

VI WORKSHOP INTERNACIONAL. “TESTES DIAGNOSTICOS ACESSIVEIS E  
QUALIDADE ASSEGURADA PARA PROGRAMAS DE SAÚDE PÚBLICA”

# Uso de Pruebas Rápidas como punto de partida para el Diagnóstico de Chagas Congénito EXPERIENCIA DE BOLIVIA

Dr. Freddy Tinajeros  
COORDINADOR DE PROYECTOS  
INVESTIGADOR ASOCIADO  
UNIVERSIDAD JOHN HOPKINS-PRISMA



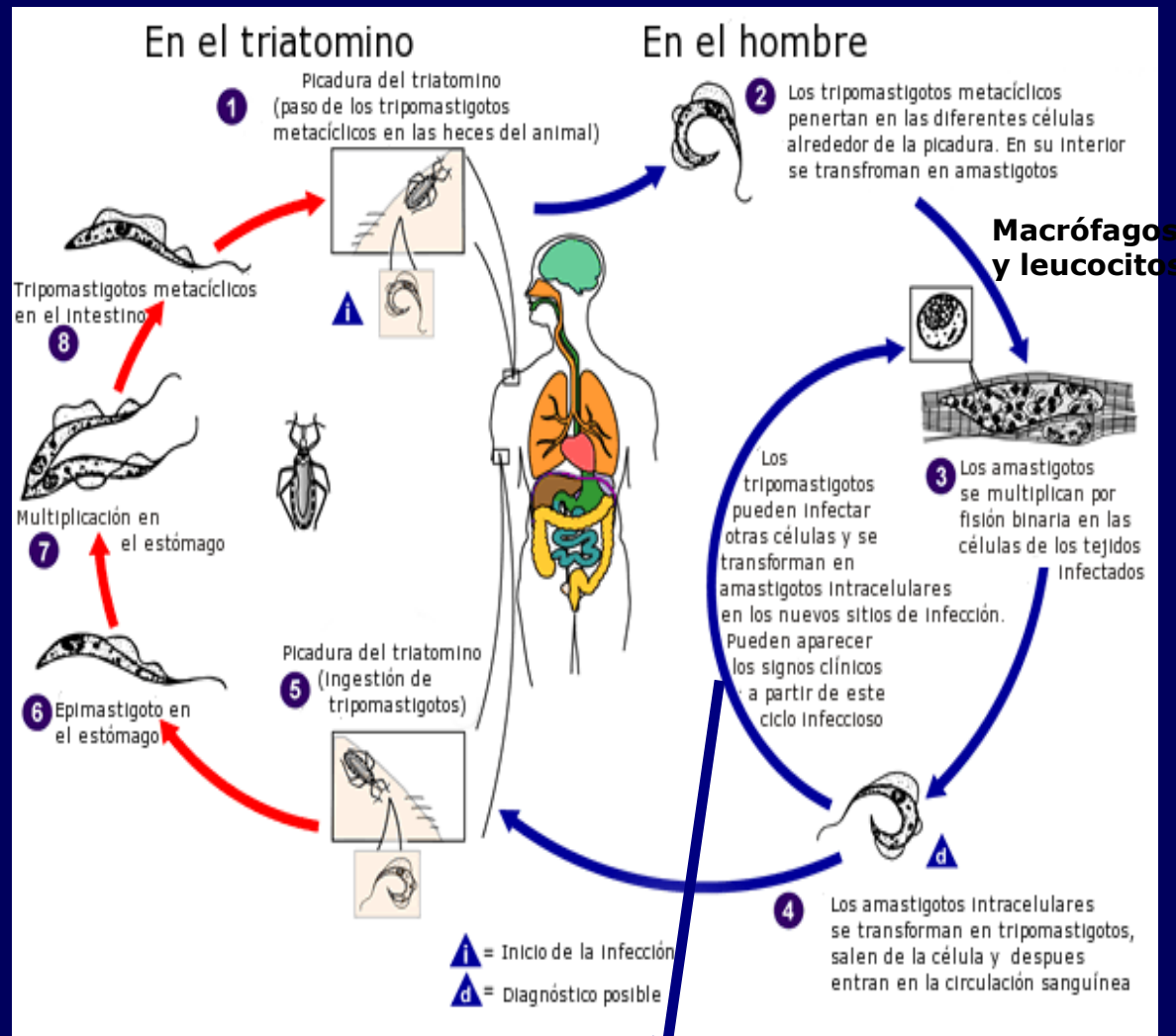
# Enfermedad de Chagas

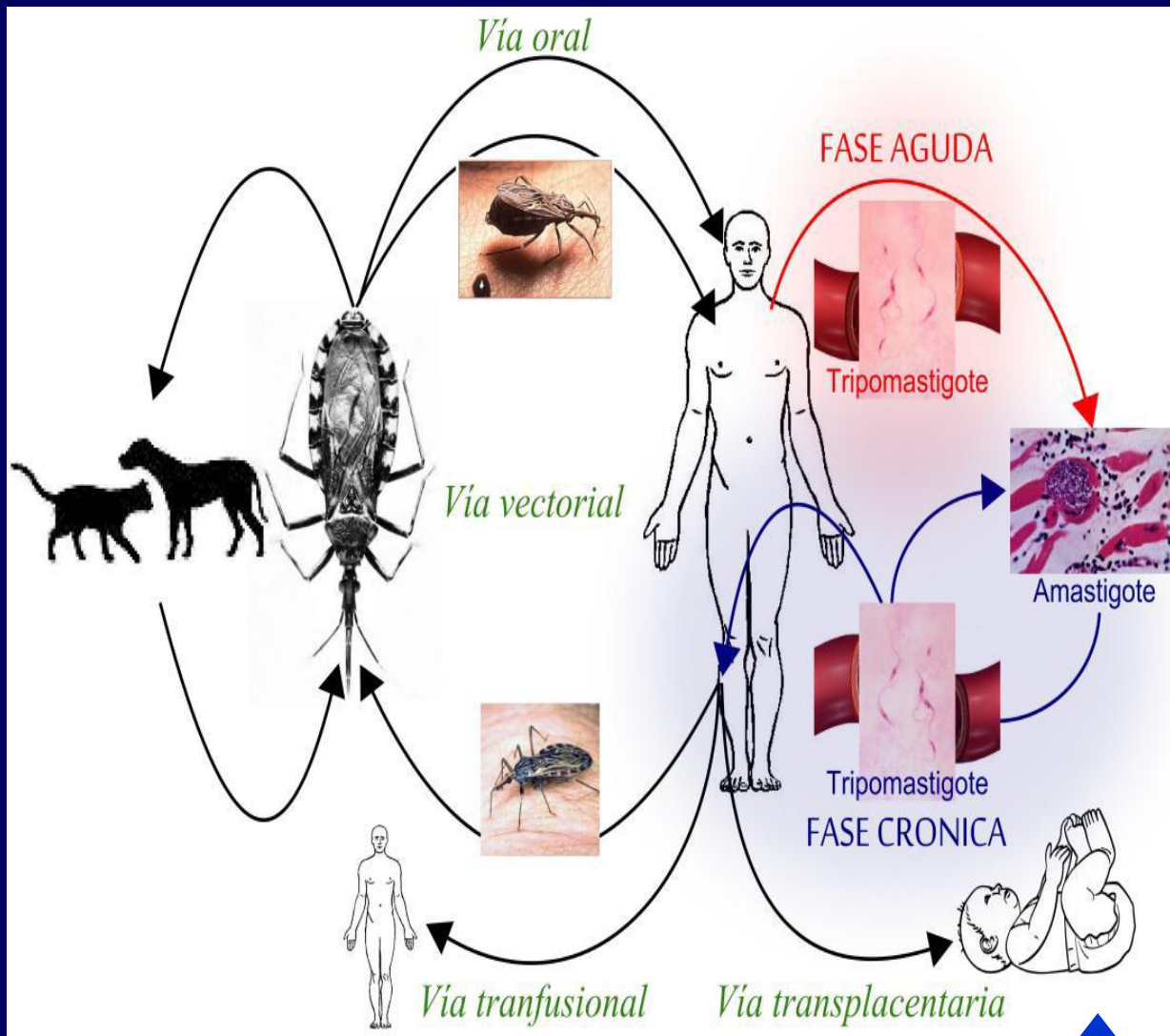
La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana, es una infección causada por un parásito denominado Trypanosoma cruzi, y es llamada así, por su descubridor, el médico brasileño Carlos Chagas.

## COMO SE TRANSMITE:

- **PICADURA:** por la picadura de la chinche, chince picuda, vinchuca, marimacha o timbuku, que al picar defeca en la piel y genera escozor. Al rascar el parásito penetra y la persona es contaminada
- **PERINATAL:** De madre a hijo en el embarazo si la mujer tiene la enfermedad
- **TRANSFUSIÓN:** Por transfusión de sangre u órganos contaminados
- **ALIMENTOS:** Por la ingestión de alimentos contaminados con heces de la vinchuca

# Ciclo de vida del *Trypanosoma cruzi*





# Transmisión de *T. cruzi* no vectorial

- Congénito
- Transfusión de sangre infectada
- Transplante de órgano de donante infectado
- Accidentes del laboratorio
- Oral
  - Brotes de Chagas aguda en Brasil y Venezuela vinculados a jugos y frutas contaminadas
  - Puede ser ruta importante para animales que comen los vectores





*1-2 semanas*

Infección por *T. cruzi*

Fase aguda

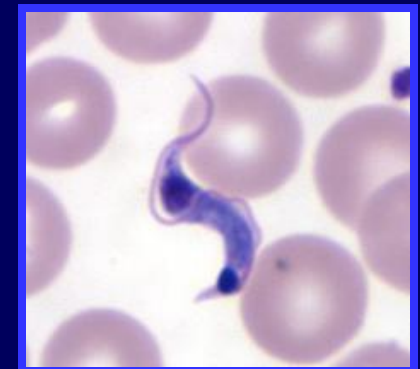


1-2 semanas

Infección por *T. cruzi*

## Fase aguda

- < 1% diagnosticado, la mayoría tiene síntomas no específicos y leves
- Parasitemia alta, detectable por microscopía en sangre periférica
- A veces, signo en el lugar de inoculación
  - Señal de Romaña (hinchazón palpebral) o chagoma (absceso en piel)
- Fiebre, malestar general, hepatoesplenomegalia, linfocitosis
- Complicaciones poco frecuente pero grave: meningoencefalitis, miocarditis
  - Llevan riesgo alta de mortalidad







1-2 semanas

Infección por *T. cruzi*

Fase aguda

~8 semanas

Fase crónica

- Síntomas agudas resuelven sin tratamiento
- Parasitemia baja hasta que no se detecta por microscopía
  - Diagnóstico basado en serología de IgG
- Puede infectar a vectores, por transfusión, de madre al recién nacido
- Sin tratamiento la infección dura toda la vida





1-2 semanas

Infección por *T. cruzi*

Fase aguda

~8 semanas

Fase crónica

Forma indeterminada

Ni signos ni síntomas de la enfermedad

70 - 80% seguirán  
sin síntomas  
durante toda la vida



1-2 semanas

Infección por *T. cruzi*

Fase aguda

~8 semanas

Fase crónica

Forma indeterminada

Ni signos ni síntomas de la enfermedad

20 - 30% progresarán  
durante años - décadas

70 - 80% seguirán  
sin síntomas  
durante toda la vida

*Puede reactivar en condiciones  
de inmunosupresión*

Formas determinadas

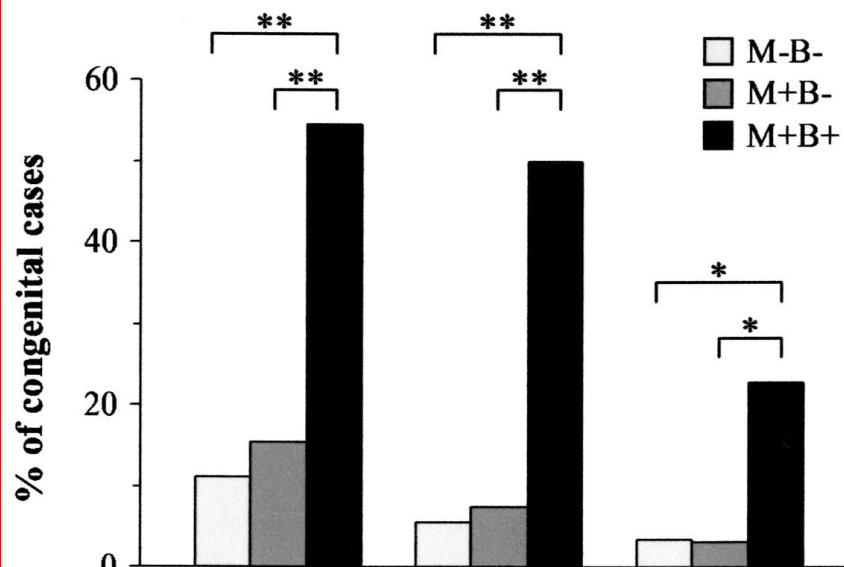
- Cardiopatía chagásica y/o
- Forma digestiva

# Infección congénita por *T. cruzi*

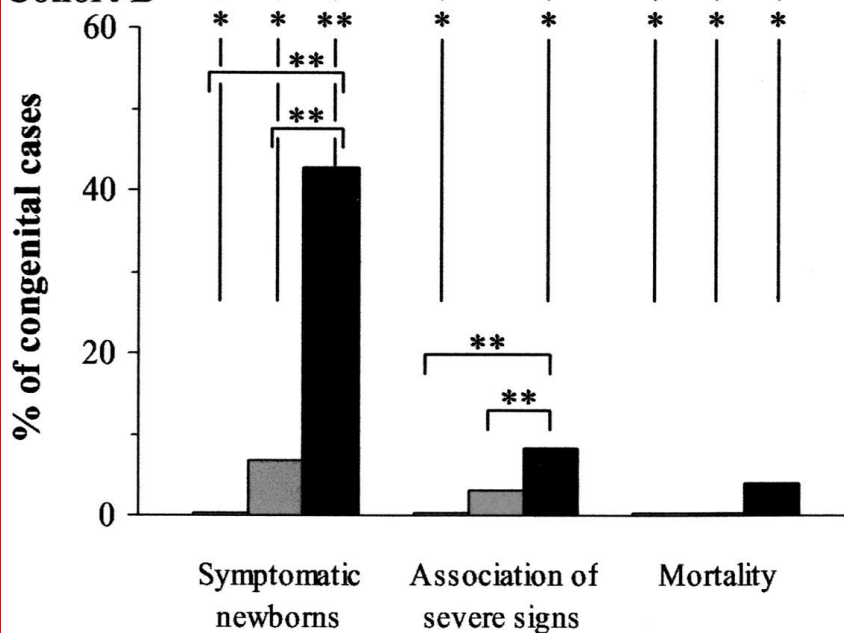
- Infección aguda por *T. cruzi* en el recién nacido
- El cuadro clínico usualmente es leve o asintomático
- **Raras veces complicaciones severa:** meningoencefalitis, miocarditis, síndrome de dificultad respiratoria
- Diagnostico temprano requiere demostración del parásito
  - Micro-método: Microscopía de sangre concentrada
  - PCR en laboratorios avanzados
  - Parasitemia aumenta después del nacimiento
  - IgG materna hasta los 9 meses



### Cohort A



### Cohort B



La severidad clínica esta bajando a través del tiempo

En cohortes de bebés nacidos en Cochabamba 1992-1994 vs 1999-2001

- 45% vs 5% con 1-m Apgar < 7
- 50% vs 15% peso < 2500 g
- 14% vs 2% mortalidad
- Relacionado a mejoramiento socioeconómico, atención prenatal mejor, disminución de reinfecciones maternas?

# Estudios de Chagas Congénito

- 21 estudios prospectivos 1990-2014
  - Argentina (8), Bolivia (7), Brasil (1), Chile (1), Perú (1)  
México (2), El Salvador (1)
  - 8 usaron solo micro-método en muestras de nacimiento
  - 11 incluyeron muestras de 0 o 1 mes de edad y además las de 8-12 meses
- Probablemente mucha variación en grado de detección
  - Sensibilidad del micro-método 28% a 50%
  - PCR solo en 7 estudios
  - Pérdida durante el seguimiento a los 8-12 meses 42 - 82%

*Mallimaci 2010; Bisio 2011; Blanco 2000; De Rissio 2010; de Rissio 2009; Mora 2005; Bua 2013; Arcavi 1993; Bern 2009; Kaplinski 2015; Salas Clavijo 2012; Torrico 2004 (2 cohorts); Salas 2007; Brutus 2008; Sasagawa 2015; Cardoso 2012; Olivera Mar 2006; Nisida 1999; Apt 2013; Mendoza Ticona 2005*

# Prevalencia materna de *T. cruzi*

- Promedio: 8.5% (0.7 to 42.2%)
  - Argentina (3): 5.5% (3.8-8.5)
  - Bolivia (7): 27.6% (17.3-42.2)
  - México/El Salvador (3): 4.0% (3.8-7.3)
  - Chile (1): 3.4%
- La prevalencia esta bajando a través del tiempo
  - En Santa Cruz, Bolivia: 50% en los 1980s, 29% en 2006-07, 18.7% en 2010-2013
- Prevalencia mayor en mujeres mayores
  - Prevalencia refleja incidencia acumulada
  - También refleja menos exposición en mujeres jóvenes por los programas de control vectorial

# Tasas de transmisión congénita

- Promedio: 5.1% (rango 0-11.3%)
  - 8 estudios con muestras 0 mes, sin PCR: 5.1%
  - 6 estudios con muestras a 0 y 8-12 meses, con PCR: 6.9%
- Consistente con meta-análisis

Table 2. Results of subgroup and sensitivity analyses

	No. of studies	Pooled congenital infection rate (95% CI)	Q statistic ( <i>P</i> -value)	<i>I</i> <sup>2</sup>	Random effects weight
<b>Method of diagnosis</b>					
Direct parasitology and/or serology	22	4.6% (3.4–5.7%)	27.8 ( <i>P</i> < 0.01)	24.5	84.6
PCR	9	6.0% (4.3–7.7%)	8.4 ( <i>P</i> = 0.27)	4.9	56.3
Mixed/other	27	4.5% (3.4–5.5%)	22.3 ( <i>P</i> = 0.06)	0	93.5
<b>Endemicity of country</b>					
Endemic	30	5.0% (4.0–6.0%)	30.9 ( <i>P</i> < 0.01)	6.2	128.4
Non-endemic	21	2.7% (1.9–3.5%)	16.7 ( <i>P</i> = 0.86)	0	56.4
<b>Sensitivity analysis</b>					
Excluding studies with zero congenital infections	38	4.8% (4.0–5.7%)	39.8 ( <i>P</i> < 0.01)	7.1	153.4



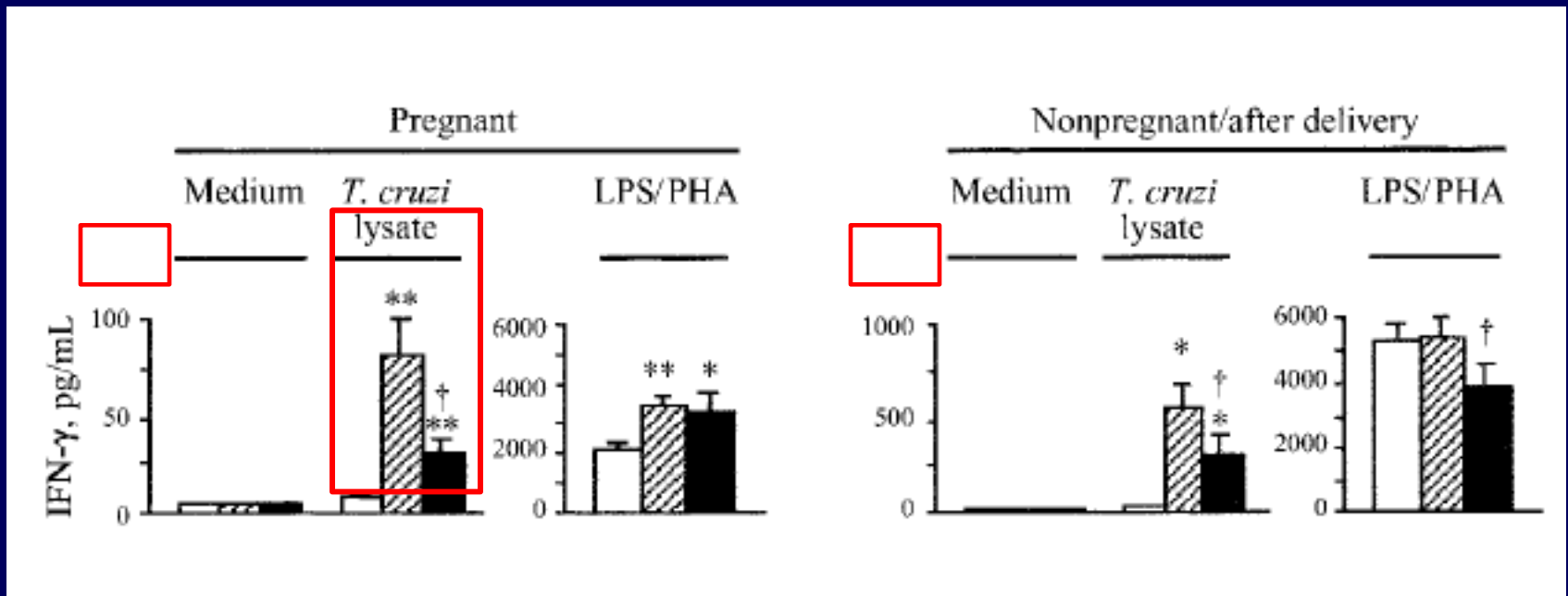
# Influencia de genotipo de *T. cruzi*

- Modelos experimentales en animales sugieren que algunas sepas tienen mas riesgo que otras, pero los datos humanos no muestran diferencias
- Distribución de DTU en infecciones congénitas es igual a la distribución en adultos en el mismo lugar
  - La mayoría de los datos son de Argentina/Bolivia y muestran predominantemente Tc V, con algunos Tc I, II, VI
- Tasa de transmisión por área geográfica
  - Argentina/Bolivia (15 estudios; Tc V presumido) 5.7%
  - México/El Salvador (3 estudios; Tc I presumido) 3.1%
    - Diferencias en metodología impide la comparación

# Determinantes de transmisión vertical

- Carga parasitaria de la madre es la determinante más inmediata y fuerte de riesgo de transmisión
  - Basado en PCR cuantitativo o convencional, o hemocultivo
  - Hallazgos consistentes en varios estudios
- Otros factores probablemente funcionan a través de sus efectos en la carga parasitaria
  - Mujeres con infección aguda o con co-infección por VIH
  - Edad menor
  - Respuesta inmunológica materna

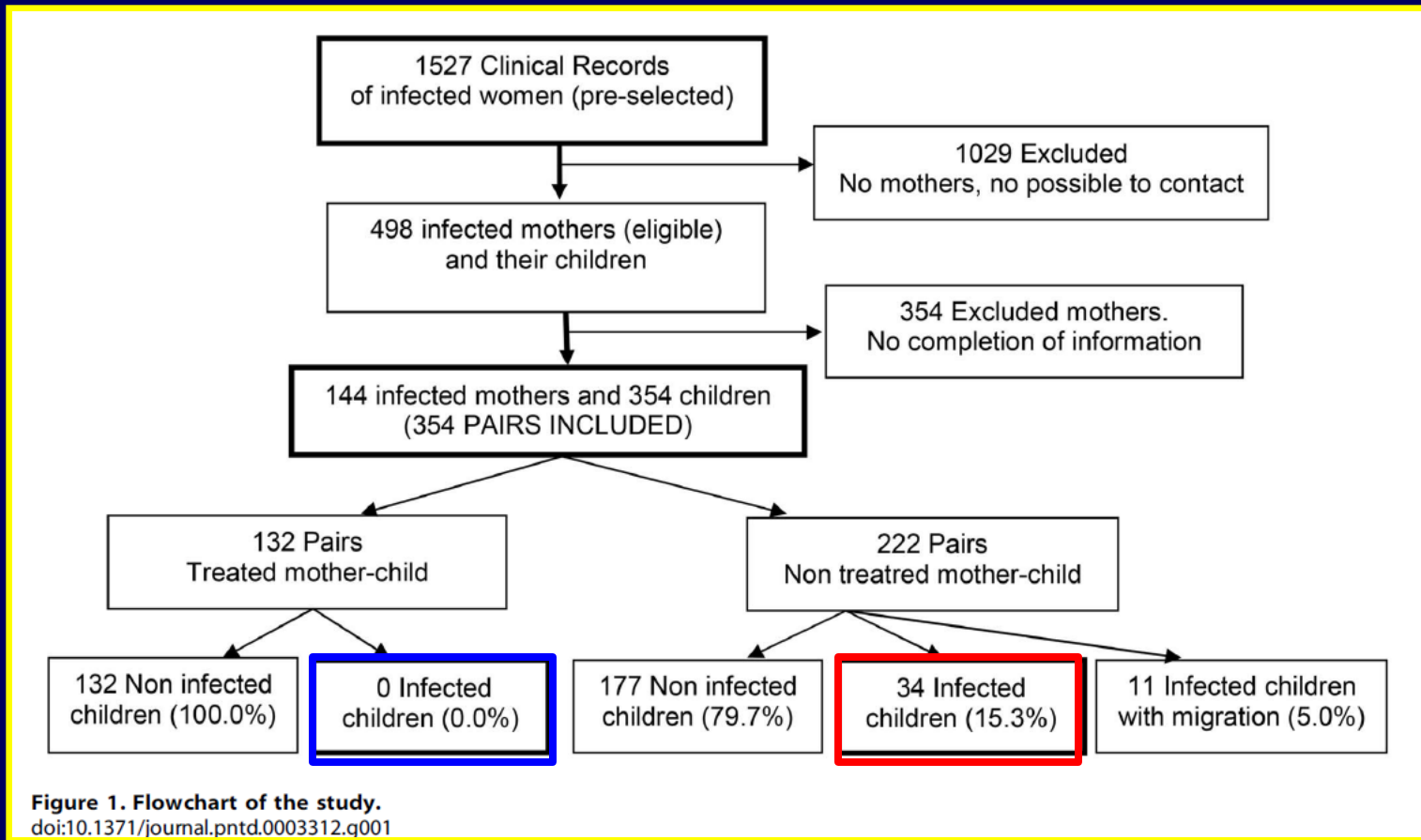
# Madres de recién nacidos infectados tienen respuesta menor de interferón- $\gamma$ comparado con madres infectadas no transmisoras



- Uninfected mothers
- Infected mothers of uninfected infants
- Infected mothers of infected infants

Respuesta de IFN- $\gamma$  en gestantes es casi 10 veces menor que en mujeres no gestantes

# Mujeres tratadas antes del embarazo tienen mucho menos probabilidad de transmitir a sus niños



**RR 0.04 [95% CI 0.012, 0.166]**

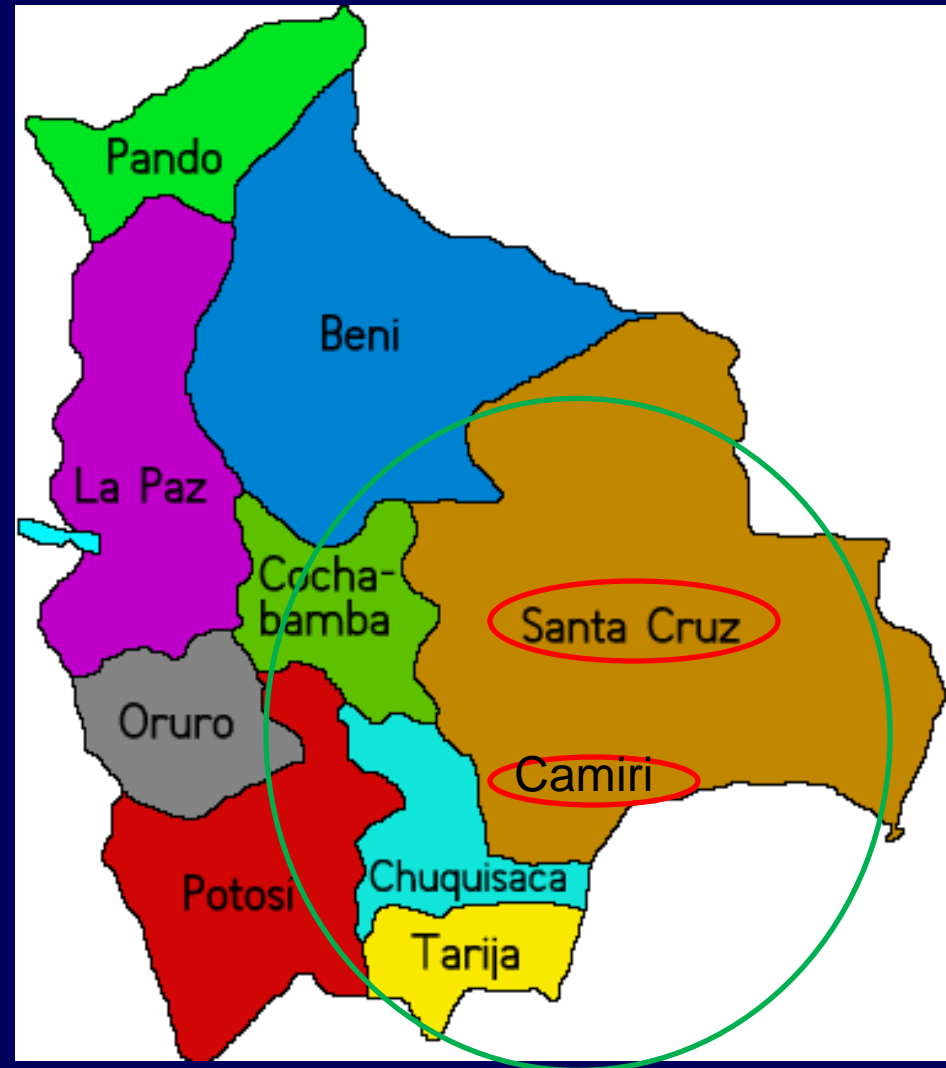
# Lugares del estudio

## Objetivos del estudio

- Evaluar tasa y factores de riesgo para transmisión congénita
- Evaluar pruebas alternativas para diagnóstico en recién nacidos

## Procedimientos

- Prueba rápida en madres con confirmación por serología convencional
- Examinación de recién nacidos de madres infectadas a los 0, 1, and 9 meses de edad



Mujeres gestantes acudiendo al hospital para el parto

Prueba rápida +

Prueba rápida —

Muestras de sangre y orina del RN para micrométodo, PCR, Q-PCR y TESA Blot

Estado materno confirmado por 2 pruebas serológicas convencionales

Seguimiento activo de recién nacidos de madres seropositivas: muestras (0, 1 y 9 m)

*Infección congénita diagnosticada por micrométodo, o por serología a los 9 meses: recién nacido referido inmediatamente para tto.*

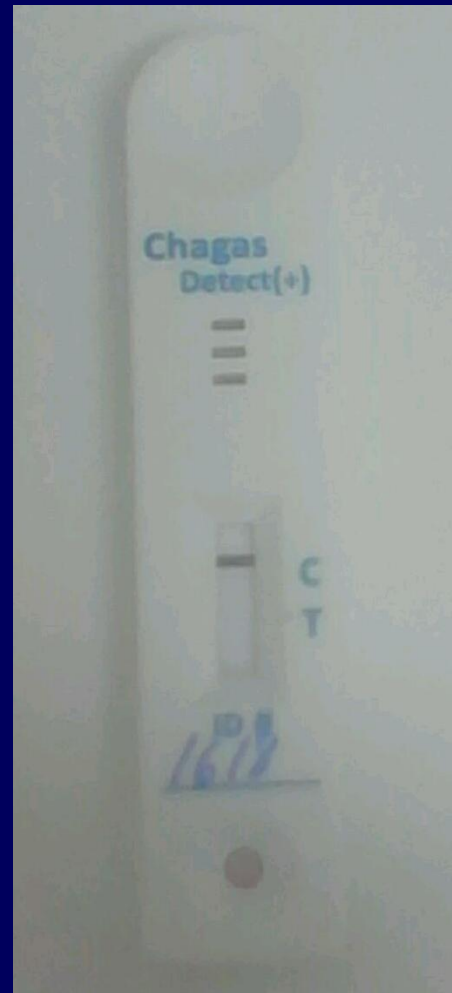
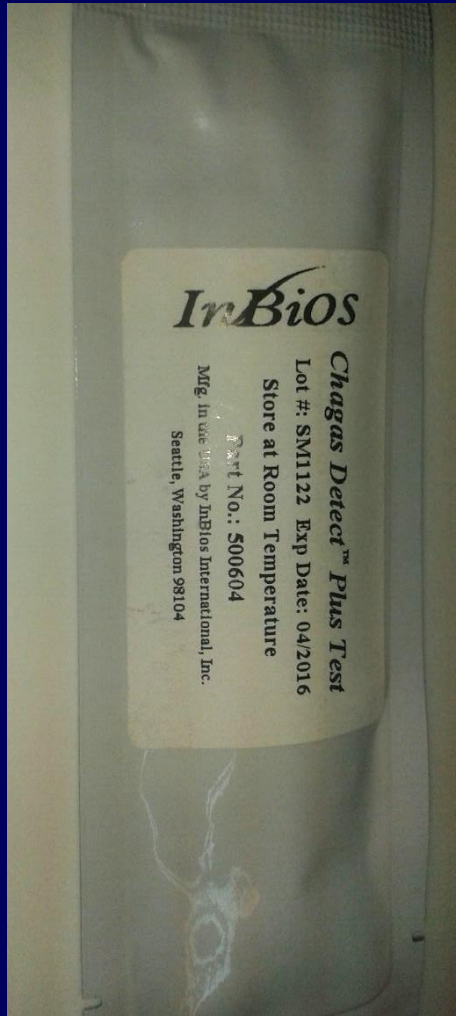
Estado final del niño definido por consenso entre ensayos múltiples

# Prueba Rápida de Chagas

- Realizado en el Laboratorio del Hospital de la Mujer a todas las embarazadas en trabajo de parto
- Fue el punto de partida para identificar a los posibles RN con Chagas
- Pruebas rápidas Inbios diagnostic Plus Test

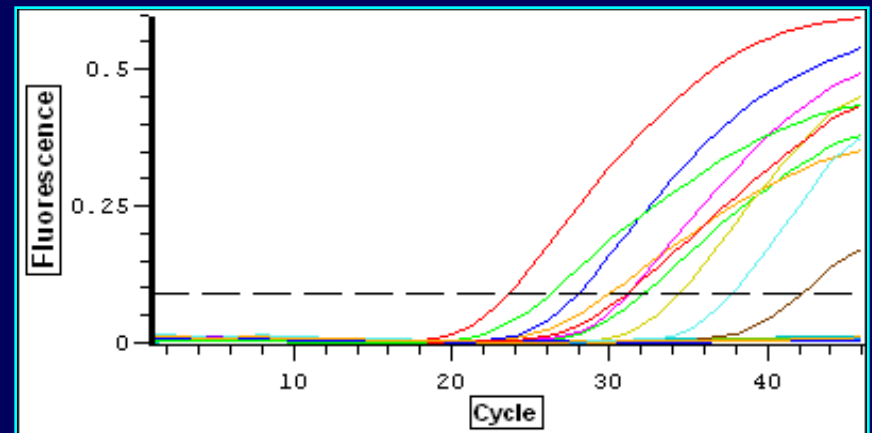


# Pruebas Rápidas para Chagas



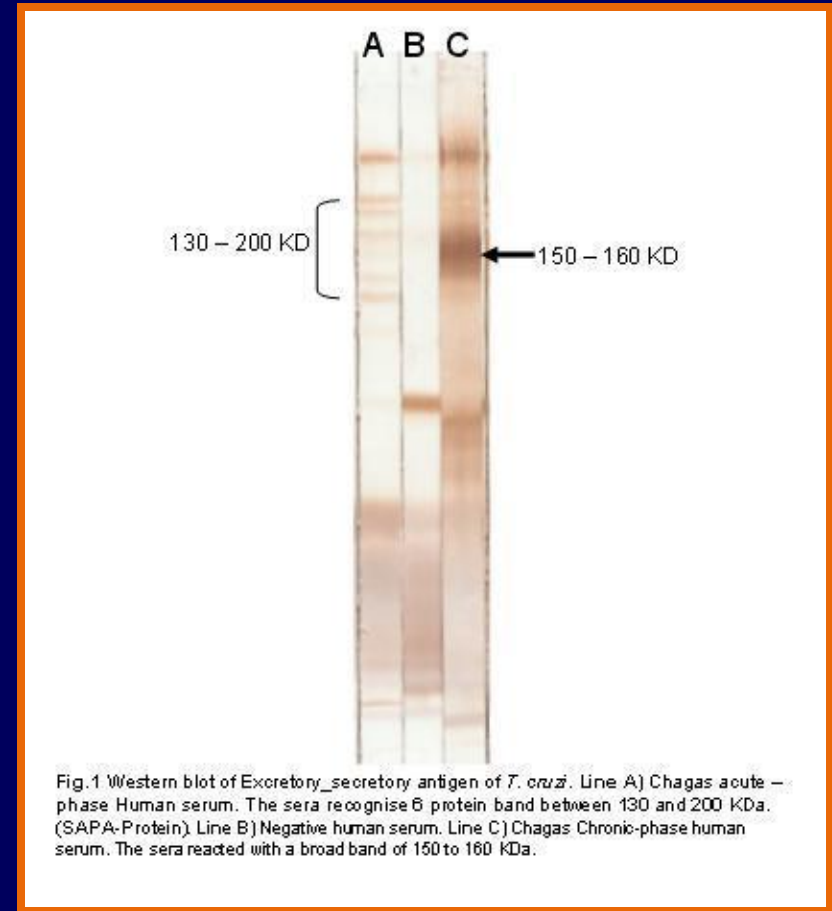
# Ensayos moleculares para *T. cruzi*

- Hecho en nuestro lab en Lima
- Sangre de la madre y sangre – orina del recién nacido
- PCR cuantitativo (Piron et al 2007)
  - Primers Tcz1/Tcz2
  - Labeled with 5' FAM
  - Taqman human RNase P detection reagent



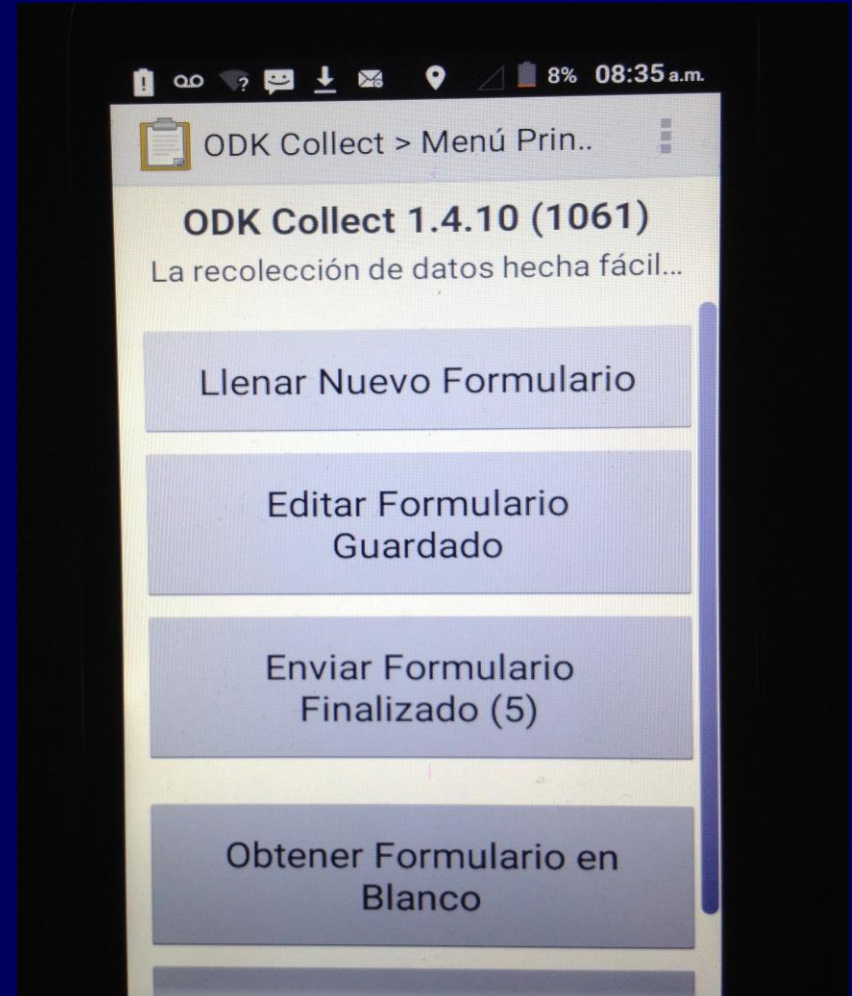
# Prueba alternativa: IgM TESA-blot

- IgG blot en infección crónica muestra banda ancha a 150-160 kD
- IgM blot en infección aguda o congénita muestra bandas SAPA
- Requiere lab con experiencia y validación cuidadosa

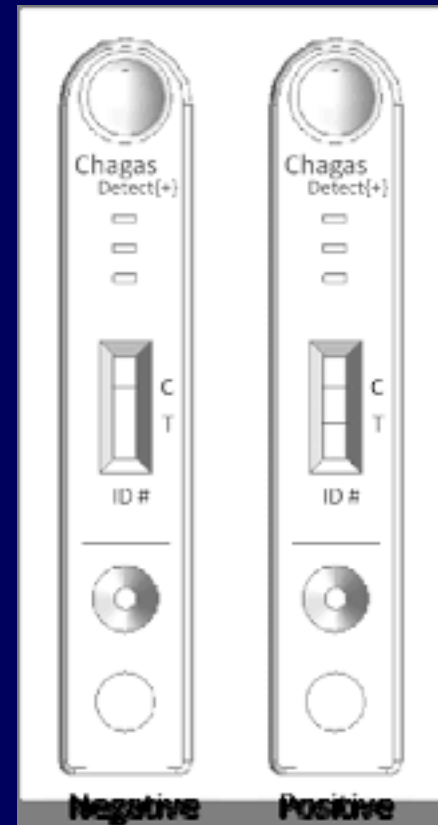


# Cuestionario de reclutamiento realizado con celulares

- Datos generales
- Sociodemográficos
- Datos de historia de vivienda
- Datos gineco-obstétricos de la madre
- Datos del RN, apgar, peso, talla, perímetro cefálico, hepatomegalia, esplenomegalia y otras enfermedades
- Resultados de laboratorio de la madre y el niño
- Control RN, a 1 mes y 9 meses



# Resultados



# Estado clínico de los recién nacidos infectados

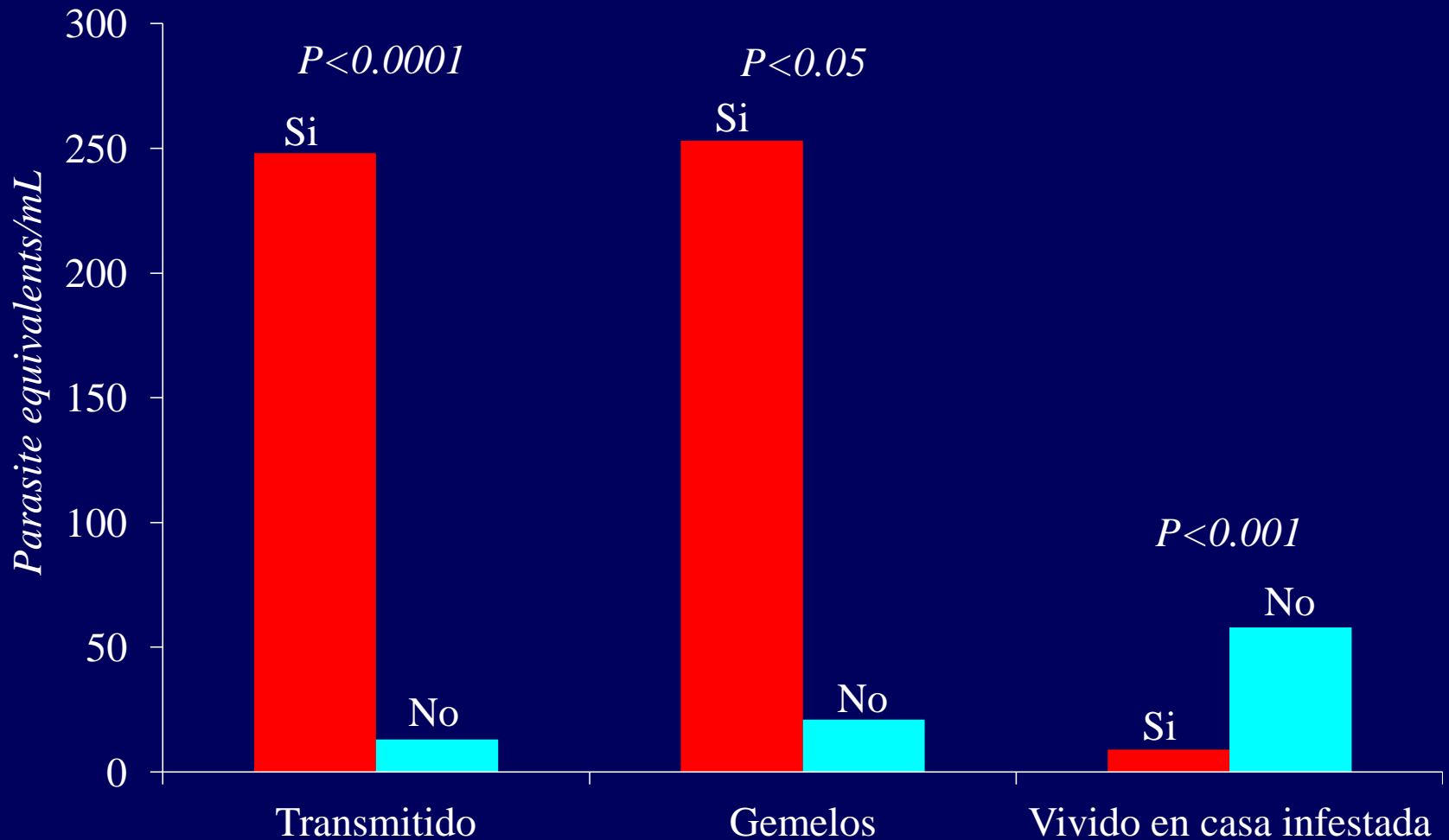
- Ninguno con cuadro clínico severo
  - Ninguno con hepato o esplenomegalia
  - Puntaje de Apgar 1 minuto y 5 minutos igual para infectados y no infectados (promedio 8 y 9)
- Cuadros leves en 26% de bebés infectados
  - Peso <2500 en 22% de infectados vs 5.7% no infectados (excluyendo gemelos;  $p < 0.01$ )
  - 18% de los bebés infectados fueron hospitalizados vs 9% de los no infectados ( $p = 0.08$ )
  - Entre los infectados, los con peso bajo y/o hospitalización fueron más probables de tener micro-método positivo o en sangre del cordón o en mx de 1 mes (70% vs 21%;  $p < 0.05$ )

# Factores de riesgo para transmisión congénita

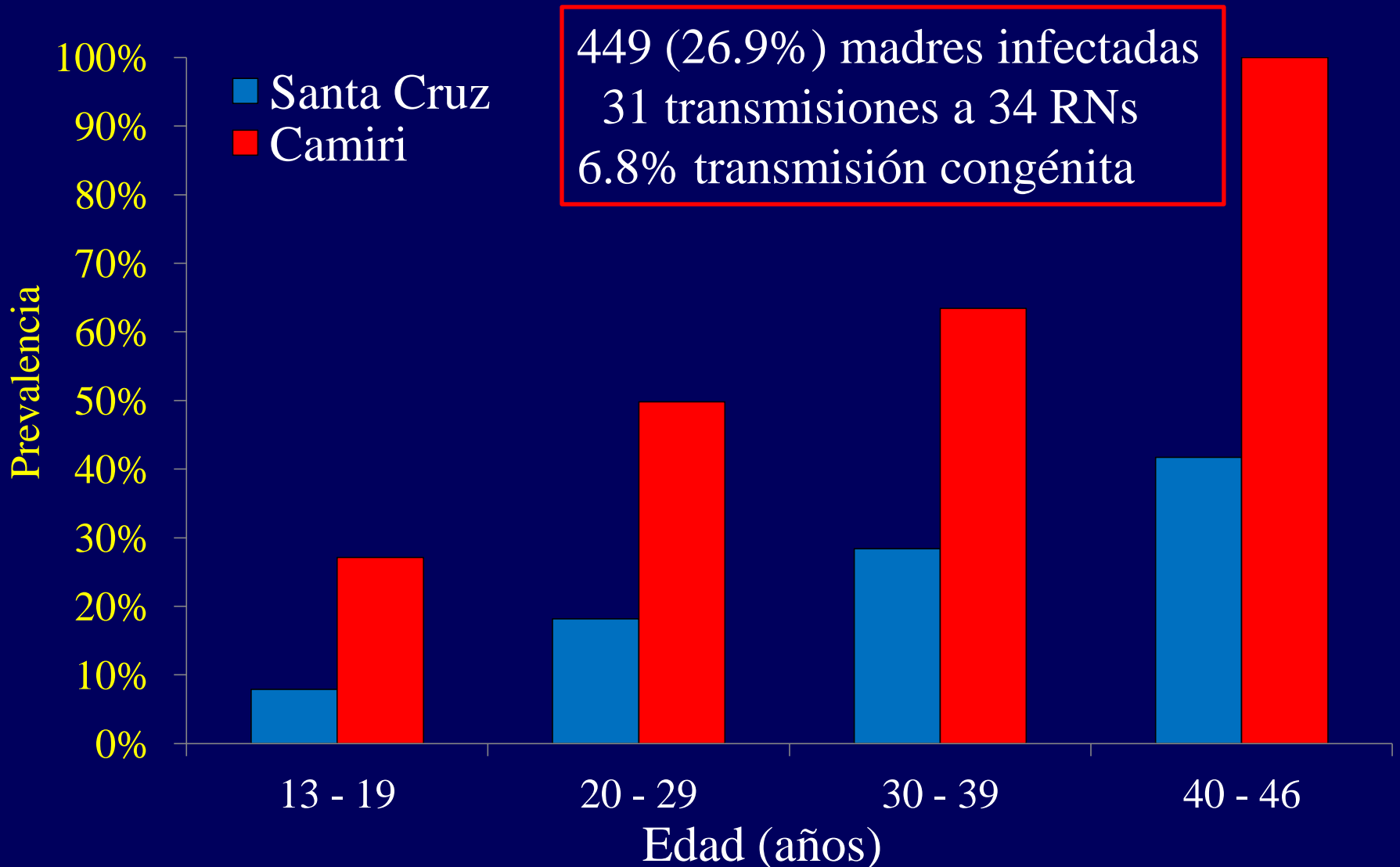
Factor	Transmitted <i>T. cruzi</i> N=31	Did not transmit N=418	P
Positive results by PCR	13 (100)	44 (41.9)	<0.0001
Twin birth	3 (9.7)	8 (1.9)	0.04
Ever lived in an infested house	11 (35.5)	230 (55.2)	0.04
Lives in infested house now	4 (12.9)	98 (23.4)	0.26
Median [IQR] in years			
Age in years	24.0 [20.1, 30.2]	26.8 [22.0, 34.0]	0.04
Parasite equivalents/ <u>mL</u>	62.0 [25.8, 204.8]	0.05 [0, 29.6]	<0.0001
Years living in infested house	0 [0,15]	6.5 [0,20]	0.02



# Carga parasitaria materna



# Prevalencia de infección materna por *T. cruzi*



RN	Micro-método		IgM TESA		PCR		
	0 m	1m	0 m	1m	0 m	tejido umb	1m
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	1	1	1	1	1	1
3	0	0	0	0	1	1	1
4	sin mx	0	sin mx	1	sin mx	sin mx	1
5	0	1	0	0	0	1	1
6	0	1	1	0	1	1	1
7	0	sin mx	1	sin mx	1	1	sin mx
8	sin mx	1	sin mx		sin mx	sin mx	1
9	0	sin mx	1	sin mx	1	1	sin mx
10	0	0	0	0	0	0	0
11	1	pos tto	1	1	1	1	0
12	1	pos tto	1	1	1	1	0
13	0	1	1	1	1	1	0
14	0	0	1	1	1	1	1
15	0	sin mx	1	sin mx	1	7	sin mx
16	0	0	0	0	0	0	0
17	0	sin mx	1	sin mx	1	1	sin mx
18	0	0	1	1	1	1	1
19	0	0	1	1	1	1	1
20	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	1	0	0	1
22	0	0	1	1	1	0	0
23	0	0	1	0	1	0	1
24	1	pos tto	1	0	1	1	1
25	0	0	0	1	0	1	1
26	0	0	1	1	0	1	1
27	0	0	0	0	0	0	0
28	0	0	1	0	1	1	1
29	0	1	0	1	1	1	1
30	1	pos tto	1	1	1	1	0
31	0	0	1	1	1	1	sin mx
32	0	0	0	1	1	0	1
33	0	1	1	0	1	1	sin mx
34	0	0	0	0	0	sin mx	1
<b>Sensibilidad</b>	<b>12.5%</b>	<b>26.9%</b>	<b>62.5%</b>	<b>55.2%</b>	<b>68.8%</b>	<b>67.7%</b>	<b>64.3%</b>
	<b>32.4%</b>		<b>75.8%</b>		<b>85.3%</b>		

# Evaluación de las Pruebas Rápidas InBios Chagas Detect Plus en muestras de dos establecimientos de salud en Bolivia

Tipo de muestra	Sensibilidad, 95% CI	Especificidad, 95% CI
Sangre total	96.2% (92.7-98.4)	98.8% (95.9-99.9)
Suero	99.3% (97.5-99.9)	96.9% (94.2-98.6)

# Conclusiones

- La prueba rápida de Chagas (Inbios) fue muy útil para identificar a las mujeres parturientas con Chagas y dar seguimiento a sus recién nacidos
- La prevalencia de Chagas en mujeres parturientas fue alrededor del 20%
- Tasa de transmisión 6.8%, consistente con la literatura
- Diagnostico problemático
  - Requiere muestras múltiples
  - Micro-método solo tenía sensibilidad cumulativa de 32%, pero 70% en los con bajo peso y/o hospitalización
  - IgM TESA-blot, PCR tienen sensibilidad mejor pero no son fáciles de implementar en laboratorios de recursos limitados

# Conclusiones (cont. 1)

- Exposición al vector asociado a mayor riesgo, pero con carga parasitaria y transmisión congénita menor
- Es necesario contar con métodos de diagnóstico rápidos y de alta sensibilidad que permitan el tratamiento oportuno
- Se debe mejorar el acceso al diagnóstico de Chagas de calidad en el sistema de salud
- Un resultado negativo en el recién nacido no implica una negatividad total, se debe dar seguimiento al mes, 6 y 9 meses hasta demostrar que es negativo el bebé

## Conclusiones (cont. 2)

- **Hipótesis:** la respuesta inflamatoria aumenta el daño cardiaco pero ayuda en el control de parasitemia durante el embarazo
- Es necesario mejorar el acceso a pruebas rápidas en el sistema de salud boliviano
- Se debe mejorar el acceso a través de la red de laboratorios a pruebas de amplificación del DNA

# Agradecimientos

Robert Gilman

Caryn Bern

Edith Hinojosa

Margot Ramirez

Eliana Saenza

Programa Regional de Chagas Santa Cruz

Hospital San Juan de Dios

Hospital Boliviano-Japonés

Hospital de la Mujer Percy Boland

Centro de Salud de Camiri

*Funding: NIH R01-AI087776,  
NIH D43 TW006581*



# Obrigado

Freddy Tinajeros Guzmán, MPH, PhD  
ftinajeros@gmail.com