferentes que se describen a continuación.

- *Extracción de sangre con ficoll/capa leucocitaria*
 1. Se dispensó el mismo volumen de PBS como muestra se tenía. Tras lo cual se invirtió varias veces el tubo de la muestra para que se mezclase bien la sangre.
 2. Se prepararon tantos tubos de tapón rojo como muestras había. Posteriormente se dispensaron 2,5ml de Ficoll (la mitad de volumen que de sangre).
 3. Se vertió muy lentamente por la pared del tubo con pipeta pasteur, la muestra, evitando que cayeran células al fondo.
 4. Se centrifugaron las muestras 20 minutos a 2.000 rpm.
 5. Se cogió el halo de células con pipeta pasteur y se pasó a un tubo tapón rojo.
 6. Se dispensaron 7ml de PBS estéril, resuspendiendo las células, para lavarlas.
 7. Se centrifugaron las muestras 10 minutos a 2.000 rpm.
 8. Se decantó el PBS, volcando el tubo y se eliminó en todo lo posible el volumen restante.
 9. Tras repetir los pasos 6-7-8 se retiró el PBS totalmente, se dispensaron 200 µl de PBS, se resuspendió bien el sedimento («pellet») y se traspasó a un eppendorf de 1.5 ml.
- *Extracción de dna de trypanosoma.* (High Pure PCR Template Preparation Kit)
 1. Se preparó un termobloque a 72 °C.
 2. A las muestras conseguidas (pellet+200 µl PBS) se añadieron 200 µl Binding Buffer (tapón verde).

3. Se dispensaron 40 µl de Proteinasa K (reconstituida).
4. Se vorteoó y se incubó 10 minutos en el termobloque (72 °C).
5. Se prepararon 200 µl por muestra del Elution Buffer (tapón transparente) en un eppendorf, y se incubaron en el termobloque (72 °C).
6. Se prepararon cuatro columnas recolectoras, un filtro numerado y un eppendorf numerado por cada muestra.
7. Se dispensaron 100 µl de Isopropanol a cada muestra.
8. Se mezcló pipeteando y se traspasó cada muestra al filtro correspondiente.
9. Se centrifugaron las muestras un minuto a 8.000 rpm.
10. Tras pasar el filtro a una nueva columna, se dispensaron 500 µl de Renoval Buffer (tapón negro).
11. Se centrifugaron las muestras 1 minuto a 8.000 rpm.
12. Tras pasar el filtro a otra columna, se dispensaron 500 µl de Wash Buffer (tapón azul).
13. Se centrifugaron las muestras 1 minuto a 8.000 rpm.
14. Tras pasar el filtro a otra columna, se dispensaron 500 µl de Wash Buffer (tapón azul).
15. Se centrifugaron las muestras 1 minuto a 8.000 rpm.
16. Se volcó y para secar la columna se dio un golpe de centrifuga 10 segundos a 14.000 rpm.
17. Tras pasar el filtro a un eppendorf, se dispensaron 200µl de la Elution Buffer preparada a 70-72 °C.
18. Se centrifugaron las muestras 1 minuto a 8.000 rpm.
19. Se retiró el filtro y se guardaron las muestras a -20 °C.

Amplificación y detección del DNA de *T. cruzi*

Se realizó una PCR a tiempo real con sonda de hidrólisis en un LightCycler 480 utilizando los siguientes cebadores:

TRCZ-1: 5´- AST CGG CTG ATC CTT TTC GA

TRCZ-2: 5´- AAT TCC TCC AAG CAG CGG ATA

Para la amplificación y detección se utilizaron los siguientes reactivos:

Componentes	Volumen	Concentración final
Agua de grado (vial 2)	4,4 µl	
Sonda UPL	0,2 µl	100 nM
TRCZ-1	0,2 µl	200 nM
TRCZ-2	0,2 µl	200 nM
Light Cyler 480 probes Master 2x conc (vial 1)	10 µl	1x
Muestra	5 µl	
Volumen total	20 µl	

El protocolo de amplificación y detección de *T. cruzi* mediante PCR a tiempo real con sondas UPL que se siguió fue el siguiente:

Modo de Análisis	Ciclos	Sección	Temperatura (°C)	Tiempo (hh:mm:ss)	Modo de adquisición
Pre-incubación					
Ninguno	1		95	00:10:00	Ninguno
Amplificación					
Cuantificación	40	Desnaturalización	95	00:00:10	Ninguno
		Extensión	60	00:00:30	Simple
Enfriamiento					
Ninguno	1		40	00:00:20	Ninguno

Para la confirmación de los resultados obtenidos se utilizó PCR a tiempo real mediante fluorescencia (SYBR Green) en el LightCycler™ 2.0 (Roche Applied Science, Basilea, Suiza) con el siguiente protocolo:

Modo de Análisis	Ciclos	Sección	Temperatura (°C)	Tiempo (hh:mm:ss)	Modo de adquisición
Pre-incubación					
		Desnaturalización	95	00:00:10	Ninguno
Cuantificación	40	Fusión	55	00:00:05	Ninguno
		Extensión	72	00:00:40	Simple
Fusión					
		Desnaturalización	95	00:00:05	Ninguno
		Fusión	65	00:00:30	Ninguno
		Disociación	95 (rampa de 0,1 °C/s)		Continuo
Enfriamiento					
Ninguno	1	40	00:00:30	Ninguno	Ninguno

ISBN 978-84-457-3290-8



9 788445 732908