

Seroprevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en donantes de sangre (estudio preliminar)

Luisa Barea¹, Rocío González¹, Jose L. Bueno¹, Carmen Cañavate², María Flores², M. Rodríguez², Teresa Gárate², Emma Castro¹

¹Centro de Donación de Sangre de la Cruz Roja de Madrid

²Centro Nacional de Microbiología; Instituto de Salud Carlos III

Correspondencia:

Emma Castro

Centro de Donación de Sangre de la Cruz Roja de Madrid

Juan Montalvo, 3. 28040 Madrid

E-mail: ecastro@cdscruzroja.infonegocio.com

Resumen

La población extranjera censada en la Comunidad de Madrid ha pasado de 10.471 en 1998 a 548.318 en 2002 y alrededor de 750.000 en 2004 (13% de la población total), de los que aproximadamente el 58% provienen de áreas endémicas de Iberoamérica.

El objetivo de este estudio es valorar la prevalencia de enfermedad de Chagas en los donantes de sangre procedentes de áreas endémicas.

Durante el periodo de estudio se presentaron 1.536 donantes iberoamericanos con riesgo de ser portadores de la enfermedad de Chagas. El 96,2% (n=1.478) fueron analizados para *anti-T. cruzi*. En 12 casos el estudio de anticuerpos *anti-T. cruzi* fue positivo (0,8%).

Palabras clave: Chagas. Serodiagnóstico. Transfusión.

Summary

Foreign population in the Community of Madrid have grown from 10.471 in 1998 to 548.318 in 2002, and around 750.000 in 2004 (13% of the total population). Fifty eight percent of this population come from Chagas disease endemic areas of Latin America.

The objective of this study is to assess the prevalence of Chagas disease in blood donors coming from endemic areas.

In this study we included 1.536 Latin American blood donors with epidemiological risk of Chagas disease. We tested 96.2% for *T. cruzi* antibodies. Serological results were positive in 12 cases (0.8%).

Key words: Chagas. Serodiagnosis. Transfusion.

Introducción

La incidencia real de enfermedad de Chagas adquirida a través de transfusión de sangre se desconoce, ya que la mayoría de los casos son inaparentes o no se identifica el agente etiológico. Algunos estudios efectuados en Brasil hablan de que el 13-49% de los pacientes transfundidos con sangre de donantes seropositivos para *T. cruzi* resultan infectados¹.

A partir del año 2000 las corrientes migratorias a España, y más concretamente a la Comunidad de Madrid, sufren un incremento espectacular.

Se calcula que actualmente en España residen unos 2,7 millones de extranjeros, de los que aproximadamente el 25% lo hacen en la Comuni-

dad de Madrid. Según datos del padrón, publicados por el Instituto Nacional de Estadística, en el año 2004 la población de Madrid ascendía a 5.804.829 personas, de las cuales, 765.000, es decir el 13%, eran de procedencia extranjera, siendo más de la mitad (58%) naturales de países latinoamericanos.

Objetivo

Una vez conocida la situación actual de la población extranjera asentada en Madrid y observada la tendencia de su crecimiento exponencial en los últimos años, se plantea la necesidad de realizar un estudio para determinar la seroprevalencia de enfermedad de Chagas en los donantes de sangre procedentes de países endémicos.

Material y métodos

Desde el 1 de marzo de 2002, hasta el 31 de diciembre de 2004, los candidatos a donante de sangre fueron entrevistados por un médico y sometidos a un proceso de selección para establecer su idoneidad.

A los sujetos nacidos en países endémicos, sin antecedentes conocidos de infección chagásica previa, se les ofreció la posibilidad de extraerles una muestra de sangre para descartar la presencia de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi*, por medio de dos técnicas: inmunofluorescencia indirecta (IFI)² y enzimo-inmunoanálisis (ELISA). Ambas pruebas se desarrollaron utilizando antígenos obtenidos a partir del cultivo de epimastigotes en fase estacionaria de dos cepas del Linaje 2 de *T. cruzi*, MC y T (cedidas por el Dr. Pedro Bonay, Universidad Autónoma de Madrid). Para el ensayo ELISA se preparó antígeno soluble según Scott, *et al*³. Las muestras fueron analizadas siguiendo protocolos puestos a punto en el Centro Nacional de Microbiología de Majadahonda. En una base de datos se registraron: el país de procedencia, la edad, el sexo y el resultado de las pruebas anti-*T. cruzi*. Todos los donantes fueron informados de los resultados analíticos y se les indicó si eran o no aptos para la donación. También se registró el número de donaciones efectuadas por los donantes seronegativos tras conocer el resultado de los análisis.

Las muestras reactivas por ambos métodos se consideraron positivas y las que sólo fueron reactivas con uno de los tests se consideraron dudo-

sas o indeterminadas. Sólo se readmitió a los donantes con resultados inequívocamente negativos en los dos tests.

Los donantes considerados no aptos, tras la entrevista médica y/o las pruebas pre donación fueron excluidos temporal o definitivamente, según la causa. Los motivos de rechazo se registraron informáticamente en la ficha de cada donante.

Los donantes que pasaron con éxito el proceso de selección fueron aceptados para donar. Todas las donaciones fueron analizadas para los marcadores infecciosos que establece la actual legislación.

Resultados

Durante el periodo de estudio se presentaron 201.210 donantes potenciales. Se obtuvieron 166.026 donaciones, de las cuales el 2,4% fueron realizadas por donantes de origen extranjero.

El porcentaje global de donantes excluidos temporal o definitivamente sobre el total de donantes presentados, durante el periodo de estudio, fue del 17,5% (n= 35.184).

El 10% de los donantes excluidos (n=3.616) fueron de origen extranjero y 1.536 de ellos (el 44%) procedían de países endémicos de Chagas y les fue ofertada la posibilidad de realizar el estudio de anticuerpos *anti-T. cruzi*. Su distribución por sexos fue: 48,7% hombres y 51,3% mujeres. La edad media fue de 33 años.

En el corto periodo de seguimiento (hasta 31 de diciembre de 2003), 381 de los 874 donantes seronegativos (44%) donaron con posterioridad a la notificación del resultado, al menos en una ocasión (1 vez: 244 donantes, 2 veces: 80 donantes, 3 veces o más: 57 donantes). El número total de donaciones efectuadas por estos donantes en dicho periodo fue de 590 unidades.

En 1.443 donantes estudiados (97,6%), el resultado de los anticuerpos *anti-T. cruzi* fue negativo. Doce casos (5 hombres y 7 mujeres) fueron repetidamente reactivos con ambas técnicas, lo que supone una tasa del 0,8% y se consideraron donantes portadores de anticuerpos *anti-T. cruzi*. Uno de ellos procedía de Colombia, otro de Ecuador, otro de Nicaragua y nueve donantes (75% de los donantes seropositivos), eran naturales de Bolivia, país con la mayor prevalencia de portadores de Chagas. Los 25 casos restantes (1,7%) resultaron reactivos por una o ambas técnicas, con valores cercanos a la línea de corte de forma repetida, fueron catalogados como falsos reactivos, pero no obstante fueron excluidos de forma definitiva.

Discusión

El *T. cruzi* es un organismo robusto que puede sobrevivir hasta 18 días en sangre total almacenada a 4°C. También resiste los procesos de criopreservación y descongelación⁴. La vía transfusional es el segundo mecanismo de transmisión más importante en los países endémicos. La infección se puede transmitir no sólo por la transfusión de sangre total, sino también a través de plasma fresco congelado, crioprecipitado, plaquetas y concentrados de leucocitos^{5,6}. Los factores que influyen en la transmisión transfusional del parásito no están claros pero parece que el tipo de componente puede jugar algún papel⁷. Así por ejemplo, los concentrados de plaquetas son el componente más implicado en la enfermedad de Chagas transfusional. El corto periodo de almacenamiento, la temperatura de conservación y el tipo de paciente subsidiario de recibir este tipo de componente (paciente inmunocomprometido), pueden favo-

recer el contagio de la infección⁸. Otros factores que aumentan el riesgo de contagio vía transfusional son la concentración del parásito en el producto transfundido, el nivel de parasitemia en el momento de la donación, el estado del sistema inmune del receptor y la realización o no de pruebas de cribado⁹.

El empleo de estrategias para el cribado de las donaciones de sangre supone un enorme gasto económico y conlleva una cuantiosa pérdida de unidades falsamente positivas, especialmente en áreas de baja prevalencia, donde el 3-5% de las muestras analizadas presentan resultados indeterminados¹⁰.

Lo ideal para el escrutinio de donantes de sangre sería disponer de un único método capaz de detectar las distintas cepas del parásito tanto en la fase aguda como crónica de la infección, que fuera fácilmente estandarizable y de bajo coste. La tecnología ELISA cumple con los requisitos del automatismo, a la vez que su manejo resulta familiar en muchos bancos de sangre⁶.

Estudios recientes demuestran que algunos ELISAS que emplean mezclas de antígenos recombinantes que provienen de zonas altamente conservadas de diferentes cepas de *T. cruzi* presentan una sensibilidad y especificidad igual o superior a 99,75% y 98,6% respectivamente y reaccionan con el 93% de los sueros de pacientes en fase aguda de la infección, lo que supone una gran ayuda en el diagnóstico temprano de la infección¹¹.

La tasa de resultados falsos negativos de los ELISA recombinantes es baja (menor del 2%)¹² pero constituye la mayor preocupación a la hora de usarlos en exclusiva en el escrutinio de donantes de sangre.

Recientemente se ha propuesto la utilización simultánea de un ELISA que utiliza fracciones antigénicas enteras o semipurificadas de la forma epimastigote, y otro que contiene antígenos recombinantes. Con ello parece lograrse un incremento en la sensibilidad y una disminución de la tasa de resultados falsos positivos y no concluyentes.

En Estados Unidos actualmente habitan millones de personas procedentes de países endémicos de Chagas y se estima que entre 50.000 y 100.000 pueden ser portadores asintomáticos de la enfermedad. Allí, los estudios realizados en donantes de sangre seleccionados arrojan una seroprevalencia de *T. cruzi* entre el 0 y el 0,48%¹³. Hasta la fecha en Estados Unidos y Canadá se han detectado 6 casos de Chagas asociado a transfusión, con implicación de al menos 5 donantes nacidos en países endémicos¹⁴.

Los bancos de sangre han ido introduciendo paulatinamente en su rutina de trabajo pruebas analíticas para detectar los agentes víricos transmisibles vía sanguínea más importantes. Tal es el caso de las técnicas NAT que han logrado reducir el riesgo de transmisión vía transfusional de algunos de estos virus a niveles muy bajos^{15,16}. Por todo ello, actualmente el mayor riesgo infeccioso asociado a la transfusión no es el derivado de la transmisión de los virus VIH, VHB o VHC sino la transmisión de bacterias, virus emergentes y parásitos, para los cuales, los bancos de sangre no realizan pruebas de cribado rutinarias.

¿De qué métodos disponemos para prevenir la entrada de la enfermedad de Chagas en los países no endémicos?

Uno de los métodos más importantes sigue siendo seleccionar adecuadamente a los donantes. No obstante el rechazo indiscriminado de las personas procedentes de áreas geográficas de riesgo puede disminuir de forma marcada las reservas de sangre. Para paliar esta pérdida injustificada de donantes los datos epidemiológicos pueden ser de gran utilidad, especialmente en combinación con el empleo de técnicas de cribado¹⁷.

Paralelamente a los avances en las técnicas de cribado microbiológico los bancos de sangre han ido introduciendo en su rutina de trabajo otras

estrategias encaminadas a mejorar la seguridad de la transfusión, como por ejemplo los sistemas de inactivación de patógenos (azul de metileno, solvente detergente, psoralenos), aplicables al plasma y ahora también a las plaquetas. Hay estudios que demuestran la eficacia de estos métodos en la reducción del *T. cruzi* a niveles indetectables en ambos componentes (superior a 5.4 y 5 log respectivamente)¹⁸⁻²⁰. No obstante su empleo aún no está muy extendido y algunos de ellos aún están en fase de investigación o de ensayo clínico. Además, por el momento no está autorizado el uso en rutina de ningún método para tratar células rojas²¹.

Algunos trabajos experimentales demuestran que el empleo de filtros desleucocitadores para filtrar sangre contaminada artificialmente con *Trypanosoma cruzi* reduce de forma significativa el nivel inicial de parasitemia. No obstante para saber si este método supone una alternativa para reducir la incidencia de enfermedad de Chagas asociada a transfusión se precisa la realización de estudios clínicos en portadores²². Pero si en un futuro se demostrase la eficacia preventiva de esta estrategia: ¿qué ocurriría con las plaquetas o el plasma leucorreducidos que nos proporcionan los modernos sistemas de aféresis?; ¿sería preciso filtrarlos para eliminar una hipotética carga de parásitos?.

Dados los resultados de este estudio preliminar, que demuestran que en la Comunidad de Madrid el riesgo de Chagas asociado a transfusión se perfila como una realidad - ya que se detecta una seroprevalencia del 0,8% en donantes procedentes de zonas endémicas- y dado que por el momento no se dispone de ningún otro método que evite el riesgo en todos los componentes sanguíneos, la introducción de técnicas de diagnóstico para el cribado de estos donantes, asentados en nuestra sociedad, parece una necesidad.

Conclusión

- El empleo rutinario de las técnicas de inmunoensayo para el cribado de anticuerpos anti *T. cruzi* en personas procedentes de áreas endémicas permite proteger una valiosa fuente de donantes, sin aumentar el riesgo infeccioso asociado a la transfusión de sangre.
- La legislación española debería revisarse e introducir nuevos criterios para la readmisión de donantes procedentes de áreas de riesgo en los que se demuestre mediante un test de laboratorio validado la ausencia de contacto con el parásito.

Bibliografía

1. Shulman IA. Intervention strategies to reduce the risk of transfusion-transmitted *Trypanosoma cruzi* infection in the United States. *Transfus Med Rev* 1999;13:227-34.
2. Camargo ME. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1966;8:227-35.
3. Scott P, Pearce E, Natovitz P, et al. Vaccination against cutaneous leishmaniasis in a murine model. I. Induction of protective immunity with a soluble extract of promastigotes. *J Immunol* 1987;139:221-7.
4. Wendel S, Gonzaga AL. Chagas' disease and blood transfusion: a New World problem? *Vox Sang* 1993;64:1-12.
5. Wendel S. Transfusion-transmitted Chagas' disease. *Curr Opin Hematol* 1998;5:406-11.
6. López-Antuñano F, Rangel- Flores H, Ramos C. Diagnosis of Chagas' disease. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 2000;42:121-9.
7. Leiby DA, Lenes BA, Tibbals MA, et al. Prospective evaluation of a patient with *Trypanosoma cruzi* infection transmitted by transfusion. *N Engl J Med* 1999;341:1237-9.
8. Brashear RJ, Winkler MA, Schur JD, et al. Detection of antibodies to *Trypanosoma cruzi* among blood donors in the southwestern and western United States. I. Evaluation of the sensitivity and specificity of an enzyme immunoassay for detecting antibodies to *T. cruzi*. *Transfusion* 1995;35:213-8.
9. Wendel S. Transfusion-transmitted Chagas' disease. *Curr Opin Hematol* 1998;5:406-11.
10. Salles NA, Sabino EC, Cliquet MG, et al. Risk of exposure to Chagas' disease among seroreactive Brazilian blood donors. *Transfusion* 1996;36:969-73.
11. Umezawa ES, Bastos SF, Coura JR et al. An improved serodiagnostic test for Chagas' disease employing a mixture of *Trypanosoma cruzi* recombinant antigens. *Transfusion* 2003;43:91-7.
12. Umezawa ES, Bastos SF, Coura JR, et al. An improved serodiagnostic test for Chagas' disease employing a mixture of *Trypanosoma cruzi* recombinant antigens. *Transfusion* 2003;43:91-7.
13. Leiby DA, Herron RM, Jr, Read EJ, et al. *Trypanosoma cruzi* in Los Angeles and Miami blood donors: impact of evolving donor demographics on seroprevalence and implications for transfusion transmission. *Transfusion* 2002;42:549-55.
14. Leiby DA. Parasites: An emerging threat to blood safety. *Blood therapies in Medicine* 2003;4 (1) :5-10.
15. Alvarez M, Oyonarte S, Rodriguez PM, et al. Estimated risk of transfusion-transmitted viral infections in Spain. *Transfusion* 2002;42:994-8.
16. Busch MP, Kleinman SH, Jackson B, et al. Committee report. Nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion-transmitted infectious diseases: Report of the Interorganizational Task Force on Nucleic Acid Amplification Testing of Blood Donors. *Transfusion* 2000;40:143-59.
17. Appelman MD, Shulman IA, Saxena S, et al. Use of a questionnaire to identify potential blood donors at risk for infection with *Trypanosoma cruzi*. *Transfusion* 1993;33:61-4.
18. Castro E, Bueno JL, Fresno M, and Gironés N. Photochemical treatment with methylene blue and light as well as freezing of plasma avoids *trypanosoma cruzi* transmission by transfusion. *Transfusion* 44 (suppl). 2004.
19. Corash L. Inactivation of viruses, bacteria, protozoa, and leukocytes in platelet concentrates. *Vox Sang* 1998;74 (Suppl 2):173-6.
20. Van Voorhis WC, Barrett LK, Eastman RT, et al. *Trypanosoma cruzi* inactivation in human platelet concentrates and plasma by a psoralen (amotosalen HCl) and long-wavelength UV. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:475-9.
21. Corash L. Inactivation of viruses, bacteria, protozoa and leukocytes in platelet and red cell concentrates. *Vox Sang* 2000;78 (Suppl 2):205-10.
22. Moraes-Souza H, Bordin JO, Bardossy L, et al. Prevention of transfusion-associated Chagas' disease: efficacy of white cell-reduction filters in removing *Trypanosoma cruzi* from infected blood. *Transfusion* 1995;35:723-6.