



VI CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOQUIMICA CLÍNICA

II CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

¡El riesgo es que te quieras quedar!

Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024

Desafíos y estrategias en el diagnóstico de

Nuevas herramientas en la detección de casos de transmisión vertical

Chagas

Bioq. Gabriela Rompato



Desafíos y estrategias en el diagnóstico de

Nuevas herramientas en la detección de casos de transmisión vertical

Chagas

Bioq. Gabriela Rompato

Laboratorio Central de Referencia

Provincia de Santa Fe

ARGENTINA

(bmcentral@santafe.gov.ar)



www.congresocolabiocli.com



Enfermedad de Chagas

Afección parasitaria, sistémica, causada por el *Trypanosoma cruzi*

Epidemiología

Sintomatología

Transmisión

Tratamiento - indicaciones

Diagnóstico



Organización Mundial de la Salud

¿DÓNDE SE ENCUENTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS?
Principalmente en América Latina. Sin embargo, se detecta cada vez más en otras partes del mundo.



6-7 MILLONES
de personas infectadas en todo el mundo

10 MIL
personas mueren cada año

75 MILLONES
corren riesgo de infectarse



Sintomatología

La enfermedad de chagas puede desarrollar formas clínicas o cursar de manera asintomática



FASE AGUDA: Fiebre de más de 7 días, astenia, adenopatías, signos de puerta de entrada, hepato y esplenomegalia.

FASE CRÓNICA ASINTOMÁTICA: Luego de 2 o 3 décadas de infección, el 30% de las personas infectadas desarrollará manifestaciones clínicas.



FASE CRÓNICA: Enfermedad cardíaca (Cardiopatía Chagásica Crónica) del sistema digestivo (megacolon, megaesófago) o del SNC.

Cuando aparecen las presentaciones clínicas, éstas son irreversibles



Transmisión



VÍA VECTORIAL

Mediante la picadura de Triatominos



VERTICAL O CONGÉNITA



ALIMENTARIA

Con jugos o alimentos contaminados con parásitos o vectores



TRANSFUSIONAL O POR TRASPLANTE



ACCIDENTAL EN LABORATORIOS



Tratamiento ~ Indicaciones

El tratamiento está indicado en los siguientes casos

- Niños infectados por transmisión vertical
- Casos crónicos en determinados grupos
- Personas infectadas con capacidad de gestar entre los 15 y 49 años (no está indicado durante el embarazo)
- Casos agudos por transmisión vectorial

La eficiencia del tratamiento es mayor cuanto más temprana es la edad del paciente



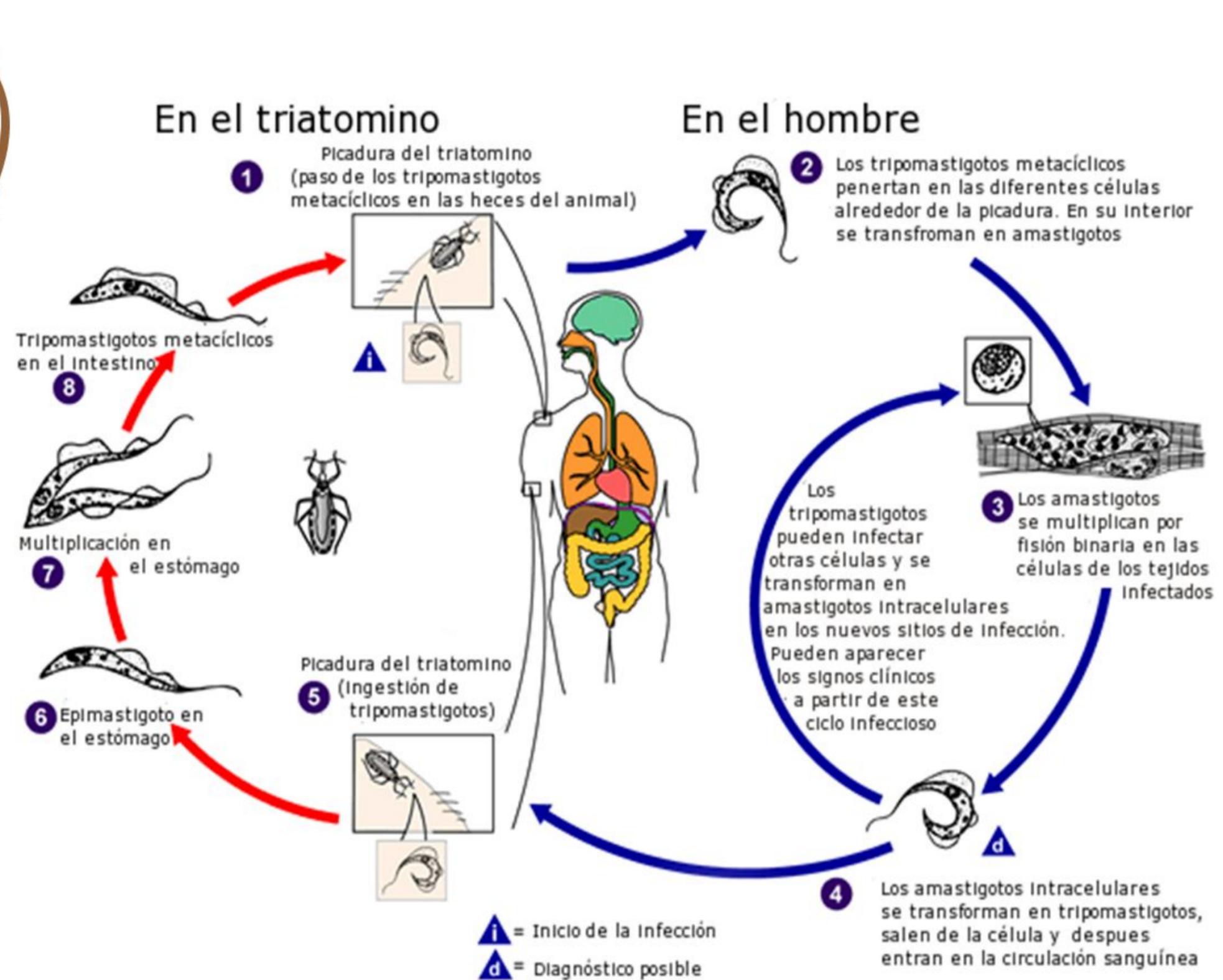
Triatoma infestans

VINCHUCA

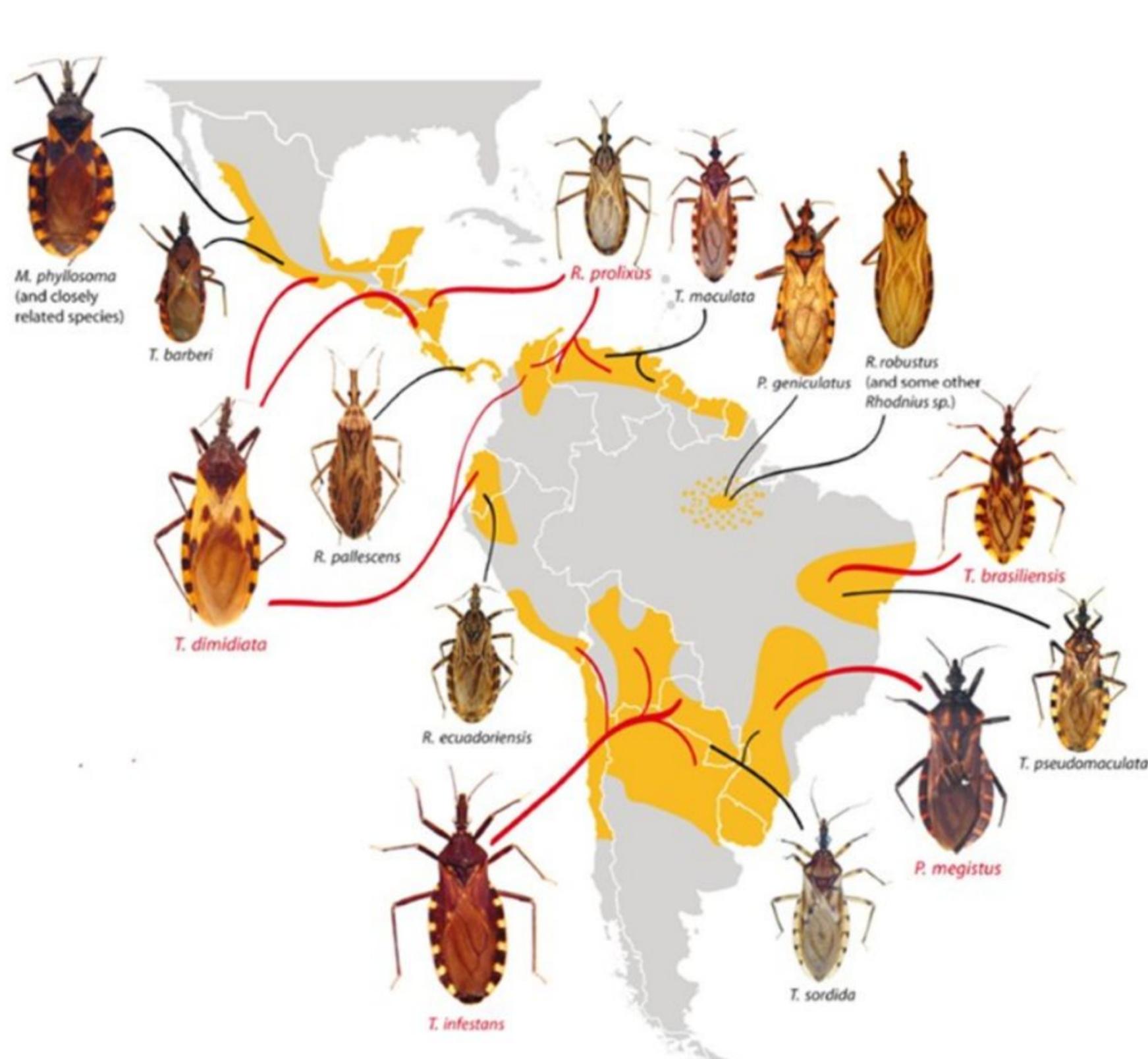


Ciclo Biológico del Trypanosoma

CDC

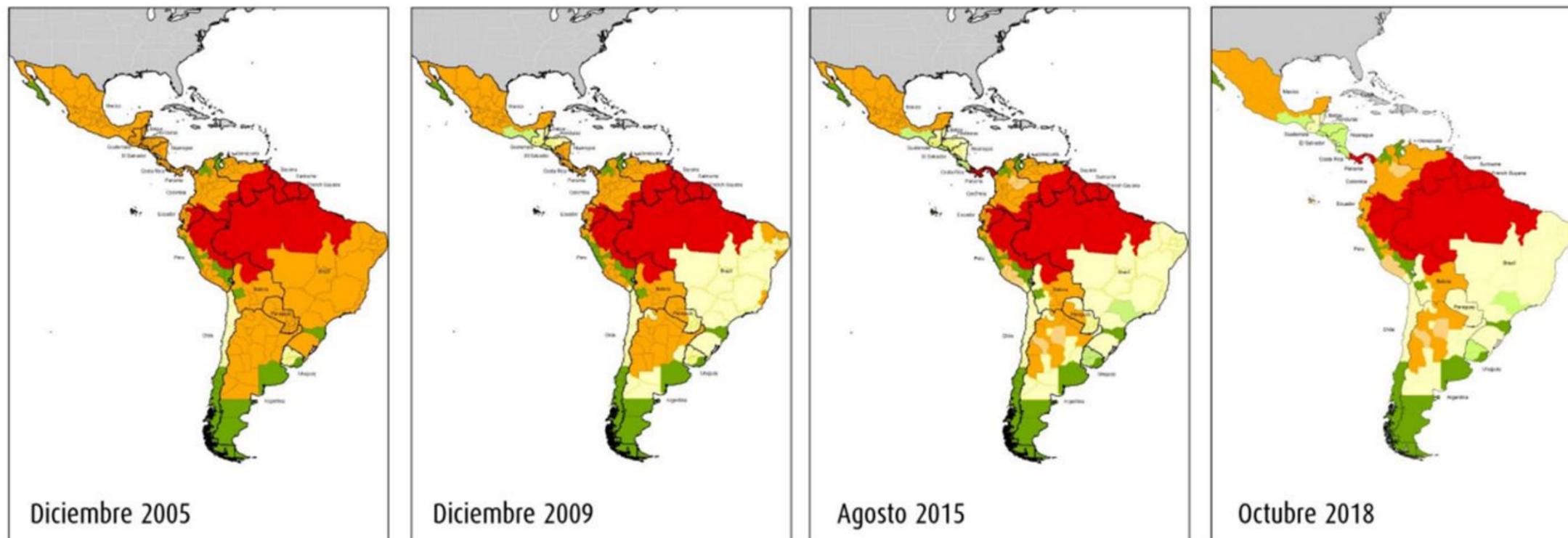


148 especies de insectos triatominos mantienen la infección T.Cruzi en la naturaleza
 Patterson & Guhl, 2012



Enfermedad de Chagas

Transmisión por el principal vector 2005 - 2018



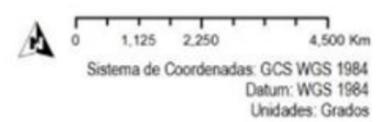
Leyenda

Transmisión por el principal vector

Agosto 2015

- Área endémica donde la interrupción de la transmisión vectorial no es una meta
- Área endémica donde la transmisión por el vector principal no ha sido interrumpida
- Área donde la transmisión por el vector principal está interrumpida
- Área donde el principal vector ha sido eliminado
- Área no endémica sin evidencia de transmisión vectorial
- Áreas no participantes
- Límites de país

■ Área donde la transmisión por el vector principal está cercana a la interrupción
■ Área donde la transmisión por el vector principal está interrumpida
■ Área donde el principal vector ha sido eliminado
■ Área no endémica sin evidencia de transmisión vectorial
■ Áreas no participantes
□ Límites de país



Fuente de Datos: PAHO AD CDE VT
 Control de Enfermedad de Chagas
Producción del Mapa: OPS Uruguay - Comunicación

© Organización Panamericana de la Salud - Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2018. Todos los derechos reservados. Este mapa está diseñado para representación general de los datos y de la geografía y para ser utilizado como una herramienta de exploración. No para su modificación, reproducción, publicación o distribución fuera de la OPS-OMS y de sus estados miembros, sin permiso. Los límites, nombres, títulos usados en este mapa no implican la expresión de ninguna opinión por parte de la OPS-OMS sobre la condición jurídica de los países, territorios, ciudades o zonas, ni de sus autoridades, ni respecto a la delimitación de sus fronteras o límites.

Enfermedad de Chagas

Transmisión por el principal vector 2005 - 2018



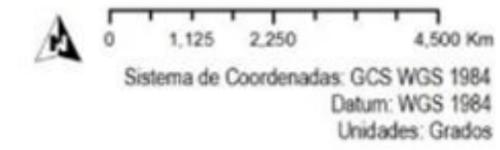
Leyenda

Transmisión por el principal vector

Agosto 2015

- Área endémica donde la interrupción de la transmisión vectorial no es una meta
- Área endémica donde la transmisión por el vector principal no ha sido interrumpida

- Área donde la transmisión por el vector principal está cercana a la interrupción
- Área donde la transmisión por el vector principal está interrumpida
- Área donde el principal vector ha sido eliminado
- Área no endémica sin evidencia de transmisión vectorial
- Áreas no participantes
- Límites de país



Fuente de Datos: PAHO AD CDE VT
 Control de Enfermedad de Chagas

Producción del Mapa: OPS Uruguay - Comunicación

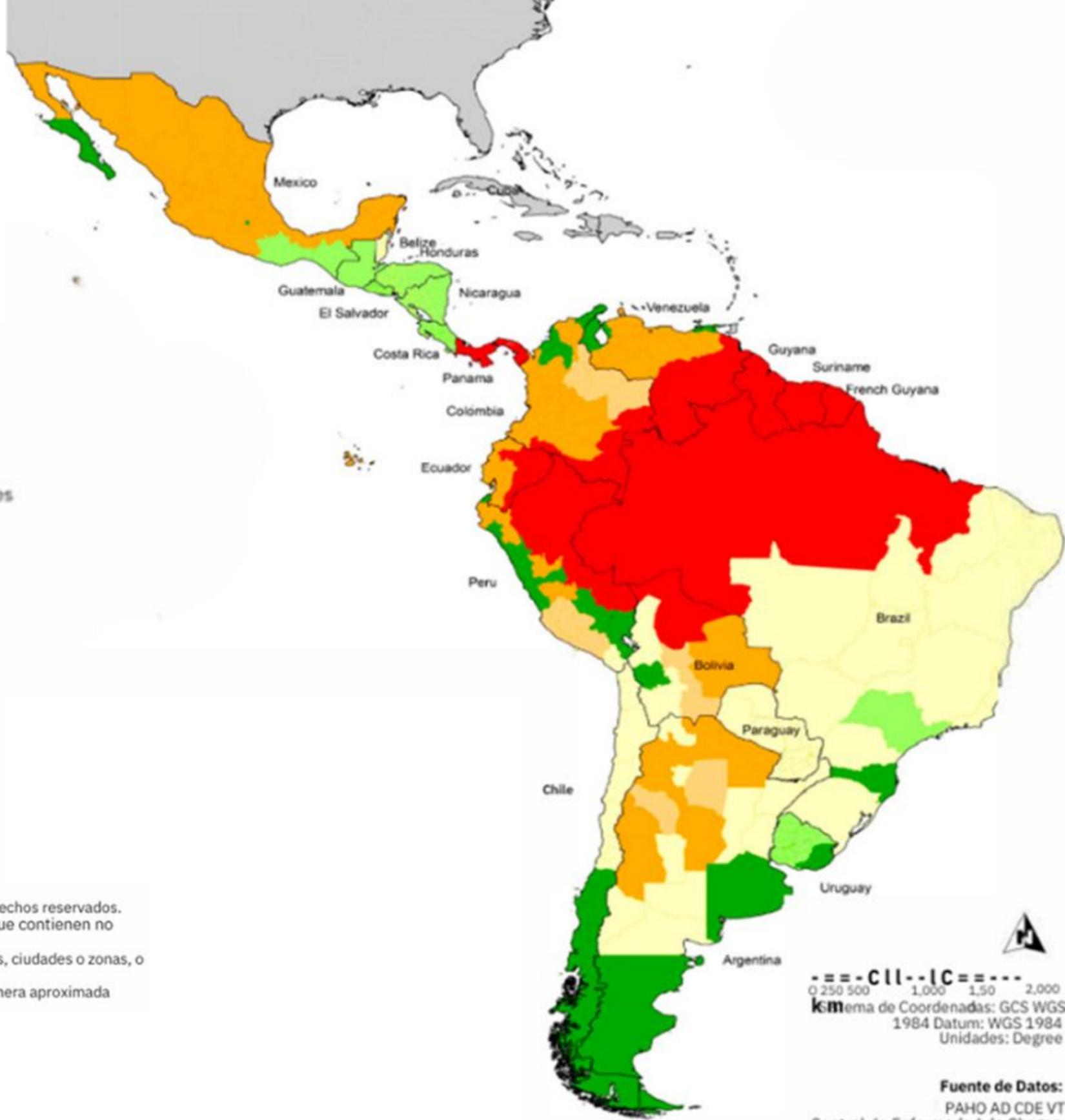
Enfermedad de Chagas

Transmisión por el principal vector

Octubre 2019

- Área endémica donde la interrupción de la transmisión vectorial no es una meta
- Área endémica donde la transmisión por el vector principal no ha sido interrumpida
- Área donde la transmisión por el vector principal está interrumpida
- Área donde la transmisión por el vector principal está cercana a la interrupción
- Área donde el principal vector ha sido eliminado
- Área no endémica sin evidencia de transmisión vectorial
- Áreas no participantes
- Límites de país

© Organización Panamericana de la Salud -Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2018. Todos los derechos reservados. Las denominaciones empleadas en estos mapas y la forma e que aparecen presentados los datos que contienen no implican, por parte de la Secretaría de las Organización Panamericana de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas en los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que no haya pleno acuerdo.



0 250 500 1,000 1,50 2,000
 km
 Sistema de Coordenadas: GCS WGS 1984 Datum: WGS 1984 Unidades: Degree

Fuente de Datos:
 PAHO AD CDE VT
 Control de Enfermedad de Chagas
Producción del Mapa:
 OPS Uruguay -Comunicación

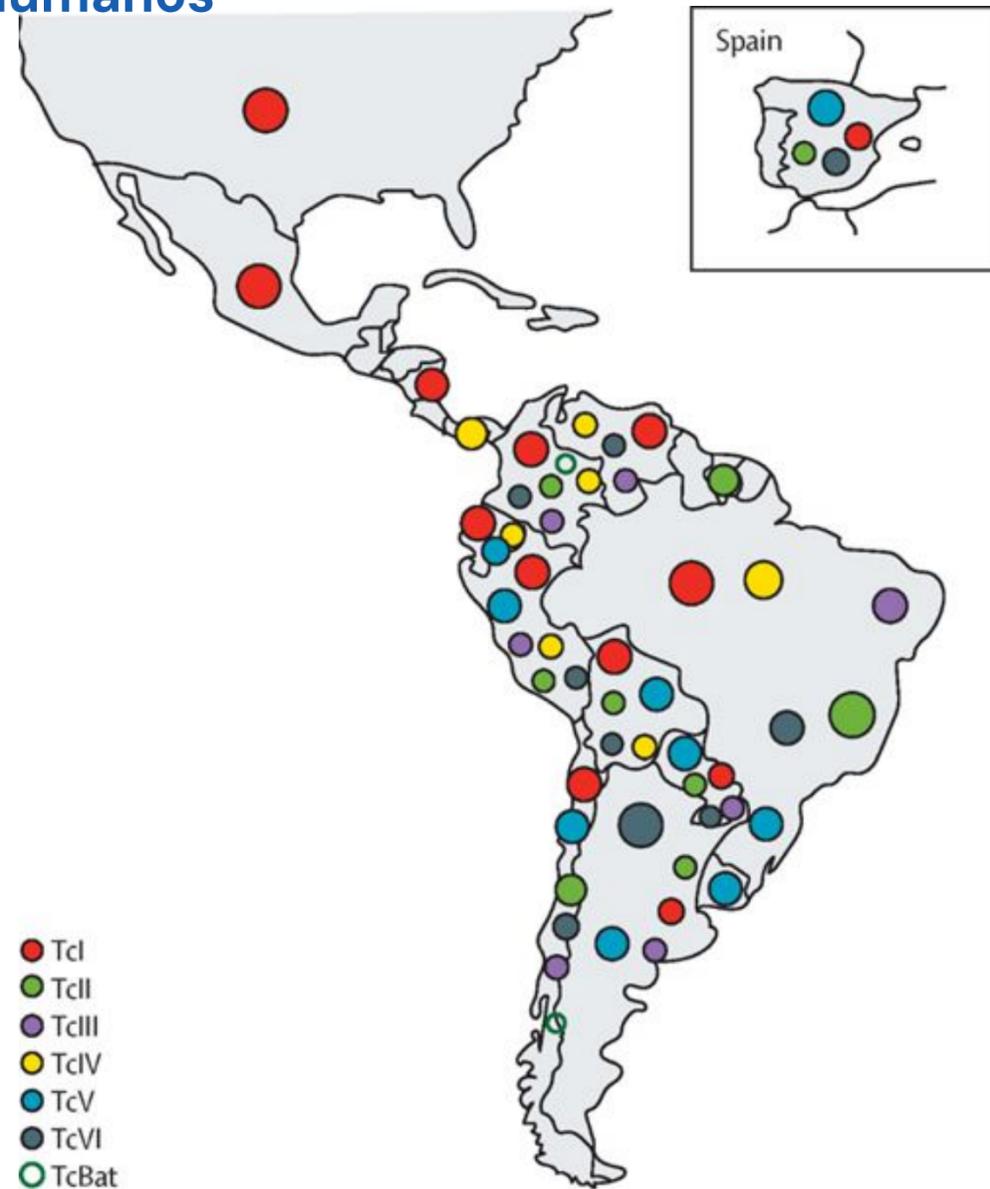
Diversidad genética del Trypanosoma Cruzi

- Los diferentes genotipos de Trypanosoma cruzi se han divididos en 6 unidades discretas de tipificación (Discrete Typing Units, DTUs): TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV y TcVI.
- Además, se han descrito nuevos genotipos como el Tc bat, asociado con murciélagos en Brasil, Panamá y Colombia.
- Se estudió la asociación que existe entre estas variantes y los reservorios, la distribución geográfica y la presentación clínica



Diversidad genética del *Trypanosoma Cruzi*

Distribución geográfica de las DTU en humanos



Asociación de los DTU y animales reservorios





Cambios epidemiológicos de la Enfermedad de Chagas

Diversos escenarios, desplazamiento del vector a zonas urbanas en algunas regiones

Nuevos desafíos para el control del vector (resistencia a los piretroides)

Múltiples factores (socioeconómicos, culturales, étnicos, ecológicos, etc.) que intervienen en el desarrollo de esta enfermedad





Control de la enfermedad de Chagas

Requiere un abordaje integral teniendo en cuenta todas las dimensiones involucradas en su propagación

- Prevención, control y atención de la enfermedad
- Control entomológico en zonas endémicas
- Interrupción de la transmisión

La OMS, la OPS y cada país en particular, mediante leyes y resoluciones marcan los lineamientos en estos procesos

OPS. Estrategia y plan de acción para la prevención, el control y la atención de la enfermedad de Chagas. 2010 (CD50.R17)

OMS. Plan de acción para la eliminación de las enfermedades infecciosas desatendidas y las medidas posteriores a la eliminación 2016-2022; Ginebra: OMS; 2016

OPS. Plan de acción sobre entomología y control de vectores 2018-2023. Washington, D.C.: OPS; 2018 (CD56/11)





Escenario actual

- Gracias a los programas de control vectorial y transfusional cobra importancia la vía de transmisión vertical
- Ocurre en el 2 al 6% de las pacientes;
- El 90% de los neonatos infectados están asintomáticos.
- La hepatoesplenomegalia es el signo más frecuente presente en los casos congénitos sintomáticos.
- No parece que produzca anomalías en el desarrollo fetal, si bien sí pueden producirse abortos o muerte fetal.



Transmisión vertical

En América Latina y el Caribe

- 9.000 recién nacidos se infectan durante la gestación,
- 20% del total de nuevos casos en la región (OPS-2022)
- El tamizaje en las embarazadas oscila entre 7% y 55%





Programa de control

Los Estados Miembros de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) impulsaron en el 2017 el programa ETMI Plus para prevención y control de la transmisión materno infantil de VIH, Sífilis, HBV y enfermedad de Chagas



www.congresocolabiocli.com



Diagnóstico de Laboratorio

Selección de métodos

Etapa aguda
Directos

Detección de
parásitos

Métodos
parasitológicos

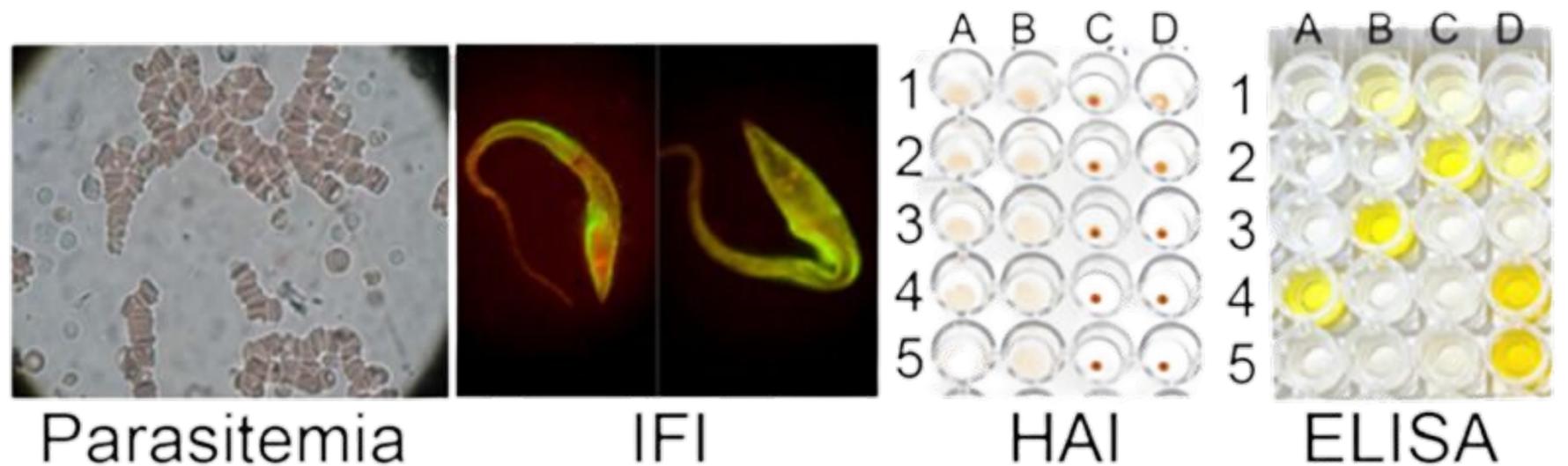
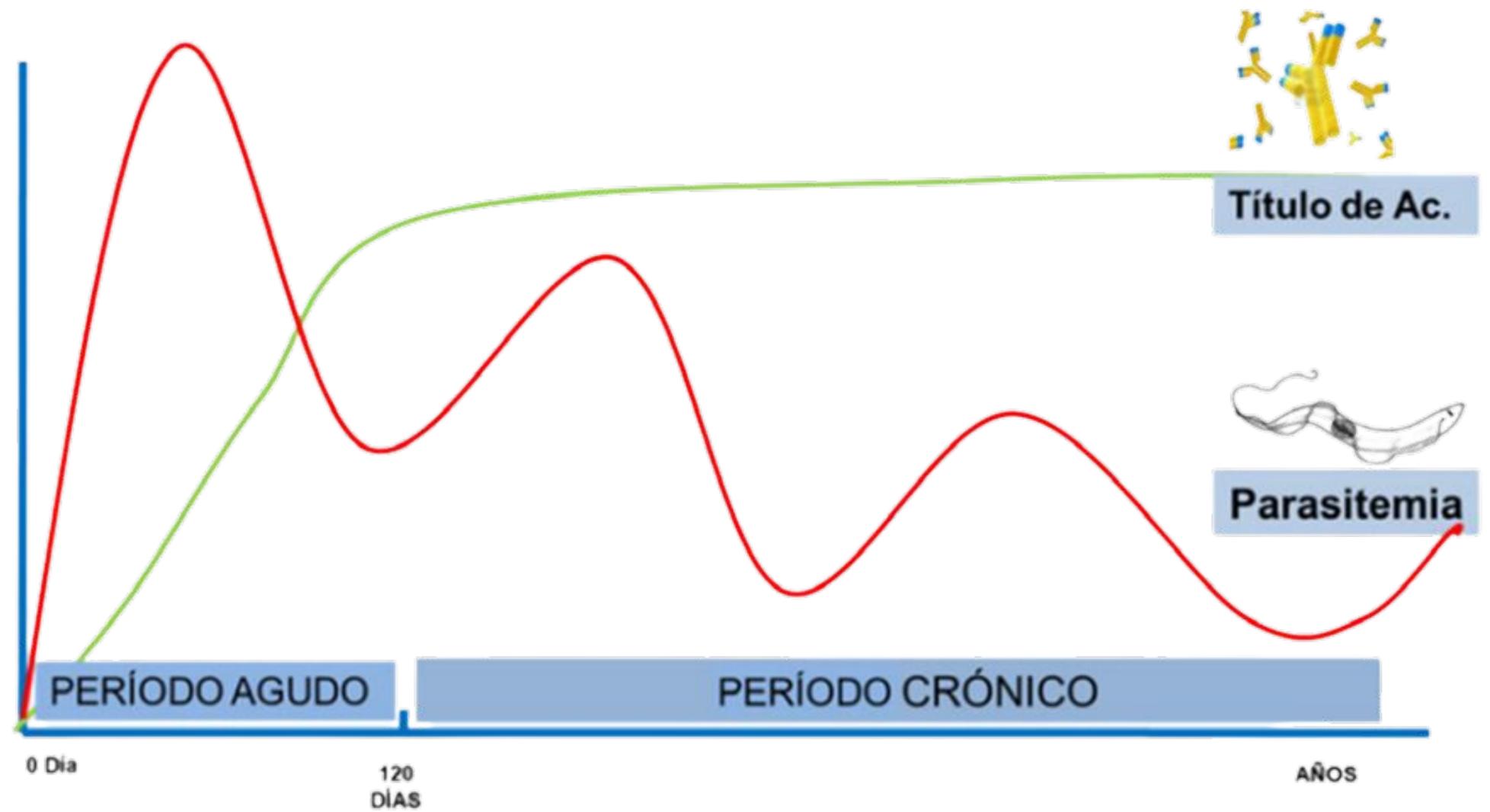
Etapa crónica
Indirectos

Detección de
anticuerpos

Métodos
inmunoserológicos

Selección de métodos diagnósticos

Laboratory diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. Challenges in the Americas region
 Constanza Lopez Albizua , Rocío Riverob , Griselda Balleringc , Margarita M. C. Bisiod





Selección del método diagnóstico en fase aguda

Métodos Parasitológicos

Observación microscópica del parásito:

- Strout o Micrométodo
- Biopsia de tejido
- LCR

Indirectos

- Xenodiagnóstico

Un resultado positivo confirma el diagnóstico de enfermedad de Chagas

Métodos Moleculares

- Strout o Micrométodo
- Biopsia de tejido
- LCR

Selección del método diagnóstico en fase crónica

Métodos indirectos

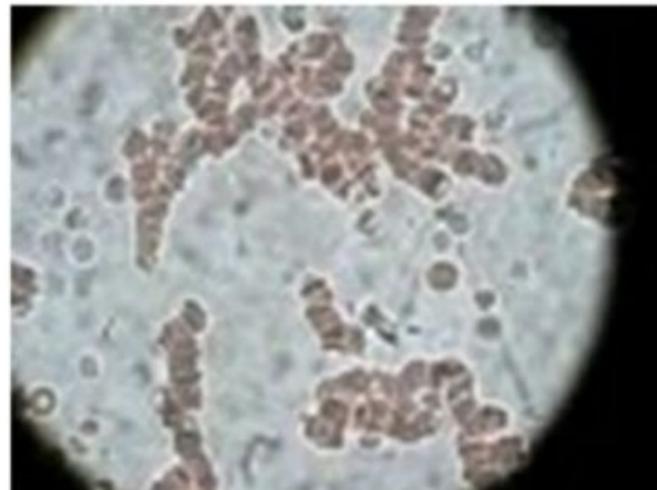
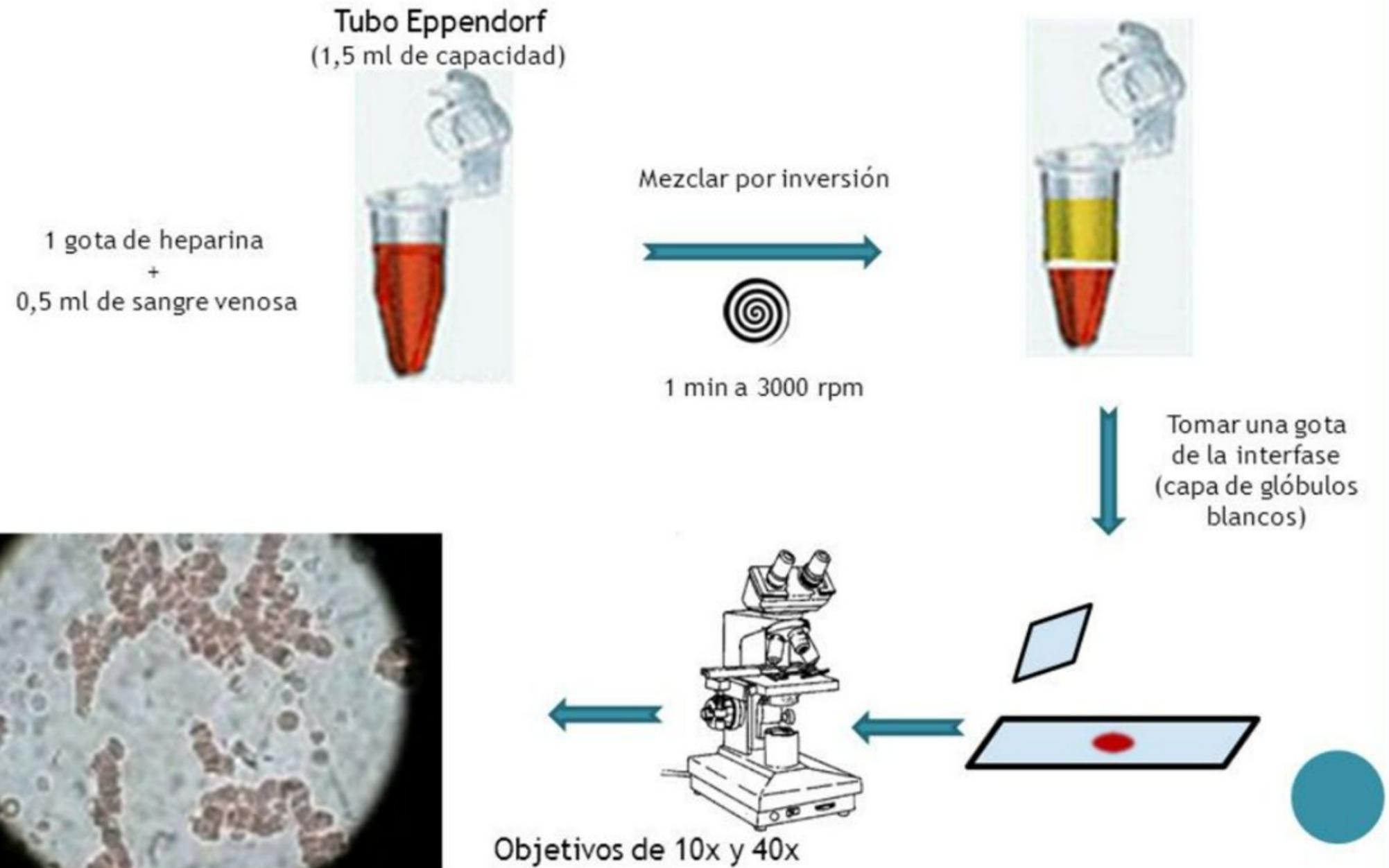
Métodos inmunoserológicos:

- ELISA
- HAI
- Quimioluminiscencia
- IFI

La confirmación de chagas crónico se hace por dos métodos inmunoserológicos diferentes positivos



Etapa aguda: Micrométodo





Observación microscópica



Observación microscópica



Aplicaciones de las técnicas de Biología Molecular en el diagnóstico de Chagas

- Diagnóstico de infección aguda congénita y vectorial
- Transmisión oral
- El 90% de los neonatos infectados están asintomáticos.
- Monitoreo de respuesta terapéutica
- Monitoreo de reactivación en pacientes inmunocomprometidos

Son una buena alternativa diagnóstica, pero deben ser estandarizadas y validadas antes de su uso





Aplicaciones de las técnicas de Biología Molecular en el diagnóstico de Chagas

Diagnóstico de infección vertical

El diagnóstico tradicional mediante la observación microscópica presenta limitaciones debido a la baja sensibilidad estas técnicas y la imposibilidad de utilizar métodos serológicos en los primeros meses de vida.

Control de tratamiento

Debido a la persistencia de la respuesta inmunológica, los métodos serológicos resultan de poca utilidad en la definición del criterio de cura.

Reactivación en inmunocomprometidos

En este evento los amastigotes alojados en los tejidos se transforman en tripomastigotes, salen a la circulación sanguínea para infectar otros órganos. Allí pueden ser detectados por métodos directos.





Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024

Métodos directos

(que pueden realizarse al momento del nacimiento)

Limitaciones en el diagnóstico de Chagas Congénito

■ tienen una **sensibilidad variable**

- la experiencia del operador
- la calidad de la muestra
- tiempo transcurrido desde la obtención de la misma
- Sensibilidad del micrométodo o microhematocrito:
Entre 45–70% en centro de referencias ; reportes de 20% en centros asistenciales De Rissio et al. 2010, Bisio et al. 2021

■ requieren un **tiempo mínimo de observación** al microscopio de 20 minutos

■ **no pueden ser evaluados mediante programas de control de calidad**, por lo que no se pueden implementar acciones para la mejora continua de la calidad del diagnóstico



Pruebas moleculares para *T. cruzi*

Limitaciones en el diagnóstico de Chagas Congénito

La técnica de PCR se utiliza desde principios de los años 90
Russomando et al. 1992

Con el advenimiento de la PCR en tiempo real, esta tecnología también ha sido utilizada con resultados promisorios para el diagnóstico en pacientes con la infección por *T. cruzi* Piron et al. 2007

Ventajas de las técnicas de qPCR sobre las de PCR de punto final:

- Presentan menor riesgo de contaminación
- Tienen control interno de amplificación, lo que permite eliminar falsos negativos por inhibición de la reacción
- Se puede cuantificar mediante una curva de concentración conocida.
- Requieren de menos tiempo de procesamiento



**Necesidad de estandarización
de técnicas de qPCR**

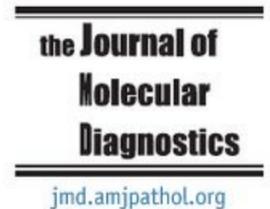




Técnicas moleculares

Se realizaron varios estudios tendientes a estandarizar y validar analítica y clínicamente técnicas moleculares para la detección de ADN de *T. cruzi* 26 laboratorios de 16 países. Obtención de consenso sobre 4 metodologías de PCR cualitativa (2 PCR convencional y 2 PCR en tiempo real)

The Journal of Molecular Diagnostics, Vol. 17, No. 5, September 2015



Analytical Validation of Quantitative Real-Time PCR Methods for Quantification of *Trypanosoma cruzi* DNA in Blood Samples from Chagas Disease Patients



Juan Carlos Ramírez,^{*} Carolina Inés Cura,^{*} Otacilio da Cruz Moreira,[†] Eliane Lages-Silva,[‡] Natalia Juiz,^{*} Elsa Velázquez,[§] Juan David Ramírez,[¶] Anahí Alberti,^{||} Paula Pavia,^{**} María Delmans Flores-Chávez,^{††} Arturo Muñoz-Calderón,^{‡‡} Deyanira Pérez-Morales,^{§§} José Santalla,^{¶¶} Paulo Marcos da Matta Guedes,^{|||} Julie Peneau,^{***} Paula Marcet,^{†††} Carlos Padilla,^{†††} David Cruz-Robles,^{§§§} Edward Valencia,^{¶¶¶} Gladys Elena Crisante,^{||||} Gonzalo Greif,^{****} Inés Zulantay,^{††††} Jaime Alfredo Costales,^{††††} Miriam Alvarez-Martínez,^{§§§§} Norma Edith Martínez,^{¶¶¶¶} Rodrigo Villarroel,^{|||||} Sandro Villarroel,^{*****} Zunilda Sánchez,^{†††††} Margarita Bisio,^{*} Rudy Parrado,^{*****} Lúcia Maria da Cunha Galvão,^{|||} Antonia Cláudia Jácome da Câmara,^{|||} Bertha Espinoza,^{§§} Belkisyole Alarcón de Noya,^{‡‡} Concepción Puerta,^{**} Adelina Riarte,[§] Patricio Diosque,^{||} Sergio Sosa-Estani,[§] Felipe Guhl,[¶] Isabela Ribeiro,^{†††††} Christine Aznar,^{***} Constança Britto,[†] Zaida Estela Yadón,^{§§§§§} and Alejandro G. Schijman^{*}



www.congresocolabiocli.com





Validación de métodos moleculares en Argentina

Se consensó incluir la determinación de qPCR en el algoritmo diagnóstico de chagas vertical en recién nacidos y hasta los 10 meses de vida. *Jornada para la elaboración de recomendaciones sobre la Inclusión de la técnica PCR en el diagnóstico de infección vertical por Trypanosoma cruzi”, realizada el 10 de noviembre de 2021, en el Instituto Nacional de Parasitología “Dr. Mario Fatala Chaben” (INP) de la ANLIS - Malbrán.*

- Benatar, A. F., et al. (2021). "Prospective multicenter evaluation of real time PCR Kit prototype for early diagnosis of congenital Chagas disease." EBioMedicine 69: 103450.
- Bisio, M. M. C., et al. (2021). "Diagnostic Accuracy of Two Molecular Tools for Diagnosis of Congenital Chagas Disease." Mol Diagn Ther 25(6): 791-801.



www.congresocolabiocli.com





Informe Técnico

**Evaluación de la precisión diagnóstica de la qPCR.
Ensayos con kit comerciales de qPCR**

Implementación de PCR en Tiempo Real en el Diagnóstico de Infección Vertical por Trypanosoma cruzi



T. cruzi DNA Test – Evaluación I:

Se analizó un panel conformado por 90 muestras de sangre: 40 positivas y 50 negativas por qPCR-ADNSat realizada en el INGEBI-CONICET (Duffy et al., 2013).

Resultados

- Sensibilidad: **97,5%**
- Especificidad: **100%**
- Concordancia: **98,89%**.

Solo una muestra referida como positiva débil no fue detectada correctamente por el kit.

www.congresocolabiocli.com





Informe Técnico

Evaluación de la precisión diagnóstica de la qPCR. Ensayos con kit comerciales de qPCR

T. cruzi DNA test

Método para detección de ADN del parásito *Trypanosoma cruzi* por PCR en Tiempo Real

Implementación de PCR en Tiempo Real en el Diagnóstico de Infección Vertical por *Trypanosoma cruzi*



T. cruzi DNA Test – Evaluación II:

- Panel de muestras de sangre de pacientes con infección conservadas en buffer guanidina EDTA
 - 116 niños (92 infectados y 24 no infectados)
- La extracción de ADN se realizó por el método de columnas (Roche).
- Métodos ensayados: T.cruzi DNA tests – Wiener lab., otros ensayos comerciales (Altona y CerTest) y la qPCR-ADNSat (*Duffy et al. 2013*).



www.congresocolabiocli.com





Informe Técnico

Evaluación de la precisión diagnóstica de la qPCR. Ensayos con kit comerciales de qPCR

T. cruzi DNA Test – Evaluación II:

- Las cuatro qPCRs mostraron una **mayor sensibilidad** para el diagnóstico de la infección por T. cruzi en muestras de pacientes pediátricos. *El ensayo de Wiener fue el que mostró una mayor sensibilidad.*
- Las cuatro qPCRs mostraron un **100% de especificidad** para la detección del ADN parasitario en las dos cohortes de pacientes del estudio.
- Los ensayos comerciales tuvieron una **mayor tolerancia a la presencia de inhibidores de la PCR**, con un menor número de muestras con valores del control de amplificación fuera de rango.
- Los resultados de este trabajo respaldan la **implementación** del uso de ensayos comerciales para el diagnóstico de la infección por T. cruzi (*Comunicación personal, Ramirez JC*).

www.congresocolabiocli.com

T. cruzi DNA test

Método para detección de ADN del parásito *Trypanosoma cruzi* por PCR en Tiempo Real

Implementación de PCR en Tiempo Real en el Diagnóstico de Infección Vertical por *Trypanosoma cruzi*



Implementación de PCR en Tiempo Real en el Diagnóstico de Infección Vertical por *Trypanosoma cruzi*



Aplicación de qPCR en hijos de personas gestantes seropositivas, en el marco de un programa regional de aplicación de la estrategia ETMI PLUS. *Proyecto “Unidos por la salud materno infantil en la Triple Frontera del Chaco”*

Control de la persona gestante utilizando pruebas rápidas en terreno.



Confirmación de casos positivos por pruebas serológicas en Laboratorio.

Se implementa qPCR 2 muestras en tiempos diferentes + prueba serológica a los 10 meses de edad

Sobre un total de 47 niños estudiados



2 qPCR detectables en 2 muestras consecutivas

45 muestras no detectables por qPCR, con serologías no reactivas una vez cumplidos los 10 meses de edad. Esto se correlaciona con la **elevada especificidad** obtenida en la validación del método de qPCR.





Informe Técnico

Implementación de PCR en Tiempo Real en el Diagnóstico de Infección Vertical por Trypanosoma cruzi



Ventajas de la incorporación de la qPCR al algoritmo diagnóstico

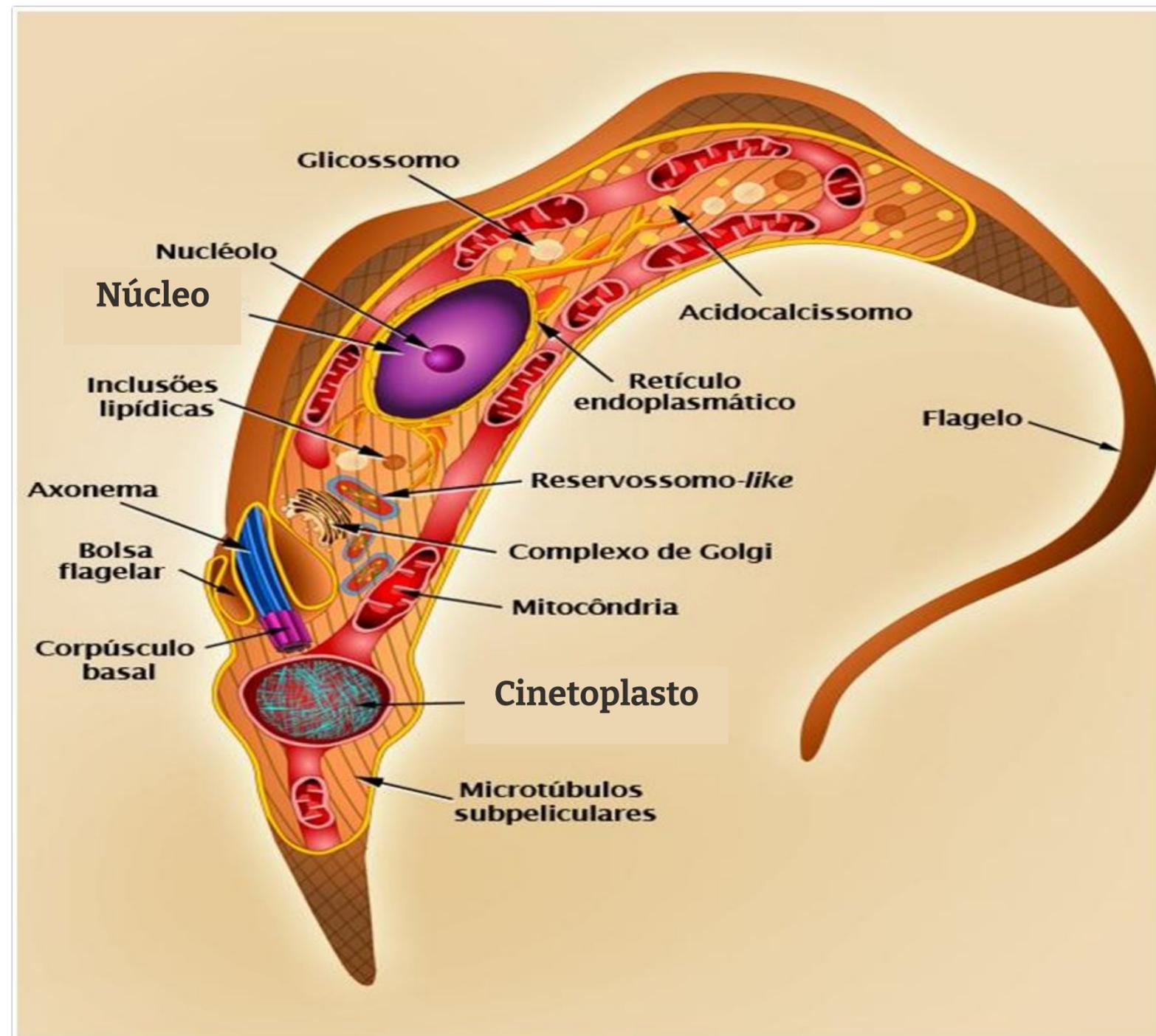
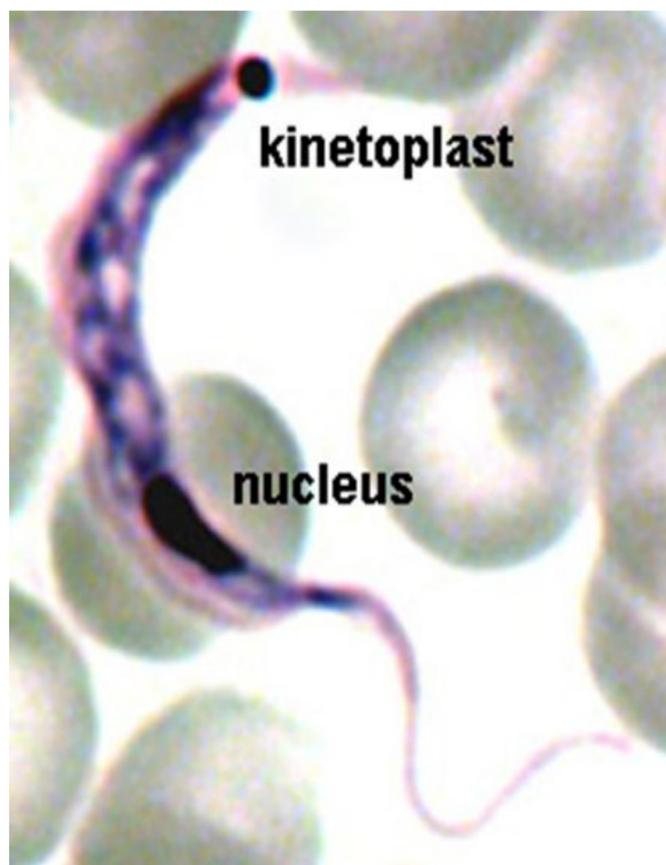
- **Mayor sensibilidad:** con una primera muestra se podrá diagnosticar la mayoría de los casos
- Es automatizable y **tiene menor dependencia del operador**
- Permite procesar un elevado número de muestras de modo simultáneo
- Las **muestras pueden transportarse a temperatura ambiente**, lo que permite el viaje o posible derivación hacia otros centros, lejos de la toma de la muestra e implementarse en la rutina del laboratorio
- **Permite la estandarización**, utilizando normas de calidad para laboratorios clínicos y la aplicación de programas externos de calidad



www.congresocolabiocli.com

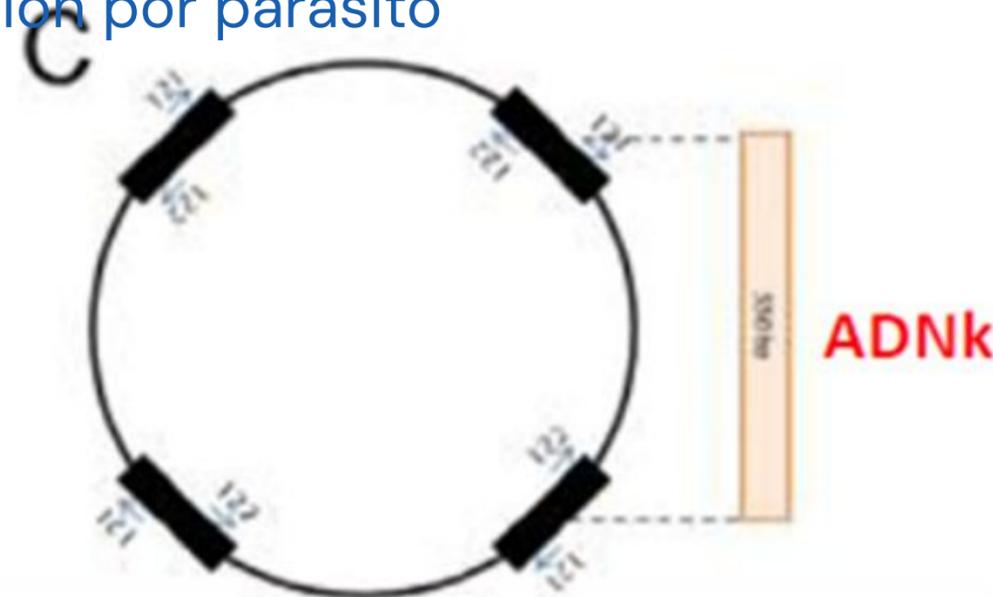
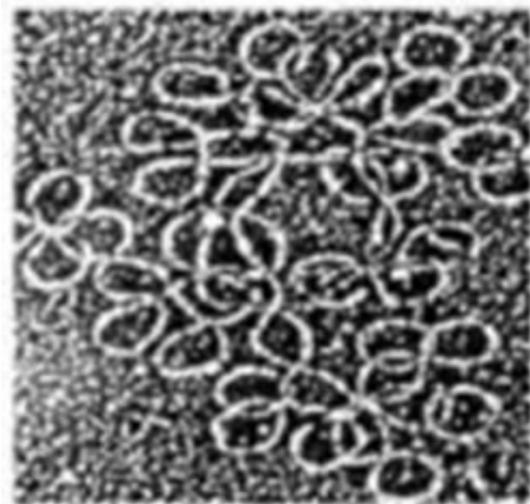


Trypanosoma cruzi



ADN de kinetoplasto (ADNk)

Está formado por una red de moléculas circulares: maxicírculos y minicírculos. Cada minicírculo presenta cuatro regiones constantes y cuatro variables. Existen 10.000 a 30.000 minicírculos por célula y al haber cuatro repeticiones por minicírculo se podría tener entre 40.000 y 120.000 repeticiones de la diana de amplificación por parásito

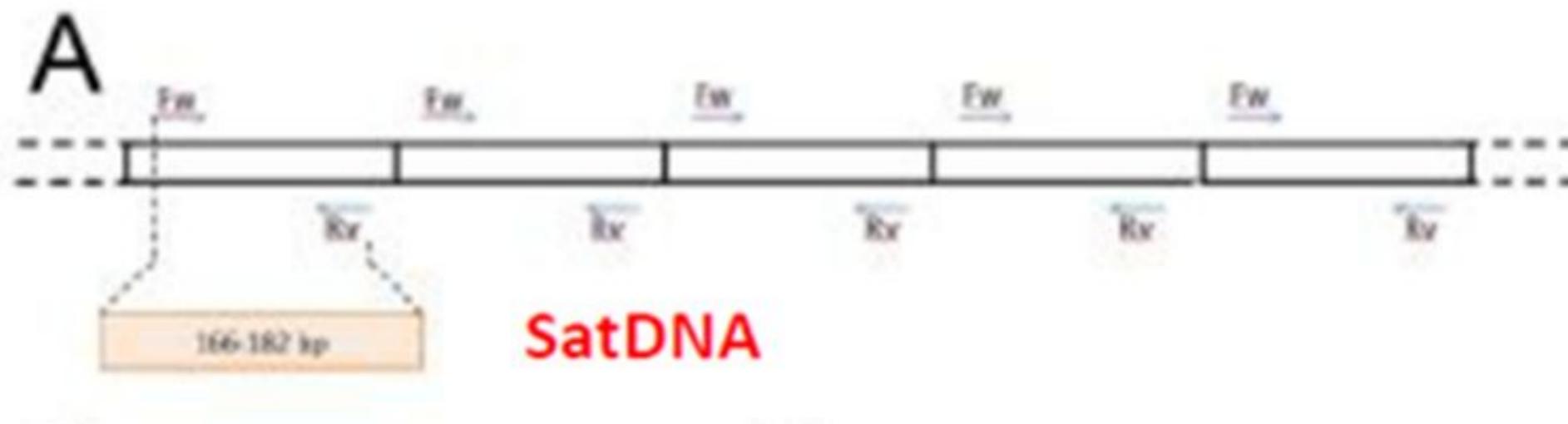


Es altamente sensible y específico ya que solo está presente en el ADN de *T. cruzi* y no de otros parásitos relacionados



ADN satélite (ADNs)

Formado por aproximadamente 120.000 copias de una secuencia de 195 pb, que representa el 10% del ADN nuclear del parásito, lo que la hace una diana altamente sensible

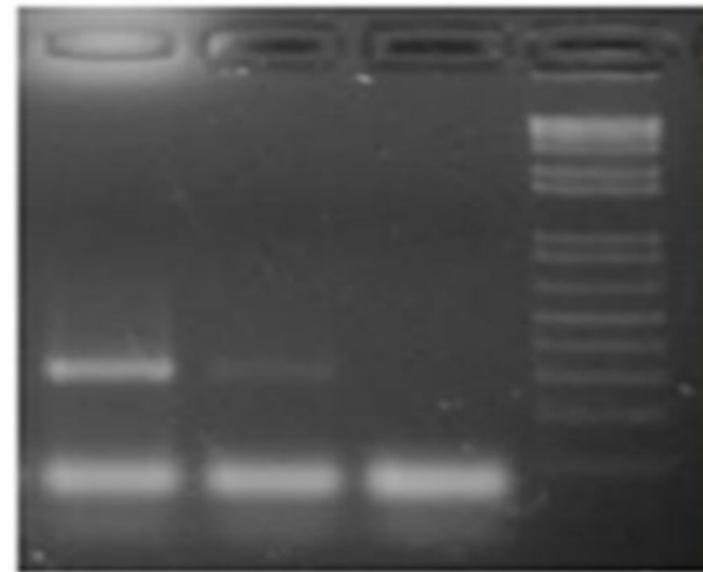


La PCR basada en la amplificación de ADN satélite de *T. cruzi* además de ser sensible es muy específica, ya que no amplifica ninguna secuencia de ADN de *Leishmania sp*, ni de otra especie de *Trypanosoma*.

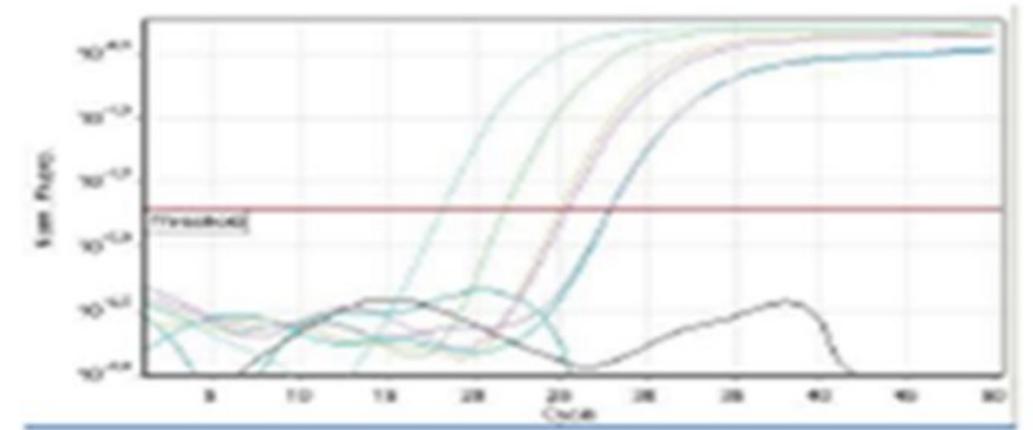




PCR



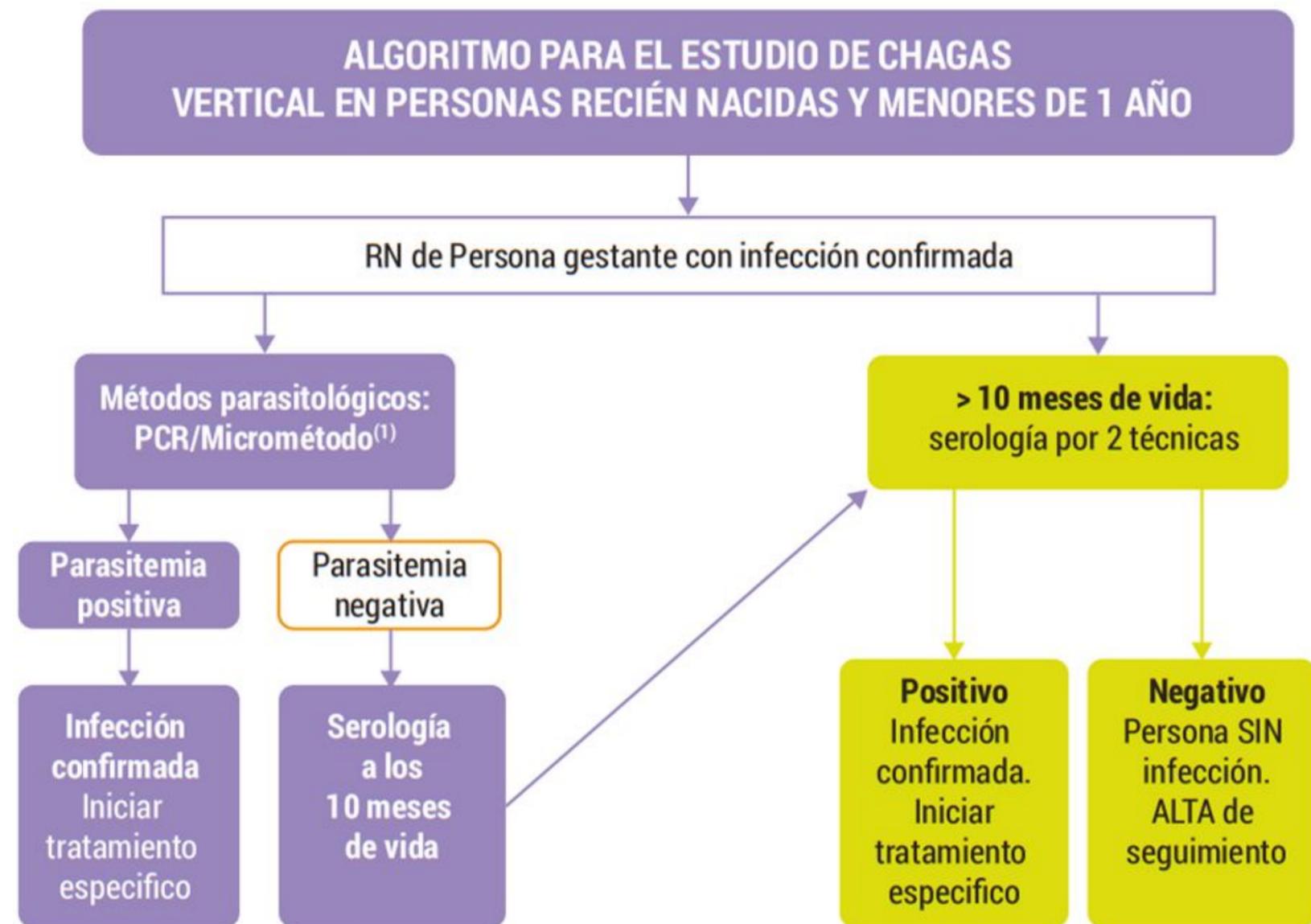
PCR convencional



PCR en tiempo real



Manejo del neonato nacido de persona con infección confirmada

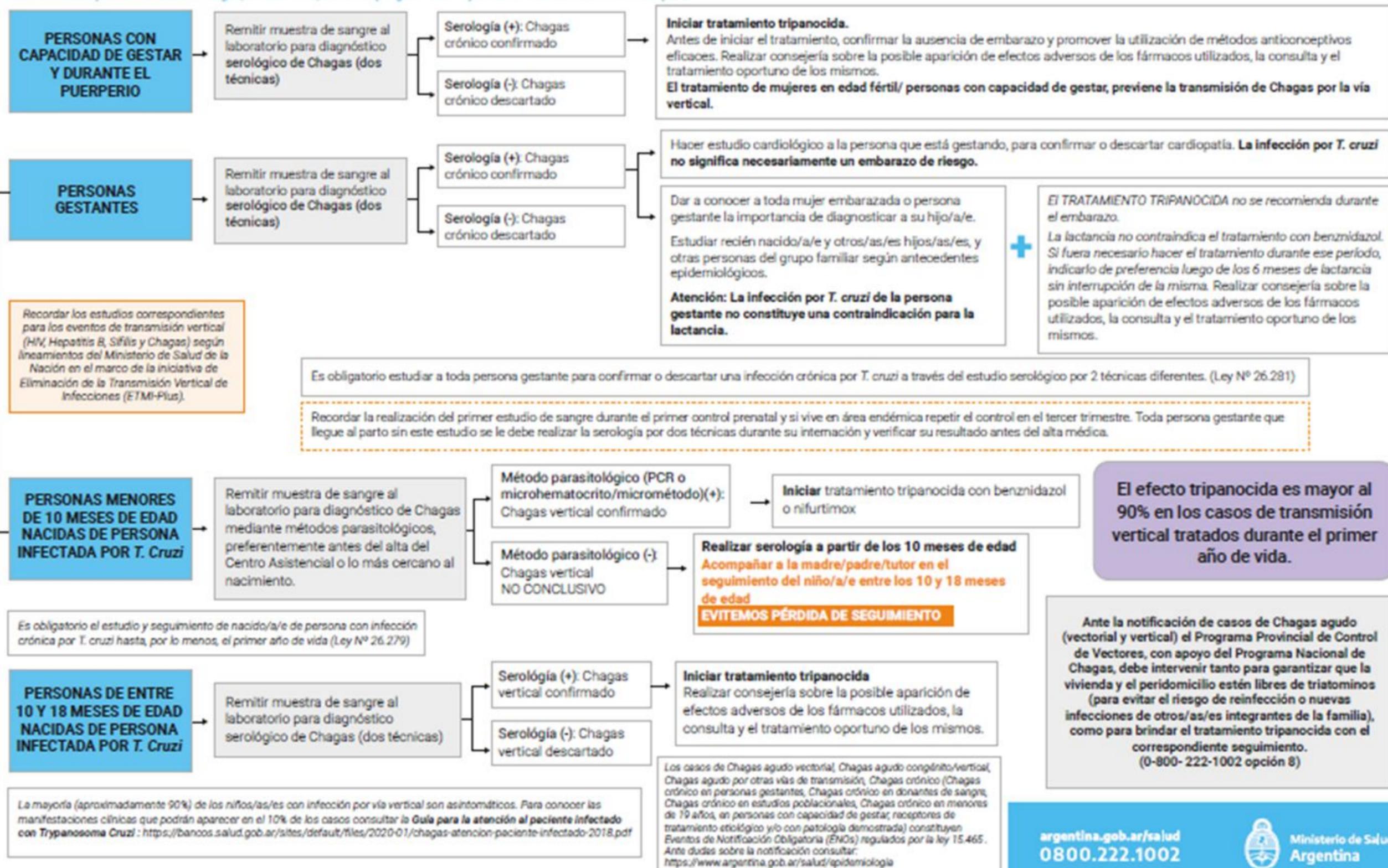


¹La PCR se considera la técnica diagnóstica de elección para éste escenario entre las 24 hs de vida y los 10 meses de edad. Si no estuviera disponible y se utiliza Micrométodo, se sugiere realizarlo antes del alta neonatal o lo más cercano al nacimiento posible. Si bien puede realizarse hasta el noveno mes de vida, la sensibilidad del método va disminuyendo después del tercer mes.

PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA TRANSMISIÓN VERTICAL DEL T. CRUZI

Información para equipos de salud del primer nivel de atención: salud sexual, ginecología, obstetricia, neonatología, pediatría, clínica médica, infectología, medicina general y/o familiar, servicio social, equipos de cuidados continuos de la atención y para programas de prevención y control de Chagas

La transmisión por vía vertical de Chagas, actualmente, es la vía que genera el mayor número de casos nuevos en el país.





Nuestro Laboratorio

Desde el año 2012 realiza diagnóstico molecular de chagas en RN:

- Muestra: sangre c/EDTA
- Extracción de ADN con kits comerciales
- PCR convencional (cualitativa)
- Blanco molecular: ADNk
- Amplicón de 330 pb





Nuestro Laboratorio

Año 2022:
Diagnóstico
por qPCR



Nuestro Laboratorio

Kits comerciales de detección de *T. cruzi* por qPCR autorizados por ANMAT



T. Cruzy DNA Test Wiener lab



RealStar® Chagas PCR Kit

1.0



Nuestro Laboratorio

Muestras para diagnóstico molecular

- Sangre entera con EDTA, en tubo estéril bien sellado.
- Conservar a 2 – 8 °C hasta 48 horas



Importante: respetar la proporción anticoagulante/sangre





CHAGAS CONGÉNITO

PRESENTACIÓN DE UN CASO CLÍNICO

Rompato G, Mugna V, Nepote M, Achkar G.

Laboratorio Central de la Pcia. de Santa Fe, Programa Provincial de Chagas, Ministerio de Salud.
bacteriosfe@arnetbiz.com.ar



INTRODUCCIÓN

El Chagas congénito es una enfermedad causada por la transmisión del *Trypanosoma cruzi* de la madre infectada a su hijo durante el embarazo. El diagnóstico en el recién nacido se realiza por métodos parasitológicos y serológicos con el fin de instaurar un tratamiento precoz y aumentar la probabilidad de curación. Sin embargo, la baja carga parasitaria, en algunos casos y la aparición tardía de anticuerpos, puede demorar la detección de casos. Actualmente la provincia de Santa Fe cuenta con técnicas de biología molecular, de gran sensibilidad y especificidad, que se utilizan en paralelo con el micrométodo hasta la validación de la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) como método confirmatorio.

CASO CLÍNICO

Recién nacido a término, asintomático. Madre chagásica sin antecedentes de viaje al lugar de origen desde el nacimiento del paciente, descartando la posible transmisión vectorial. Se realizaron 4 controles parasitológicos y por PCR desde el 4^o día de vida al 9^o mes.

Ambos métodos utilizan como muestra sangre entera. La técnica de biología molecular empleada es una PCR convencional que amplifica un fragmento de ADN del cinetoplasto del parásito, codificante de ARN ribosomal. Con esta metodología se alcanza una sensibilidad de 5×10^3 parásitos /ml.

CONTROL DE LA INFECCIÓN

INFECCIÓN CONSERVADA

NO INFECCIÓN CONSERVADA

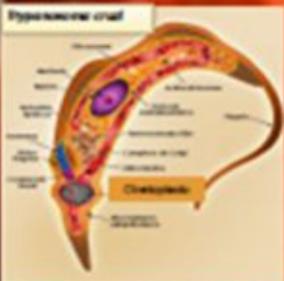
INFECCIÓN AL RECIÉN NACIDO

NO INFECCIÓN AL RECIÉN NACIDO

MANEJO CLÍNICO (Benznidazol / Nifurtimox / Otros)

CURACIÓN / No

NO CURACIÓN / No





C = control positivo; C = control negativo; Muestra 1, 2, 3, 4; M marcador de peso molecular de 300 pb.

Muestra	Edad del Recién Nacido	Servicio derivante	Resultado del micrométodo	Resultado de PCR (Lab. Central de la Provincia)
1	4 días	Hospital Iturraspe	NEGATIVO	NO DETECTABLE
2	4 meses	Hospital Mira y López	NEGATIVO	DETECTABLE
3	5 meses	Hospital Mira y López	POSITIVO	DETECTABLE
* a los 7 meses de vida se inició tratamiento con Benznidazol 50mg, 60 días				
4	9 meses	Hospital Mira y López	NEGATIVO	NO DETECTABLE

*Control serológico del año HAI: 1/26 ELISA Reactivo

En todos los casos el servicio derivante realizó el micrométodo y el Laboratorio Central de la Provincia de Santa Fe la PCR

CONCLUSIONES

El resultado positivo de PCR motivó realizar una búsqueda mas exhaustiva y un mayor número de controles parasitológicos de los solicitados en las normas provinciales de diagnóstico. La PCR fue útil para la detección de infección, anticipándose a los métodos parasitológicos y permitiendo la instauración de un tratamiento precoz y efectivo.

CHAGAS CONGÉNITO PRESENTACIÓN DE UN CASO CLÍNICO

Rompato G, Mugna V, Nepote M , Achkar G.

Laboratorio Central de la Pcia. de Santa Fe, Programa Provincial de Chagas, Ministerio de Salud
bacteriosfe@arnetbiz.com.ar



Muestra	Edad del Recién Nacido	Servicio derivante	Resultado del micrométodo	Resultado de PCR (Lab. Central de la Provincia)
1	4 días	Hospital Iturraspe	NEGATIVO	NO DETECTABLE
2	4 meses	Hospital Mira y López	NEGATIVO	DETECTABLE
3	5 meses	Hospital Mira y López	POSITIVO	DETECTABLE
* a los 7 meses de vida se inició tratamiento con Benznidazol 50mg. 60días				
4	9 meses	Hospital Mira y López	NEGATIVO	NO DETECTABLE

*Control serológico del año: HAI: 1/16 ELISA: Reactivo

En todos los casos el servicio derivante realizó el micrométodo y el Laboratorio Central de la Provincia de Santa Fe la PCR

El resultado positivo de PCR motivó realizar una búsqueda mas exhaustiva y un mayor número de controles parasitológicos de los solicitados en las normas provinciales de diagnóstico. La PCR fue útil para la detección de infección, anticipándose a los métodos parasitológicos y permitiendo la instauración de un tratamiento precoz y efectivo.



Santa Fe Argentina



VI CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOQUIMICA CLÍNICA

II CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

¡El riesgo es que te quieras quedar!

