
EVALUACION A 24 MESES POST-TRATAMIENTO

CON BENZNIDAZOL EN NIÑOS DE 6 A 12 AÑOS

INFECTADOS CON *Trypanosoma cruzi*

Ninfa Vera de Bilbao,¹ Margarita Samudio,¹ Alicia Schinini,¹ Nidia Acosta,¹ Elsa López,¹ Nilsa González,¹ Gloria Echague,¹ Liliana Sosa,¹ Jorge Martínez,¹ Mercedes Carpinelli,¹ Reinelda Céspedes,² Julio Patiño,³ Ruben Figueroa⁴ y Antonieta Rojas de Arias¹

RESUMEN

A fin de evaluar la acción terapéutica del benznidazol en niños en edad escolar (de 6 a 12 años) infectados con *Trypanosoma cruzi*, se estudiaron 20 niños con serología positiva para la enfermedad de Chagas. Los niños eran procedentes de dos compañías del Departamento de Paraguari, situadas en un área endémica del Paraguay. Antes de iniciar el tratamiento las viviendas de estas zonas fueron evaluadas entomológicamente y posteriormente rociadas con insecticida. Antes del tratamiento estos 20 niños fueron sometidos a un examen clínico y laboratorio de control que incluyó parasitemia directa, xenodiagnóstico y confirmación serológica por ELISA e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). Se realizaron determinaciones hematológicas y bioquímicas antes y a los 20 días de iniciado el tratamiento para permitir detectar la aparición de efectos colaterales durante el mismo. En el estudio basal, el 15% (3/20) de las muestras tuvo parasitemia directa positiva, y en 55% (11/20) de los niños se obtuvo xenodiagnóstico positivo. Todos fueron tratados con benznidazol: 5-7 mg/kg de peso por día durante 60 días. Las evaluaciones serológicas y parasitológicas se realizaron a los 6, 12, 18 y 24 meses después de haber finalizado el tratamiento. No se observaron variaciones entre las determinaciones hematológicas y bioquímicas basales y las realizadas a los 20 días. Los resultados parasitológicos al año y a los 2 años después del tratamiento resultaron negativos en el 100% de las muestras. Con respecto a la serología, al comparar la densidad óptica del test de ELISA, pareando las muestras del estudio basal, al año y a los 2 años de finalizado el tratamiento, en los 12 niños que no migraron, se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los valores del basal y el primer año ($p < 0.0047$), y entre el basal y el segundo año ($p < 0.001$). No hubo diferencia significativa ($p < 0.1659$) al comparar los títulos entre el primero y segundo año. Se concluye que hubo disminución significativa de la concentración de anticuerpos dos años después del tratamiento en los 12 niños que no migraron.

PALABRAS CLAVE: *Trypanosoma cruzi*. Benznidazol. Enfermedad de Chagas. Tratamiento. Fase crónica reciente.

1 Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción.

2 Servicio Nacional de Erradicación del Paludismo, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social.

3 Centro de Salud de Yaguarón, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social.

4 Organización Panamericana de la Salud.

Endereço para correspondência: E-mail: nverabilbao@hotmail.com

Recebido para publicação em 20/8/2004. Revisto em 10/12/2004. Aceito em 18/1/2005.

INTRODUCCION

En el Paraguay, un país en donde aproximadamente cincuenta y siete por ciento de la población vive en áreas rurales (5), se observa elevada prevalencia de la enfermedad de Chagas, causada por el *T. cruzi* y su vector principal, *Triatoma infestans* (6, 30, 12). Una encuesta serológica realizada por el Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, en los tres departamentos de mayor endemia de Paraguay, en su mayoría en zonas rurales, arrojó la prevalencia del 22% (4).

En el consenso realizado en Brasil se ha recomendado el tratamiento de la enfermedad de Chagas – en la infección aguda (vectorial, congénita o transfusional) y en la fase crónica reciente. Concomitantemente se deben implementar, en cada país, normas adecuadas para interrumpir las distintas vías de transmisión. En la fase aguda o en la infección congénita se puede tratar a los pacientes con cualquiera de los dos medicamentos recomendados para esta parasitosis, el nifurtimox y el benznidazol. En la fase crónica reciente, la cual es la modalidad de la enfermedad que se manifiesta en niños hasta 12 años, en los que se ha demostrado la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en el suero, la experiencia, en estudios controlados, indica el éxito del tratamiento cuando se usa benznidazol (19). Moya et al. recomiendan el tratamiento de casos congénitos antes de los 6 meses de edad cuando se comprueba la presencia del parásito. En niños mayores de 6 meses, que tengan dos pruebas serológicas positivas, aún con parasitología negativa, también lo indican. Además el tratamiento es efectivo antes de los 3 años de vida y en aquellos casos de infección aguda comprobada (mayores de 3 años) (17). A partir de 1971 se iniciaron los estudios sobre los resultados con benznidazol, cuya eficacia fue similar o inclusive superior al nifurtimox en pacientes tratados durante la fase aguda (20). La evaluación de la eficacia terapéutica también fue realizada en un grupo de 100 pacientes tratados con benznidazol, con sus diversas formas clínicas, seguidos a largo plazo, por lo menos 5 años, por medio de serología convencional, como criterio de cura aceptado por la comunidad científica, después de tres años de haber finalizado el tratamiento. Se incluyeron pacientes en fase crónica reciente, forma indeterminada, cardíaca, digestiva o asociada (cardio-digestiva). Además del examen clínico y de los exámenes complementarios, todos los pacientes fueron sometidos a exámenes parasitológicos y serológicos. Los resultados se dividieron en cura, fracaso y dudoso, de acuerdo al comportamiento serológico de un grupo testigo (no tratado). En la fase crónica el porcentaje de cura por benznidazol fue muy bajo al comparar con el elevado porcentaje de cura (75%) en la fase aguda y en la crónica reciente (8).

En 1990 se iniciaron dos ensayos clínicos, con benznidazol y con placebo, a doble ciego en niños de edad escolar para verificar si el tratamiento etiológico ofrecido durante las primeras etapas de la forma indeterminada de la enfermedad tendría mayores posibilidades de curación. De los dos estudios, uno se realizó en Goiás, Brasil, y el otro en Salta, Argentina, y en ambos se siguió el mismo protocolo

(1, 26). Los resultados obtenidos demostraron que los títulos de anticuerpos anti-*T. cruzi* fueron significativamente más bajos en niños tratados con benznidazol que en aquellos tratados con placebo y se observó además que en algunos se obtuvo la conversión serológica deseada. Ambos estudios examinaron la seguridad y la eficacia del tratamiento con benznidazol en el tratamiento de la fase crónica temprana encontrándolo seguro y con 55,8% a 62,1% de eficacia en la obtención de seroconversión negativa de anticuerpos anti-*T. cruzi* (1, 26).

La Reunión Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas, llevada a cabo en Uruguay en 1991 y organizada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), recomendó enfáticamente el tratamiento en niños en edad escolar con serología positiva debido a la mayor probabilidad de éxito terapéutico cuando el tiempo de la adquisición de la infección es más corto (18).

De todo esto surge la necesidad de realizar más estudios, con diseños apropiados, sobre la evaluación del tratamiento en pacientes de la forma indeterminada, en el rango de 3 a 12 años. Los objetivos de un tratamiento específico serían, en principio, erradicar la infección y, según hallazgos recientes, impedir la aparición de lesiones en los órganos o el agravamiento de las ya presentes (19).

Este estudio preliminar se realizó dentro del marco del Programa Nacional de Control de la Enfermedad de Chagas, llevado a cabo por el Servicio Nacional de Erradicación del Paludismo (SENEPA), que además suministró la droga para el tratamiento.

El presente estudio se desarrolló a fin de evaluar el éxito terapéutico en niños de 6 a 12 años de edad infectados con *T. cruzi* y al mismo tiempo indicar las mejores técnicas para determinar la cura parasitológica y serológica en las personas tratadas. No se cuenta con datos de tratamiento en niños infectados con *T. cruzi* en este grupo etario en nuestro país, razón por la cual exponemos nuestra experiencia. Entre los objetivos específicos del trabajo se incluye determinar la respuesta inmunológica y la presencia de parásitos por las técnicas de parasitemia directa y xenodiagnóstico en niños antes y después del tratamiento, evaluando los cambios de valores de densidad óptica (DO) del ELISA, los títulos de inmunofluorescencia indirecta y serología por Western-blot (WB), así como evaluar los efectos secundarios durante el tratamiento.

MATERIALES Y METODOS

Diseño experimental

Es un estudio con diseño de series temporales que incluyó la evaluación basal, el tratamiento y la evaluación post-tratamiento en niños con serología positiva para anticuerpos anti-*T. cruzi* en dos localidades del Departamento de Paraguari, con una población de 890 y 790 habitantes respectivamente.

Sujetos

Fueron evaluados veinte niños en edad escolar (de 6 a 12 años), 70% (14/20) de sexo femenino y 30% de sexo masculino, procedentes de las localidades anteriormente mencionadas. La infección con *T. cruzi* fue determinada mediante un tamizaje serológico inicial por el método de ELISA (24, 31, 14) en 373 muestras de sangre recogidas en papel de filtro por punción digital, realizado por el SENEPA. Este estudio fue realizado en el período entre 1995 y 1997.

Estudio basal

Antes del inicio del tratamiento los niños con resultado positivo en el tamizaje fueron confirmados en su serología, por punción venosa, por ELISA (24, 31, 14) e IFI (7). Los estudios parasitológicos incluyeron xenodiagnóstico y parasitemia directa. Además se realizaron determinaciones basales de hemograma, aspartato amino transferasa (AST), alanino-amino transferasa (ALT) y bilirrubina total, directa e indirecta, para controlar la posible aparición de efectos colaterales durante el tratamiento así como también se realizó un examen clínico de control a todos los niños.

Parasitología

- a) Parasitemia directa: el método descrito por Freilij et al. (1983) y modificado por Arias y Ferro (1988) fue utilizado para detectar los parásitos en sangre (11, 3). Capilares de hematocrito fueron llenados con sangre total de los pacientes y centrifugados a 3.000 rpm, durante 40 seg. Luego, la región de glóbulos blancos fue examinada microscópicamente en busca de parásitos.
- b) Xenodiagnóstico: Cerca de cinco a siete ninfas de *Triatoma infestans* de tercer estadio, criadas en laboratorio y no alimentadas por 15 días, fueron aplicadas en los antebrazos o los muslos de los niños por aproximadamente 10-15 min. Las heces de los triatominos fueron examinadas microscópicamente a los 15, 30 y 45 días después de la aplicación del xenodiagnóstico en la búsqueda de tripomastigotes metacíclicos (22).

Serología

- a) ELISA: Se realizó con un kit desarrollado y producido en el Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS), teniendo en cuenta las recomendaciones de la Pan American Health Organization (PAHO) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS). El valor límite entre los resultados negativos y positivos fue definido por medio del *cutt off*, determinado previamente a partir de muestras de suero de pacientes negativos, para un nivel de confianza del 95%. La presencia o ausencia

de anticuerpos anti-*T. cruzi* se determinó relacionando la absorbancia de la muestra respecto al valor del *cut off*. El cálculo del título de corte fue igual al valor del control negativo promedio más 0,200 de DO (14, 24, 31). Los antígenos de epimastigotes de *T. cruzi*, cepa Y, fueron fijados a microplacas, y luego los sitios inespecíficos fueron bloqueados con leche descremada al 5% en PBS. Las placas fueron incubadas con los sueros diluïdos 1/50 en PBS a temperatura ambiente por 30 min y luego lavadas 2 veces con PBS. Se agregó un conjugado de cabra anti-IgG humano marcado con peroxidasa que viene incluido en el kit del IICS utilizado, y luego las placas fueron incubadas por 30 min a temperatura ambiente. Se realizaron 4 lavados con PBS, agregándose luego el sustrato por 15 min, se detuvo la reacción y se leyeron las absorbancias individuales con un lector de ELISA (Multiskan MS).

- b) Inmunofluorescencia indirecta: se realizó con epimastigotes enteros de la cepa Y como lo describió previamente Camargo (7).
- c) SDS-PAGE: Parásitos de *T. cruzi* fueron recogidos y lavados tres veces con solución salina, centrifugados y lisados con 0,5 ml de buffer de la muestra conteniendo 1% de sodium dodecyl sulfato, 1% de 2-mercaptoetanol, 10 mM de Tris, pH 6.8 y 20% de glicerol. Después el lisado fue centrifugado y el sobrenadante hervido por 3 min (13). Este lisado fue sometido a electroforesis en geles de acrilamida al 12,5% usando el sistema de buffer de Laemmli (15).
- d) Western-blot: Los polipéptidos separados electroforéticamente fueron transferidos a membranas de nitrocelulosa siguiendo el método previamente descrito (28). Después de bloquear los sitios no reactivos con leche descremada al 5%, tris-buffered saline (TBS), la membrana fue cortada en tiras y éstas tratadas con los sueros diluïdos 1:50 en TBS conteniendo leche descremada al 3%. Las tiras fueron luego lavadas con TBS e incubadas con suero de conejo anti-IgG humano conjugado con peroxidasa (Dakopatts, Glostrup, Denmark). Posteriormente las tiras se lavaron con tween-20 en TBS y se revelaron por la adición del sustrato diaminobenzidina y peróxido de hidrógeno (Serva, West Germany). La reacción fue detenida con agua destilada. El WB fue utilizado como un método serológico confirmatorio, en el estudio basal y en el post-tratamiento. El criterio para definir la positividad de las muestras por WB se basó en la reactividad de bandas antigénicas reconocidas más frecuentemente en las muestras de suero ensayadas (27, 21), como dos o tres bandas observadas en la región entre 69, 72 y 75 kd para anticuerpos del tipo IgG. Siempre se observa este patrón común en las muestras con infección presente, las cuales se encuentran completamente ausentes en los controles sanos y en los pacientes con leishmaniasis (29).

Electrocardiograma (ECG)

Se realizó con el objeto de evaluar la morbilidad cardíaca debida a la infección por *T. cruzi* en la población de áreas endémicas y con edad entre 6

y 12 años. Las evaluaciones se realizaron con el mismo esquema de las otras determinaciones realizadas, es decir un estudio basal, a los 6, 12, 18 y 24 meses de la finalización del tratamiento. Los electrocardiogramas se realizaron con un monitor Fukuda ME 51-D Cardisuny a una velocidad de 25 mm/s.

Tratamiento

Se administró benznidazol en tabletas de 100 mg (Radanil, Roche, Argentina) en una dosis de 5-7 mg/kg de peso en dos tomas diarias por 60 días (10) bajo supervisión médica. A los 20 días del tratamiento se realizaron las evaluaciones bioquímicas anteriormente mencionadas y el hemograma a fin de verificar la aparición de efectos colaterales. Todos los estudios serológicos y parasitológicos, excepto las determinaciones bioquímicas y el hemograma, se repitieron a los 6, 12, 18 y 24 meses de la finalización del tratamiento.

Control vectorial

Durante la realización del estudio, la posibilidad de reinfección en los niños tratados fue controlada por el rociado residual con piretroides, a cargo del SENEPA, y por la colocación de calendarios en paredes a fin de detectar la aparición de triatominos en las viviendas tratadas.

Estadística

Para el análisis estadístico de significancia ($p < 0.05$) se tomaron las DO del test de ELISA considerando las etapas del estudio basal, a los 1 y 2 años de finalización del tratamiento, pareando los resultados y calculando mediante la prueba de Wilcoxon para muestras no-paramétricas. En la etapa del segundo año, solo se ubicaron 14 niños de los primeros 20, debido a la migración de seis de ellos. Se compararon las pruebas parasitológicas, y para las pruebas serológicas se seleccionaron 12 niños de los 14, debido a que tenían datos completos en el basal, al año y a los dos años de seguimiento.

RESULTADOS

Serología y parasitología

En el estudio basal, el 15% (3/20) de las muestras resultaron con parasitemia directa positiva, y el 55% (11/20) tuvo xenodiagnóstico positivo (Tabla 1). Los resultados parasitológicos a los 12 y 24 meses de finalización del tratamiento fueron negativos en todas las muestras. Las evaluaciones sobre infestación fueron negativas.

Tabla 1. Estudios parasitológicos de niños antes del tratamiento y a los 12 y 24 meses de seguimiento

Etapa del estudio	Basal (n=20)		12 meses (n=18)		24 meses (n=14)	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Parasitemia Directa	3 (15%)	17 (85%)	0 (0%)	18 (100%)	0 (0%)	14 (100%)
Xenodiagnostico	11 (55%)	9 (45%)	0 (0%)	18 (100%)	0 (0%)	14 (100%)

Los resultados parasitológicos se expresan en porcentaje de positivos y negativos. A los 12 y 24 meses post-tratamiento, resultaron negativos el 100% de las muestras, las cuales fueron variando en cantidad con los niños que pudieron ser ubicados en cada etapa (n=cantidad de niños estudiados en cada etapa).

Las evaluaciones serológicas incluyeron IFI, ELISA y WB. Con respecto a la serología, el 100% de las muestras resultaron positivas para *T. cruzi*, tanto por ELISA como por IFI y WB, antes y después del tratamiento. Sólo uno de los pacientes que tuvo parasitemia directa positiva en el estudio basal presentó IgM positiva en la serología de base. Cabe señalar que los títulos de IFI en el estudio basal fueron en su mayoría de 1/320 a superiores a 1/640, y a lo largo del control después del tratamiento estos títulos decrecieron oscilando los valores entre 1/20 y 1/160. En la determinación del WB no se presentaron variaciones en las bandas antigénicas características para *T. cruzi*, después del tratamiento.

Al comparar la densidad óptica del test de ELISA, pareando las muestras del estudio basal, al año y a los 2 años, en 12 niños, se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los valores del basal y el primer año ($p < 0.0047$) y entre el basal y segundo año ($p < 0.001$) (Figura 1). En las determinaciones hematológicas y bioquímicas, en la etapa basal y a los 20 días no se observaron variaciones (datos no presentados).

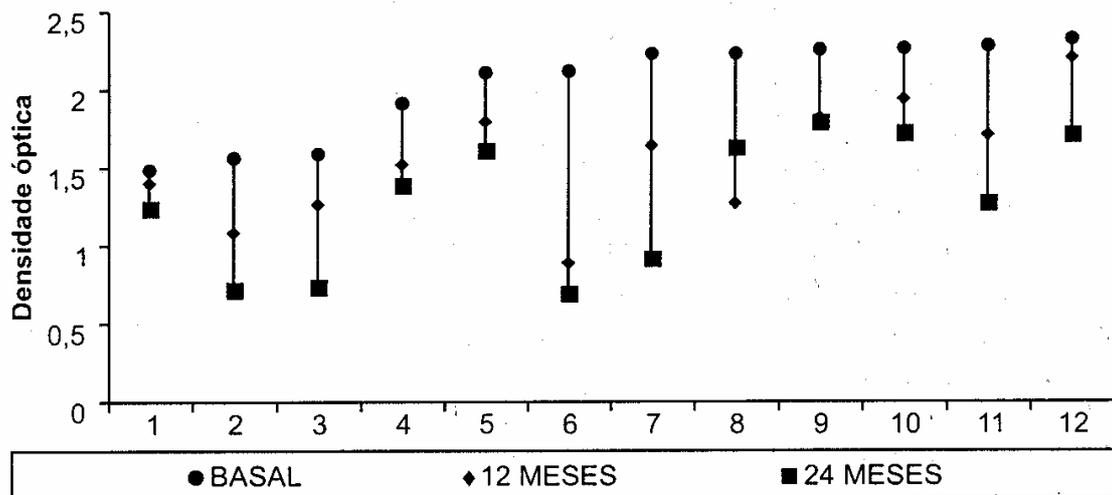


Figura 1. Densidades ópticas del-test de ELISA en 12 muestras basales de niños chagásicos y evaluados a los 12 y 24 meses post-tratamiento

Electrocardiograma

Los estudios de ECG en los 12 niños se realizaron en todas las etapas mencionadas. En el estudio basal se encontraron 3 ECGs con morfología o patrón atípico de bloqueo de rama derecha, parecidos en la forma pero no en la duración del bloqueo. Esas variantes pueden ser consideradas normales, pero, debido a la positividad de éstos niños, deben ser seguidos por más tiempo para confirmar si persisten estas alteraciones; los demás ECGs se encontraron normales. Al repetir el estudio a los 1 y 2 años no se encontraron variaciones en comparación con los resultados basales, tanto de los que se encontraban inicialmente alterados como de los que no presentaron estas variaciones.

Reacciones adversas

No se evidenciaron efectos colaterales en ninguno de los niños, durante el tratamiento, donde la evaluación clínica fue llevada de cerca, durante los 60 días que duró el tratamiento. Un niño presentó reacciones dérmicas (prurito) que retrocedió al interrumpir el tratamiento, el cual fue reiniciado con la misma dosis, hasta la finalización.

DISCUSION

Los estudios realizados en otros países mostraron una marcada negativización serológica a partir de los 3 años post-tratamiento (1).

En el ensayo clínico realizado por Sosa Estani et al. (1998), el cual fue aleatorio y a doble ciego, se evaluaron resultados serológicos y el xenodiagnóstico al final del tratamiento con benznidazol en niños que viven en zonas rurales al noroeste de Argentina. Estos resultados fueron pareados con los obtenidos de otro grupo de niños que recibió placebo. En el seguimiento de 48 meses, los niños tratados mostraron una disminución significativa en las medias geométricas de los títulos de anticuerpos contra *T. cruzi* medidas por hemaglutinación indirecta, inmunofluorescencia indirecta y ELISA. Después de cuatro años de seguimiento, 62% de los niños tratados con benznidazol fueron seronegativos para *T. cruzi* cuando testados por ELISA utilizando una molécula recombinante definida como antígeno, obtenida de proteína flagelar de *T. cruzi* (F29). En el mismo estudio, el xenodiagnóstico realizado después de 48 meses de seguimiento fue positivo en el 4,7% de los niños tratados con benznidazol y en el 51,2% de los niños tratados con placebo. Estos resultados muestran la eficacia del benznidazol contra *T. cruzi* en niños seropositivos de 6 a 12 años de edad (26).

En el estudio realizado en Brasil por Andrade et al. (1996) la eficacia se evaluó por la reducción de títulos de anticuerpos séricos, encontrando que el

58% de aquellos niños que recibieron benzonidazol y el 5% de los que recibieron placebo mostraron serología negativa por ELISA quimioluminiscente. La eficacia del tratamiento con benzonidazol fué de 55,8%.

Nuestros resultados son alentadores, pues mostraron porcentajes elevados de positividad parasitológica en los estudios basales y una negativización total a los 2 años post-tratamiento; además, se observó la caída significativa de las densidades ópticas del test de ELISA en el 100% de las 12 muestras, al comparar el estudio basal hasta los 2 años de seguimiento. Un factor limitante se debió a la migración de algunos niños, lo que impidió el estudio comparativo del total de las 20 muestras originales.

Con respecto a las parasitemias positivas encontradas en este estudio en la etapa basal, podríamos mencionar que, aunque no siempre se tiene presente como concepto básico, la parasitemia en el paciente chagásico es habitualmente baja. A pesar de ello, existe un número de pacientes que sistemáticamente presenta parasitemia ostensible (9, 23). Este grupo de pacientes, que guarda relación con la edad, incluye frecuentemente a niños pequeños y adultos mayores de 50 años. Otro concepto que se considera básico es que el infectado chagásico crónico no siempre tiene parásitos circulantes en cada ml de sangre 24 h al día y durante todo el año. Así las posibilidades de obtener un examen positivo aumentan no solo con el volumen de sangre examinado, sino también con el número de veces en que se proceda a hacer la investigación correspondiente (16). Debe destacarse la posibilidad de que los tres niños que presentaron parasitemia directa en el estudio basal (15%) se encontrasen en la fase aguda, aunque, en la serología por IFI, la fracción IgM resultó negativa en todos los niños estudiados, con excepción de uno de ellos, con títulos bajos antes del tratamiento.

La negativización de los métodos parasitológicos podría ser el resultado de una disminución de la cantidad de parásitos en circulación por debajo de los niveles de sensibilidad de los métodos utilizados o de una eliminación de los parásitos circulantes, siendo ambas situaciones atribuidas al tratamiento con benznidazol.

En el caso de persistencia de reacciones serológicas positivas, aún con exámenes parasitológicos negativos, se debe presumir que el tratamiento ha sido supresivo, en seguimientos después de 5 a 10 años. Cuando existe una disminución progresiva de los títulos verificada en varias mediciones en el curso del tiempo, hay posibilidad de que la medicación haya sido eficiente (16).

Pero, debido a la positividad de los métodos serológicos utilizados, no se puede hablar aún de cura, ya que esta seropositividad puede indicar presencia del parásito o una memoria inmunológica remanente en caso de que haya sido eliminado el *T. cruzi* circulante (25).

Generalmente la negativización serológica no acompaña a la disminución de la parasitemia sino que demora más tiempo (25). Aún frente a la posibilidad de la eliminación de los parásitos circulantes, se debe tener en cuenta la persistencia del parásito a nivel tisular, situación que dificulta la acción tripanocida de los

medicamentos (25). En investigaciones realizadas experimentalmente por Sonia Andrade et al. (1991), fué demostrada la persistencia de antígenos del parásito secuestrados en células presentadoras de antígenos (células dendríticas en el bazo de animales infectados y tratados) (2). Estos hallazgos sugieren que antígenos secuestrados pueden permitir respuestas inmunes, por muchos años, a pesar que el parásito vivo ya no se encuentre presente (16).

Las alteraciones descritas en los ECGs de base probablemente pueden ser hallazgos compatibles con la edad y no tener ninguna asociación con la infección por *T. cruzi*. Podríamos mencionar que aquellos 3 casos encontrados con padrón atípico de bloqueo de rama derecha pueden ser considerados como variantes normales, pero, debido a la positividad de estos niños, deben ser seguidos por más tiempo para confirmar si persisten estas alteraciones. Este tratamiento ofrece la oportunidad de tratar y obtener cura en las primeras décadas de la vida reduciendo el riesgo del desarrollo de las lesiones viscerales de la fase crónica de la enfermedad.

Finalmente, se debe resaltar la importancia de los resultados de los estudios en ésta área, ya que pueden modificar el criterio actual de instauración del tratamiento, lo que, sin lugar a dudas, impactará positivamente la salud pública en zonas endémicas en dos niveles: a nivel individual, eliminando al parásito y disminuyendo la probabilidad de desarrollar la enfermedad de Chagas, y a nivel comunitario, reduciendo la oferta parasitaria y dificultando la cadena de transmisión (25).

AGRADECIMIENTO

A Elvio Benítez, Victoria Bogado, Blasía Cabral, Jazmina Rivarola y a las enfermeras del Centro de Salud de Yaguarón por su colaboración en el desarrollo de este trabajo.

ABSTRACT

Evaluation at 24th month post-treatment with benznidazole in *Trypanosoma cruzi* infected children between 6 to 12 years old

This study evaluated prospectively the therapeutic effect of benznidazole at 6, 12, 18 and 24 months post-treatment in 20 *Trypanosoma cruzi*-infected children (age range: 6-12 years old). Benznidazole was given at a dosage of 5-7 mg/Kg/ of body weight, daily, for 60 days. All 20 children were studied with xenodiagnosis, direct parasitaemia and confirmatory serological tests (ELISA, IFA and Western-blot). To monitor possible side effects, blood cell counts, transaminases: AST, ALT, total, direct and indirect bilirubin were determined at days 0 and 20 after starting treatment. No variation was observed in the haematological and biochemical values. The baseline positive parasitological results were 15% (3/20) for direct parasitaemia, and 55% (11/20) for xenodiagnosis. A statistically significant difference of the optical densities of the ELISA test was observed, between the baseline and the first year (p

< 0.0047), and, baseline and the second year ($p < 0.001$). Our results are promising, since 100% of the cases showed no circulating parasites by xenodiagnosis, after 24 months post benznidazole-treatment. Moreover, a falling of the optical densities by ELISA was observed in 100% of the samples followed up.

KEYWORDS: *Trypanosoma cruzi*. Benznidazole. Chagas disease. Specific treatment. Early chronic infection.

REFERENCIAS

1. Andrade ALSS, Zicker F, Oliveira RM, Silva SA, Luquetti AO, Travassos LR, Almeida IC, Andrade SS, Andrade JG, Martelli CMT. Randomized trial of efficacy of benznidazol in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *Lancet* 348: 1.407-1.413, 1996.
2. Andrade SG, Freitas L, Peyrol S, Pimentel A, Sadigursky M. Experimental chemotherapy of *Trypanosoma cruzi* infection: persistence of parasite antigens and positive serology in parasitologically cured mice. *Bull. World Health Org* 69: 191-197, 1991.
3. Arias AR. and Ferro E. Quantification of parasitemia by direct micromethod in *T. cruzi* infection. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 82: 248, 1988.
4. Arias AR. Chagas disease in Paraguay. PAHO/HCP/HCT/72/1996.
5. Canese A. Casos agudos de enfermedad de Chagas diagnosticadas en los últimos dos años en la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina. *Rev Méd Paraguay* 6: 28, 1964.
6. Canese A., Canese J. Encuesta sobre vectores de la enfermedad de Chagas en varias regiones del Paraguay. *Rev Parag Microbiol* 11: 35, 1976.
7. Camargo M. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved cultured forms of *T. cruzi* in a slide test. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 8: 227-269, 1966.
8. Cañado JR. Tratamiento específico da doença de Chagas crónica pelo Benznidazol. *Rev Patol Trop* 27: 21-23, 1998.
9. Castro CN. Estudio longitudinal da parasitemia na doença de Chagas e sua correlação com a evolução clínica. *Rev Patol Trop* 24: 323, 1995
10. Ferreira HO. Tratamiento de la forma indeterminada de la enfermedad de Chagas con Nifurtimox y Benznidazol. *Rev Soc Bras Med Trop* 23: 209-211, 1990.
11. Freilij H, Muller L, González Cappa AS. Direct diagnostic micromethod for acute and congenital Chagas disease. *J Clin Microbiol* 18: 277-290, 1983.
12. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. IICS. Final report: A new approach for a seroepidemiological, clinical and educational program on Chagas' disease in Paraguay. Grant NO.PY-089 Document. JM Rosner. Department of Tropical Medicine. 1967. 36 p.
13. Israelsky D, Sadler R, Araujo F. Antibody response and antigen recognition in human infection with *T. cruzi*. *Am J Trop Med Hyg* 39: 445-455, 1988.
14. Kaspar P, Velázquez G, Monzón M, Meza T, Vera M, Pozzoli L, Guillén I, Merlo R, Samudio M, Rodríguez A. Evaluation on a new anti- *T. cruzi* antibody Elisa kit. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 83:125, 1988.
15. Laemli U. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685, 1970.
16. Luquetti A, Rassi A. Tratamiento Específico de la Enfermedad de Chagas en la Fase Crónica: Criterios de Cura Convencionales: Xenodiagnóstico, Hemocultivo y Serología. *Rev Patol Trop* 27 (supl): 37-50, 1998.
17. Moya PR, Paolasso RD, Blanco S, Lapasset M, Sanmartino C, Baso B, Moretti E, Cura D. Tratamiento de la Enfermedad de Chagas con Nifurtimox durante los primeros meses de vida. *Medicina (Buenos Aires)* 45: 553-558, 1985.

18. Organización Panamericana de la Salud. *Taller Internacional sobre el control de la enfermedad de Chagas*. Montevideo-Uruguay, 1991.
19. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. *Tratamiento Etiológico de la Enfermedad de Chagas. Conclusiones de una Consulta Técnica*. Rio de Janeiro, Brasil, 1998.
20. Rassi A, Luquetti AO. Therapy of Chagas Disease. In: Wendel S, Brener Z, Camargo ME, Rassi A.(Ed.) *Chagas Disease (American Trypanosomiasis), its impact on Transfusion and Clinical Medicine*, Sao Paulo: Soc Bras Hematol e Hemot, 1992. p 237-247.
21. Reiche EMV, Cavazzana MJr, Okamura H, Tagata EC, Itow Jankevicius S, Jankevicius JV. Evaluation of the western blot in the confirmatory serologic diagnosis of Chagas disease. *Am J Trop Med Hyg* 59: 750-756, 1998.
22. Schenone H, Rojas Mercado A, Castillo D. Comparative study of sensitivity and mortality of *Triatoma infestans* nymphs III and IV used in the xenodiagnosis of chronic chagasic patients. *Bol Chil Parasitol* 55: 14-27, 2000.
23. Silva IG, Silva HHG, Luquetti AO, Rezende JM, Positividade do xenodiagnóstico de acordo com a faixa etária o sexo e a forma clínica da doença de Chagas. *Rev Patol Trop* 24: 193-197,1995.
24. Soares Guimaraes MC, Suggs MT, Kagan IG. Chagas disease serology: specifications and evaluation methods for immunological reagents. Washington D.C.PAHO,:153 p (PNSP/84-08), 1984.
25. Sosa Estani S. Tratamiento específico de la infección por *Trypanosoma cruzi*. En: Madoery R., Madocry C, Cámara M, Sosa Estani S, editores. Actualizaciones de la enfermedad de Chagas. Simposio Satélite ,Córdoba. 279-287, 1992.
26. Sosa Estani S, Segura EL, Porcel BM, Ruíz AM, Velázquez E, Yampotis C. Chemotherapy with benznidazole in children in undetermined phase of Chagas Disease. *Am J Trop Med Hyg* 59: 526-529,1998.
27. Teixeira MGM, Borges Pereira J, Netizert E, Souza MLNX, Peralta JM. Development and evaluation of an enzyme linked immunotransfer blot technique for serodiagnosis of Chagas disease. *Trop Med Parasitol* 45: 308-312, 1994.
28. Towbin H, Staehelin T and Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets. Procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 4350-4354, 1979.
29. Unequivocal diagnosis of Chagas disease by serum tests. Muniagurria L, Maldonado M, Schinini A, Rosner J. Proceedings of research on Chagas disease and other infectious diseases. EFACIM. JICA. IICS. Annual Report 14: 85-94.1990.
30. World Health Organization (WHO). *Report of Chagas disease. Report of a WHO Expert Committee Series* 811; Geneva, 1991.
31. WHO Expert Committee on biological standardization. WHO Technical Report Series 822, Forty-second Report, 1992. 86 p.