

IV. La seroepidemiología en la investigación de la infección con *Trypanosoma cruzi*.

Sergio Sosa-Estani

Antecedentes

La epidemiología es considerada como la ciencia que estudia la distribución de un proceso de salud-enfermedad y sus determinantes (factores de protección /factores de riesgo) en la población humana (San Martín), la cual se sustenta básicamente en la comparación de eventos. Entre otros objetivos de la epidemiología podemos mencionar el aporte del conocimiento para la aplicación racional de programas de salud y su posterior evaluación. Podemos considerar evaluación al proceso que tiene como finalidad la determinación sistemática y objetiva de la relevancia, efectividad e impacto de un programa o política (OMS 1981). La utilización de la morbilidad y mortalidad como herramienta de evaluación de impacto, suele necesitar tiempos prolongados.

Frecuentemente la epidemiología utiliza programas de tamizaje como herramienta en sus investigaciones. La aplicación de un programa de tamizaje tiene como objetivo la detección temprana de una enfermedad es decir antes que esta se desarrolle (etapa pre-clínica), y generalmente no confirma la enfermedad. Este debe ser aplicado cuando se pueda mejorar el pronóstico. En un programa de tamizaje, las pruebas a ser utilizadas deben ser posibles y fáciles de aplicar, ser de bajo costo, y reproducibles. Por otra parte, siempre debe considerarse la validez de una prueba de tamizaje, la cual depende de la viabilidad de aplicación y que clasifique correctamente a las personas que tienen o no una etapa pre-clínica, cuando la prueba resulta positiva o negativa respectivamente (sensibilidad y especificidad). El uso de pruebas en un programa de tamizaje puede ser aplicado en paralelo o en serie. Generalmente las pruebas en paralelo aumentan la sensibilidad, pero disminuyen la especificidad (diagnostica falsos positivos fácilmente). Las pruebas en serie aumentan la especificidad, pero disminuyen la sensibilidad (la positividad en serie representa mas fácilmente la enfermedad verdadera).

La validez es otro concepto relacionado a la consistencia de los resultados. Es así que debemos considerar siempre los factores que determinen variabilidad en los resultados tales como: la variación biológica, variación debido al método de medición, variación intra-observador, variación inter-observador (minimizados cuando los puntos de corte y mediciones son bien definidos). Otro concepto fundamental a tener en cuenta son los Valores Predictivos de una prueba que están determinados por: validez de las pruebas (sensibilidad y especificidad), y prevalencia de la enfermedad pre-clínica.

La eficacia de un programa de tamizaje estará determinado por cuanto el tamizaje es efectivo para disminuir la transmisión o incidencia en la morbilidad y

mortalidad. Se basa en la medida que demuestra el impacto del programa de tamizaje sobre el curso de la enfermedad. Para finalmente tener como medida mas precisa a la comparación de la tasa de incidencia, de morbilidad, de mortalidad y finalmente la tasa de prevalencia específica entre las personas detectadas por el tamizaje y aquellas detectadas por la aparición de los síntomas.

La infección con *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la Enfermedad de Chagas, constituye una de las mayores endemias de América y afecta a aproximadamente 16 millones de personas en el continente. Su transmisión a través de los triatomíneos (vía vectorial) es exclusiva de América, ocurriendo también la transmisión por sangre y tejidos (transfusiones no controladas, connatal, transplantes), accidentes de laboratorio y quirúrgicos. El diagnóstico de la infección a través de la detección de anticuerpos específicos se remonta a 1913, cuando Guerreiro y Machado describieron la prueba de fijación de complemento (Guerreiro y Machado, 1913). Desde entonces el diagnóstico serológico es aplicado, (con el cual es posible detectar Inmunoglobulinas M y G en las primeras semanas de la etapa de la infección aguda, y permaneciendo la detección de la Ig. G en las etapas crónica de la infección indeterminada, cardíaca y digestiva).

El diagnóstico inmunoserológico ampliamente difundido está basado en la utilización de homogenato total de antígenos del *T. cruzi*, usados fundamentalmente en las pruebas de hemoaglutinación indirecta (HAI) (Cerisola, 1971), inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Alvarez, 1968) y ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) (Voller, 1975). En la última década fueron incorporados equipos que utilizan antígenos de fracciones moleculares, usados principalmente con pruebas de ELISA (Da Silveira, 2001). Existe una gran oferta de antígenos utilizados para el diagnóstico de Chagas, lo que exige la implementación de adecuados programas de Control de Calidad (Cura, 1998).

La seroepidemiología en la enfermedad de Chagas es aplicada desde décadas pasadas. Esta aplicación fue ampliamente demostrada en numerosos trabajos que permitieron obtener resultados significativos, como fue el fundamento técnico-científico de la magnitud de la endemia y de esta manera oficializar un Programa de Control en la Argentina (Rosembaun y Cerisola, 1961). También mostrar el impacto de las acciones del Programa de Control en las 3 décadas pasadas en Argentina (Segura, 2000), Brasil, Chile y Uruguay (Incosur, 2000).

Las acciones de control de la transmisión en los países de América, avanzan progresivamente, fundamentalmente en las acciones que respecta al control de vector (Moncayo, 1999) y el control de sangre a transfundir (Schmunis, 1998), y en menor medida el control de la transmisión connatal (Blanco, 1999). Estos avances se ven reflejados en los resultados obtenidos por los países integrantes de la Iniciativa del Cono Sur, donde Uruguay y Chile certificaron la interrupción del transmisión en todo su territorio, Brasil y Argentina lo hicieron a nivel regional (Incosur, 2000). Otros países americanos integrando otras iniciativas regionales se encuentran en etapas de inicio y consolidación de las acciones de

control, tal es el caso de la Iniciativa de los Países Andinos y la Iniciativa de los países de Centroamérica (Guhl, 1999; Ponce, 1999).

El escenario antes mencionado sugiere considerar el uso de la información disponible y la que sea necesario recolectar "adecuadamente" sobre serología poblacional para analizar la misma, de forma "adecuada", con el objeto de orientar las futuras políticas.

Es importante considerar que la epidemiología de la enfermedad de Chagas está determinada por los múltiples factores sociales y sus diferentes formas de transmisión. Entonces podríamos considerar la aplicación de la seroepidemiología en los siguientes grupos de aplicación:

- **I. Control de la transmisión**, como bien es conocido y aplicado de maneras variables dependiendo de los países:
 - Control de la sangre a transfundir
 - Detección de la mujer embarazada y el seguimiento del hijo de mujer portadora del *T. cruzi*
 - Control de donantes de órganos
 - Estudios de foco
 - Control del reservorio infectado (paciente)

Están establecidas las estrategias del uso de la serología en las acciones de control de la transmisión. La ocurrencia de casos agudos de transmisión vectorial exige la intervención urgente en la investigación como estudio de foco. En esta oportunidad la serología debe ser utilizada para investigar las personas relacionadas al caso índice que hubieran estado expuestas. Remarcamos, que para la utilización de la serología en este y los otros niveles, es necesario tener implementado adecuadamente el control de calidad de los reactivos y el proceso.

- II. Prevención secundaria

- Detección precoz del paciente infectado para realizar el tratamiento etiológico
- Evaluación de la población con tratamiento etiológico

La observación de una curva serológica, la cual exige condiciones de reproductibilidad, adquiere relevancia cuando estamos frente a casos de sospecha de una infección de Chagas en Fase Aguda, de paciente con monitoreo del tratamiento etiológico o en pacientes inmunocomprometidos. En los últimos años la utilización de diferentes antígenos de *T. cruzi* utilizados en métodos serológicos han demostrado su aplicación en la evaluación de la eficacia terapéutica (Gazinelli, 1993; Krautz, 1995; de Andrade, 1996; Sosa-Estani, 1998; Almeida, 1999; Houghton, 2000), siendo aún necesario convalidar su aplicación en el sistema de salud asistencial. De cualquier modo, siempre la evaluación de la eficacia terapéutica a través de métodos inmunoserológicos, presupone un seguimiento a largo plazo para demostrar la negativización, aunque es posible estimar el tiempo que transcurrirá para alcanzar esta condición (Sosa-Estani, 2000).

- **III. Diagnóstico de situación:** En estados avanzados del control es recomendable la construcción de mapas de riesgo de la transmisión de *T. cruzi* integrando las diferentes formas de transmisión. En la construcción de los índices, considerar junto a la infección, la presencia de acciones de control de la transmisión:

Forma de transmisión	VARIABLES DE ACTIVIDADES	VARIABLES DE EVENTOS
1. Vectorial	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia de sistema de vigilancia (Nro. de viviendas protegidas, % de cobertura) 	<ul style="list-style-type: none"> - Tasa de infestación (vectores) - Tasa de infección (reservorios: humanos, animales, domésticos) - Ocurrencia de casos agudos
2. Connatal	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia de Programas de control de mujer embarazada (Nro. de mujeres infectadas; % de cobertura) - Presencia de Programas de seguimiento del niño hijo de madre infectada (Nro. de mujeres infectadas; % de cobertura del seguimiento) 	<ul style="list-style-type: none"> - Tasa de infección en mujeres - Tasa de incidencia en hijos de madre infectada
3. Transfusional	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia de control de sangre a transfundir (Nro de donantes estudiados, % de cobertura) 	<ul style="list-style-type: none"> - Tasa de infección (donantes)

Este mapa de riesgo contemplando todas las vías de transmisión, nos permitirá tener el diagnóstico adecuado a los tiempos actuales y además la justificación técnica para el nivel político de salud, y para la sociedad en su conjunto. De esta manera se podrá mostrar la disminución del riesgo de transmisión de una de las vías (ej. vectorial), mientras otras vías de transmisión continúan generando nuevos casos (ej. connatal), sobre las cuales deben intensificarse acciones de prevención.

- **IV. Vigilancia y Evaluación del Programa de Control:** Diferentes escenarios, en relación al estado de avance del control, generan la necesidad de abordar con diferentes metodologías, la obtención de la información sobre la evolución, evaluada a través de estudios epidemiológicos.

Escenario	Objetivo de estudio	Metodología
<ul style="list-style-type: none"> - Transmisión activa - Inicio de las acciones de Control 	<ul style="list-style-type: none"> - Diagnóstico (Dx) de ocurrencia de transmisión vectorial - Estudio de base - Dx de niños para el Tto 	<ul style="list-style-type: none"> - Tamizaje en población infantil
<ul style="list-style-type: none"> - Transmisión en vías de interrupción 	<ul style="list-style-type: none"> - Evaluar impacto de las acciones de control - Dx de niños para el Tratamiento etiológico 	<ul style="list-style-type: none"> - Tamizaje en población infantil
<ul style="list-style-type: none"> - Transmisión interrumpida reciente 	<ul style="list-style-type: none"> - Dx de interrupción de transmisión vectorial - Identificación de factores de riesgo para la ocurrencia de casos esporádicos 	<ul style="list-style-type: none"> - Tamizaje por muestreo. Diseños estandarizados - Estudios caso/control - Estudios de foco
<ul style="list-style-type: none"> - Transmisión interrumpida largo plazo - migraciones a áreas no endémicas 	<ul style="list-style-type: none"> - Dx precoz de riesgo de la reinstalación de la transmisión del <i>T. cruzi</i> - Dx de tendencia de la transmisión del <i>T. cruzi</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Sitios Centinelas de población infantil (Centros de salud, escuelas, Programas de salud infantil) - Estudios transversales de mujeres embarazadas (Programa, muestreos) - Análisis de cohorte (Utilizando estudios de base de población infantil, estudios de mujeres embarazadas) - Análisis de serología de Bancos de Sangre?

Se llevan a cabo actividades que permiten a los Programa de Control realizar diagnósticos de base al inicio de las acciones, como también evaluar el impacto de las acciones llevadas a cabo para interrumpir la transmisión y prevenir nuevas infecciones (Chuit, 1989). Para esto son utilizadas herramientas y estrategias que conforman básicamente indicadores entomológicos y serológicos. Es así como el diagnóstico serológico de la infección con *T. cruzi*, es una excelente herramienta para realizar estudios epidemiológicos, utilizando métodos simples de toma de muestras de sangre capilar y sometidas a la prueba serológica en forma de tamizaje o "screening". Asimismo, es absolutamente recomendable que estos estudios sean diseñados de manera que permitan la comparación con el dato de base y los datos obtenidos después de la intervención. En estos diseños deben contemplarse, entre otras variables, aspectos de la dinámica de la transmisión, la población bajo estudio y el período de intervención que se está analizando. Asimismo, los diseños deben ser lo más simple posibles, para poder ser transferidos, y contemplar los métodos estadísticos que den validación a los resultados.

En las áreas donde se ha alcanzado la interrupción de la transmisión, o en aquellas recientemente identificadas con transmisión activa, se justifica aplicar diseños para detectar factores de riesgo en la ocurrencia de estos eventos excepcionales (Carneiro, 2001)

Basados en que en ausencia de acciones de control, más del 90% de las nuevas infecciones se adquieren por vía vectorial y en los primeros 15 años de vida (Chuit, 1989), y que existe la estandarización de los métodos serológicos convencionales, podemos utilizar la información seroepidemiológica disponible de las diferentes fuentes para intentar realizar análisis de cohortes para evaluar las diferentes acciones, en los diferentes períodos.

Conclusión

Los conceptos antes vertidos nos permiten concluir que la utilización del diagnóstico inmunoserológico es adecuado para implementar en la Enfermedad de Chagas, a través de programas protocolizados de tamizaje, los cuales permiten realizar, en general, medida del impacto sobre las diferentes formas de transmisión y en particular: a) diagnóstico precoz a la población infectada en su fase pre-clínica, pausable de recibir el tratamiento etiológico (Sosa-Estani, 1999) para eliminar la infección y disminuir el riesgo de transmisión, morbilidad y mortalidad específica, es decir prevención secundaria, b) prevenir la transmisión por vía transfusional tamizando a los donadores, c) ingresar a los hijos de mujeres infectadas en el control de la transmisión congénita tamizando a embarazadas, y d) medir el impacto de las acciones de control vectorial estudiando fundamentalmente a la población infantil.

Bibliografía

- Almeida IC, Pereira-Chioccola VL, Piovezam AG, Silsa LS, Velazquez E, Fragata AA, Segura EL, Sosa Estani S, Travassos LR. Criterium of serological cure in treated chronic chagasic patients by chemoluminiscent immunoassay using *Trypanosoma cruzi* trypomastigote mucins. *Medicina (Buenos Aires)* 1999, 59(Supl III):16.
- Alvarez M, Cerisola JA, Rohweder RW, 1968. Test de inmunofluorescencia para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Bol Chil Parasitol*, 23:4.
- Blanco SB, Segura EL, Gürtler RE, 1999. El control de la transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi* en la Argentina. *Medicina (B. Aires)*; 59 (supl II): 138-142.
- Carneiro M, Moreno EC, Antunes CMF, 2001. Nested case-control study in a serological survey to evaluate the effectiveness of a Chagas disease control programme in Brazil. *Bull World Health Org*, 79(5):409-414.
- Cerisola JA, Alvarez M, Wynne de Martini GJ, Bonacci H. La reacción de hemoaglutinación cualitativa para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, 1971. *Bioq Clin*, 5:94.
- Cura EN, Segura EL, 1998. Quality assurance of the serologic diagnosis of Chagas' disease. *Pan Am J Public Health*, 3(4): 242-247.
- Chuit R, Subias E, Pérez AC, Wisnivesky-Colli C, Segura EL, 1989. Usefulness of serology for the evaluation of *Trypanosoma cruzi* transmission in endemic areas of Chagas' disease. *Rev Soc Brasil Med Trop*; 22:119 –29.
- da Silveira JF, Umezawa ES, Luquetti AO. Chagas disease: recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens for serological diagnosis. *Trends in Parasitology* 2001, 17(6):286-291.
- de Andrade AL, Zicker F, de Oliveira RM, Almeida Silva S, Luquetti A, Travassos LR, et al., 1996. Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *Lancet*; 348:1407-13.
- Dictar M, Sinagra A, Veron MT, Luna C, Dengra C, De Rissio A, Bayo R, Ceraso D, Segura E, Koziner B, Riarte A, 1998. Recipients and donors of bone marrow transplants suffering from Chagas' disease: management and preemptive therapy of parasitemia. *Bone Marrow Transpl*; 21: 391-3.
- Gazzinelli RT, Galvao LM, Krautz G, Lima PC, Cançado JR, Scharfstein J, Krettli AU, 1993. Use of *Trypanosoma cruzi* purified glycoprotein (GP57/51) or trypomastigote-shed antigens to assess cure for human Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg*, 49(5):625-635.
- Gerreiro C, Machado A, 1913. Da reação de Bordet e Gengou na molestia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico, *Brasil Med*; 27:225-226.
- Guhl F, Vallejo GA, 1999. Interruption of Chagas disease transmission in the Andean countries: Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 94 Suppl 1:413-5.
- Houghton RL, Benson DR, Reynolds L, McNeill P, Sleath P, Skeily YA, Badaro R, Krettli AU, Reed SG. Multiepitope synthetic peptide and recombinant protein for the detection of antibodies to *Trypanosoma cruzi* in patients with treated Chagas' disease. *J Infect Dis* 2000, 181(1):325-30.
- Iniciativa de Salud del Cono Sur (Incosur), 2000. IX Reunión de la Comisión intergubernamental para la eliminación del Triatoma infestans y la interrupción transfusional de la Tripanosomiasis Americana*; OPS/HPC/HCT/175/00; Washington: OPS.
- Krautz GM, Galvão LMC, Cançado JR, Guevara-Espinoza A, Ouaiissi A, Krettli AU. Use of a 24-Kilodalton *Trypanosoma cruzi* Recombinant Protein to Monitor Cure of Human Chagas' Disease. *J Clin Microbiol* 1995; 33(8):2086-2090.

- Ministerio de Salud y Acción Social de la Nación. Instituto Nacional de Chagas "Dr. Mario Fatała Chabén", 1997. *Normas para el Diagnóstico de la Infección chagásica*, Resolución ministerial N° 523.
- Moncayo A. Progresos en la interrupción de la transmisión de la enfermedad de Chagas en los países del cono sur. *Medicina (Buenos Aires)* 1999, 59(II):120-124
- Organization Mundial de la Salud, 1981. *Evaluación de los Programas de Salud: normas fundamentales*. World Health Organization. Geneva.
- Ponce C, 1999. Elimination of the vectorial transmission of Chagas disease in Central American countries: Honduras. *Mem Inst Oswaldo Cruz*;94 Suppl 1:417-8.
- Rosembaum MB, Cerisola JA, 1961. Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en la República Argentina. *O Hospital*; 60:75-124.
- Schmunis GA, Zicker F, Pinheiro F, Brandling-Bennett D, 1998. Risk for Transfusion-Transmitted Infectious Diseases in Central and South America (perspectives). *Emerging Infectious Diseases*; 4: 5-11.
- Segura EL, Cura EN, Sosa Estani S, Andrade J, Lansetti JC, De Rissio AM, Campanini A, Blanco S, Gürtler R, Alvarez M, 2000. Long-term effects of a nation-wide control program on the seropositivity for *Trypanosoma cruzi* infection in young men from Argentina. *Am J Trop Med Hyg*, 62(3):353-362.
- Segura EL, Sosa Estani S, Esquivel ML, Gémoz, A, Salomón OD y Grupo de desarrollo y aplicación operativa, 1999. Control de la transmisión del *Trypanosoma cruzi* en Argentina 1999. *Medicina (Buenos Aires)*, 59(II):91-96.
- Sosa Estani S, Segura EL, 1999. Tratamiento de la infección por *T. cruzi* en fase indeterminada. Experiencia y normatización en la Argentina. *Medicina (Buenos Aires)*, 59(II):166-170.
- Sosa Estani S, Segura EL, Ruiz AM, Velazquez E, Porcel B, Yampotis C, 1998. Chemotherapy with benznidazole in children in undetermined phase of Chagas Disease. *Am J Trop Med Hyg*; 59(4):526-529.
- Sosa-Estani S, Cura EN, Segura EL, 2000. Tratamiento con benznidazol en niños en Fase Indeterminada de la infección con *Trypanosoma cruzi*: Seguimiento a largo plazo. *Rev Soc Bras Med Trop*, 33 (Supl. I):40-41.
- Voller A. Microplateenzyme-linked immunosorbent assay for Chagas' disease. *Lancet* 1975 i: 426-428.