

Diagnostico laboratorial de Chagas crónico en niños de 5 - 15 años del colegio “José María Ruiz” y hogar de niños “Nuestros Pequeños Hermanos” Portachuelo Mayo-2010

Felicidad Cruz & Greta Rocha

F. Cruz & G. Rocha

Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence N° 51 Sucre, Bolivia.

<http://usfx.info/farmacia/>

M. Ramos.J.Serrudo.(eds.) Ciencias de la Salud, Handbooks -©ECORFAN-Bolivia, Sucre, 2014.

Abstract

Chagas disease is one of the most serious problems in public health. In Bolivia, Chagas disease causes 13 % of deaths of Bolivians between 15 and 75 years of age. Therefore declaring national priority. The socioeconomic impact due to the morbidity and mortality caused by Chagas disease, justifies use all resources and efforts to control the disease. Treatment of Chagas infection, in the context of the control measures, seeks to limit the damage caused by the parasite and also reduce or interrupt transmission. This reality obliges all health personnel to be instructed about this disease. Therefore it became necessary as health staff make this small study for the detection of chronic chagas in children 5 -15 years of age so that later the patients with positive Chagas treated adequately by the Chagas program.

5 Introducción

La enfermedad de Chagas es un grave problema de salud pública en Bolivia, por lo que el Presidente Constitucional de la República Don Evo Morales Ayma, mediante Ley N° 3374 del 23 de marzo de 2006 ha declarado: "De prioridad nacional, la prevención y lucha contra el mal de Chagas en todos los departamentos del país".

El Programa Nacional de Chagas y las seis regionales endémicas, (Chuquisaca, Cochabamba, Santa Cruz, Tarija, La Paz y Potosí), en la gestión 2006-07 (PNCH con crédito BID) han alcanzado importantes logros que contribuyen a la disminución de la incidencia de morbilidad y mortalidad por Chagas en el país, se tamizaron 183.198 niños/as de 9 meses a menor de 15 años de edad, de las cuales resultaron positivos a infección con *T. cruzi* 13.668 niño/as, determinando una prevalencia de 7,5%, Santa Cruz reportó una prevalencia de 13,2%, Chuquisaca 10,7%, Tarija 7,1% y con menor prevalencia resultó La Paz con 3,3%.

El Ministerio de Salud y Deportes, fortalece las competencias profesionales a través de la capacitación continua del personal de salud en procedimientos de diagnóstico, tratamiento y seguimiento del infectado con Chagas.

5.1 Materiales y métodos

Método Bibliográfico

Para la recolección de los datos teóricos referidos a la parasitosis.

Método Deductivo – Inductivo

Para realizar generalizaciones o individualizaciones sobre Chagas crónico y posibles consecuencias.

Método Estadístico

Para tener un respaldo a la investigación y así dar un fundamento válido.

Métodos Laboratoriales

Para la identificación del parásito, mediante pruebas de Hemaglutinación indirecta e enzimoimmunoensayo

Campo de acción

El estudio fue realizado en 489 menores de 15 años del colegio José María Ruiz y el Hogar de niños Nuestros Pequeños Hermanos de Portachuelo. El trabajo fue realizado en el laboratorio del Hospital San José Obrero de Portachuelo en 489 muestras de niños de 5 -15 años del colegio José María Ruiz y el Hogar de niños Nuestros Pequeños Hermanos del municipio de Portachuelo.

Materiales utilizados

Equipos

- Lector de HAI
- Lector de ELISA
- Centrifuga 5000 rpm
- Estufas
- Refrigerador
- Pipeta multicanal
- Pipetas automáticas de 10ul, 25ul, 70ul, 100ul, 1000ul
- Baño María

Otros

- Jeringas 3 cc
- Tubos de centrifuga
- Tubos ependors
- Tips
- Algodón
- Alcohol
- Guantes
- Torniquete
- Gradillas

Recolección de datos

Se tomó como universo a niños de 5 - 15 años de edad del colegio José María Ruiz y el Hogar de niños Nuestros Pequeños Hermanos de Portachuelo.

Toma de muestra

La toma de muestra se realizó en el mencionado colegio y el hogar de niños, realizando la asepsia de la fosa anti cubital, y se extrajo sangre venosa con la ayuda de una jeringa hipodérmica sacando cantidad necesaria. Se trasvasó a un tubo sin anticoagulante por las paredes del mismo, a manera de evitar hemólisis. Se llevó el tubo a baño María por 10 minutos. Para luego centrifugar a 5000 r.p.m. por el tiempo de 5 minutos. Después de este tiempo se extrajo el suero y se trasvasó a un ependor para luego procesarlas.

Procesamiento de las muestras

Se procedió a la determinación de anticuerpos anti Tripanosomacruzi siguiendo el método de Hemaglutinación Indirecta (H.A.I.) descrita generalmente por Polychaco realizando solo hasta la dilución 1/16.

Posteriormente a las muestras positivas en esta dilución; se efectuó la prueba de ensayo inmunoenzimático (E.L.I.S.A.) para confirmar la positividad.

Técnicas y reactivos

- Hemaglutinación Indirecta (HAI Chagas polichaco)

Se utilizaron 2 kits de reactivos, en los cuales deben contener:

- Frasco N° 1. Antígeno. 12 ml de suspensión estabilizada de hematíes de carnero sensibilizados con antígeno de Tripanosoma cruzi, agitar intensamente antes de usar.
- Frasco N° 2. Diluyente de muestra. 30 ml de solución salina isotónica con adsorbentes y conservadores.
- Frasco N° 3. Solución proteica. 1.5 ml de solución proteica, estabilizada, con conservadores.
- Frasco N° 4. Hematíes No Sensibilizados. 5 ml de suspensión estabilizada de hematíes de carnero no sensibilizados. Para control de heterofilia. Agitar intensamente antes de usar.
- Frasco N° 5. Control Positivo. 0.5 ml de una solución de suero reactivo para anticuerpos contra T. cruzi, titulando, inactivando, con conservadores. Material potencialmente infeccioso, listo para usar.
- Frasco N° 6. Control Negativo. 0.5 ml de una dilución de suero no reactivo para anticuerpos contra T. cruzi, inactivados, con conservadores, material potencialmente infeccioso, listo para usar.

Preparación de los reactivos

“Se tomó en cuenta todo lo correspondiente al prospecto del reactivo”.

Antígeno (frasco N° 1) agitar enérgicamente el frasco antes de usar, hasta obtener una suspensión homogénea. Mantener el frasco en posición vertical.

Diluyente de muestra (frasco N° 2); antes de utilizar el Diluyente, agregar 0.5 ml de solución Proteica (frasco N° 3), cada 10 ml de Diluyente. Preparar la cantidad necesaria para el uso inmediato, ya que es sólo estable durante dos días si se mantiene entre 2 y 8° C.

Hematíes No Sensibilizados (frasco N° 4); agitar enérgicamente el frasco antes de usar, hasta obtener una suspensión homogénea. Mantener el frasco en posición vertical.

Control Positivo y Negativo (frasco N° 5 y 6); listos para usar. Estos controles se preparan a partir de suero humano no reactivo para anticuerpos contra HCV, HIV y HbsAg, adecuadamente inactivado. Sin embargo, todos los derivados de la sangre humana deben manejarse con precaución.

Técnica

“Se tomó en cuenta la técnica indicada en el prospecto”

- Colocar 25ul de Diluyente de Muestra (ver Preparación de los reactivos) utilizando un micro gotero o una micro pipeta calibrada, a partir del primer posillo de una poli cubeta descartable. Utilizar la cantidad de posillo necesarios hasta la dilución (título) que se desea investigar.
- Tomar un microdiluidor de 25ul y sumergirlo en un recipiente con agua destilada o desionizada, secarlo con papel filtro por rotación y seguidamente colocarlo en el suero a analizar. Al retirarlo controlar que la muestra cubra la totalidad de los espacios vacíos.
- Sumergir el microdiluidor cargado en el 1° posillo y girar el mismo entre ambas manos no menos de 10 veces. Esta operación asegurará una perfecta homogeneización de la muestra.
- Transferir los microdiluidores a la fila siguiente y repetir la misma operación hasta la dilución deseada.
- Retirar los microdiluidores y secarlos con papel de filtro. Sumergirlos sucesivamente en dos recipientes con agua destilada o desionizada y secarlos con papel de filtro para usarlos nuevamente.
- Repita los pasos 2 a 5 con el Control Positivo (ver Advertencias y precauciones) y el Control Negativo provistos en el equipo.
- Si utiliza la micropipeta de 25ul para la toma y dilución de la muestra y los controles, homogeneizar por carga y descarga, transfiriendo 25ul de pocillo en pocillo hasta la dilución deseada, descartando los últimos 25ul.
- Depositar 25ul de Hematíes No Sensibilizados (frasco N° 4) en los pocillos 1 y 2 (dilución $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$) solamente del suero. No colocar en las diluciones de los Controles Positivos y Negativos.

- Depositar 25ul de Antígeno (frasco N° 1) en los restantes pocillos. (Dilución 1/8 hasta la dilución a investigar).
- Agitar la policubeta golpeando con los dedos sobre sus paredes laterales, durante no menos de 30 segundos.
- Dejar la policubeta en reposo a resguardo de vibraciones durante un mínimo de dos horas y leer.

5.2 Resultados y discusión

Tabla 5 Universo de estudio según grupo etáreo Portachuelo mayo-2010

Edad	Número	%
5 a 10	293	60
11 a 15	196	40
total	489	100

Del total de 489 muestras procesadas, el 60% corresponde a las edades de 5-10 y un 40% corresponde a las edades de 11-15.

Tabla 5.1 Cuadro comparativo según institución Portachuelo mayo-2010

Institucion	Número	%
NPH	57	12
Colegio	432	88
Total	489	100

Del total de 489 muestras procesadas, 12% pertenecen al Hogar “Nuestros Pequeños Hermanos” y 88% al colegio “José María Ruiz”.

Tabla 5.2 Reactividad serológica para chagas en niños de 5 - 15 años de edad del colegio “José María Ruiz” y hogar de niños nuestros pequeños hermanos, portachuelo mayo-2010

Resultados	Numero	Porcentaje
Negativos	469	95.91
Positivos	20	4.09
Total	489	100%

Del total de las 489 muestras procesadas, 4.09% son serológicamente positivos y 95.91 % son serológicamente negativas.

Tabla 5.3 Reactividad serológica segun sexo. Portachuelo mayo-2010

Sexo	Positivos	%
Varones	9	45
Mujeres	11	55
Total	20	100

De las 20 muestras que presentaron reactividad el 55% corresponden a mujeres y 45% corresponden a varones que son serológicamente positivos.

5.3 Conclusiones

Los análisis efectuados a 489 pacientes pertenecientes al colegio “José María Ruiz” y Hogar “Nuestros Pequeños Hermanos”, demuestran que la incidencia de infección por *Tripanosoma cruzi*, en niños de 5 - 15 años de edad, alcanza un 4,09%, siendo este un dato considerable.

- Del total de 489 muestras procesadas, el 60% corresponde a las edades de 5-10 y un 40% corresponde a las edades de 11-15.
- Del total de 489 muestras procesadas, 12% pertenecen al Hogar “Nuestros Pequeños Hermanos” y 88% al colegio “José María Ruiz”.
- Del total de las 489 muestras procesadas, 4,09% son serológicamente positivos y 95,91 % son serológicamente negativas.
- De las 20 muestras que presentaron reactividad, el 55% corresponden a mujeres y 45% corresponden a varones que son serológicamente positivos.

5.4 Agradecimientos

Los investigadores agradecen a la Dirección de Investigación Ciencia y Tecnología (DICYT) de la Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo.

5.5 Referencias

A. Gianella, Poser Von, Zamoran P. Prevalencia de infección Chagásica en universitarios de Santa Cruz de la Sierra - Bol. Cient. CENETROP Vol. XV. 47-51, 1993.

H. Freilij, J. Altcheh Respuesta terapeutica al nifurtimox en pacientes de edad pediátrica con enfermedad de Chagas crónica de la ciudad de B Aires. Rev Patol Trop. 27 (Supl): 17-9, 1998.

J. Alfred, F. Noireau, & G. Guillen 1999. Chagas: la enfermedad en Bolivia. La Paz: Ministerio de Salud y Previsión Social, 84 p.

R.J Hayes, Schofield, C. Y.: Estimación de las tasas de incidencia de infecciones. Y parasitosis crónicas a partir de la prevalencia: la enfermedad de Chagas en América Latina. Bol. Of. Sanit. Panam. 108:308, 1990.

Storino R & Milei J, 1994. Enfermedad de Chagas. Buenos Aires: Mosby/Doyma. Argentina, 652 p.