

Population: 7,000,000  
462,000 square meters

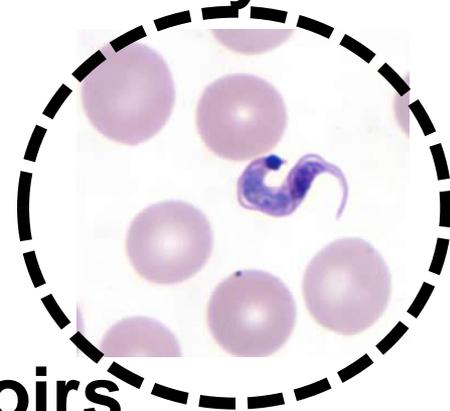
Prof. Dr. GRACIELA RUSSOMANDO, PhD



## Chagas Disease Transmission

---

- Protozoan parasite *Trypanosoma cruzi* only found in the Americas
- Vector-borne zoonosis
- Domicilar and wild mammals reservoirs



# These countries have contributed in creating substantial improvements in:

4. The introduction of strategies for the detection, diagnosis and treatment of congenital cases,

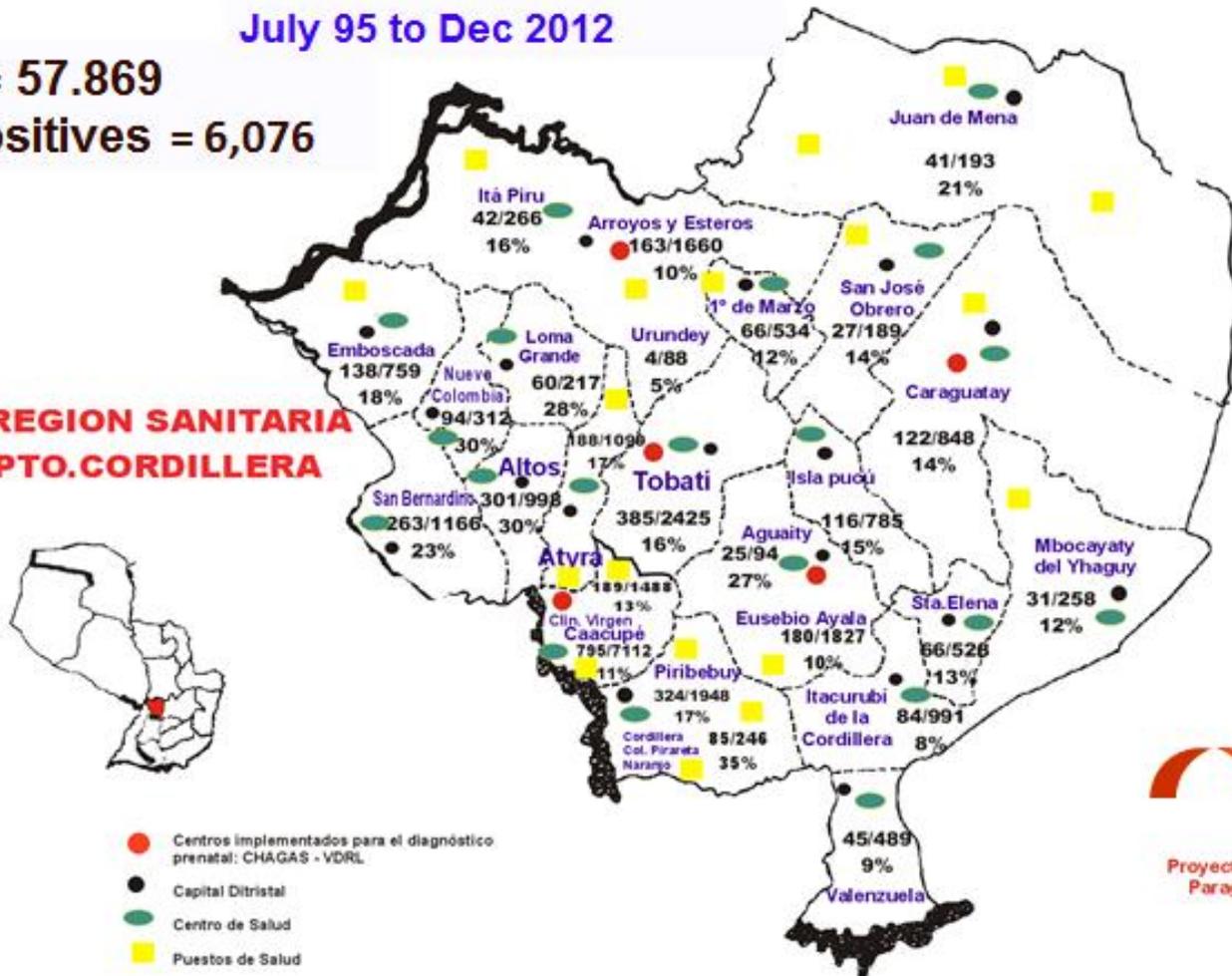
## SEROPREVALENCE OF ANTI- *T. cruzi* ANTIBODIES IN PREGNANT WOMEN

July 95 to Dec 2012

N= 57.869

Positives = 6,076

III REGION SANITARIA  
DPTO. CORDILLERA



CONTROL PRENATAL Y CHAGAS CONGENITO

MUESTRAS ANALIZADAS DE INFANTES DE MADRES SEROPOSITIVAS

DESDE 1998 HASTA 2012

Dpto. Biología Molecular y Genética - IICS-UNA

IX REGION SANITARIA - PARAGUARI

AÑO	1998-2000		2001		2002		2003		2004		2005		2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012	
EDAD	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS
0-6 m	14	0	9	0	0	0	4	1	0	0	11	1	1	0	3	0	11	0	1	0	4	0	5	0	0	0
6m	44	4	20	0	8	0	10	0	3	0	2	0	2	0	1	0	7	1	0	0	4	0	1	0	0	0
7m	43	4	18	0	4	0	8	0	2	0	2	0	1	0	4	0	7	0	1	0	4	0	1	0	0	0
8m	30	2	9	0	2	0	4	0	1	0	1	0	2	0	4	0	3	0	0	0	1	0	2	0	0	0
9m	26	2	7	1	3	0	3	0	1	0	4	0	1	0	3	0	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0
10m	15	0	9	1	1	0	4	1	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0
11m	21	3	3	0	1	0	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0	0	0
12m a 18m	144	10	32	1	8	0	16	0	3	0	18	1	1	0	9	1	16	0	2	0	7	1	4	0	0	0
19m a 24m	104	9	39	2	4	1	15	2	1	0	3	0	0	0	2	0	4	0	0	0	4	0	5	0	0	0
2 años	178	10	70	6	7	0	35	1	2	0	29	0	2	0	12	1	15	0	0	0	12	1	6	0	0	0
3 años	175	5	61	6	3	0	28	0	1	0	29	0	3	1	3	0	16	0	1	0	11	0	11	0	2	0
4 años	146	13	42	1	5	0	29	0	2	1	24	0	2	0	4	0	10	0	1	0	7	0	11	0	1	0
5 años	38	4	15	1	4	0	20	1	0	0	19	0	1	0	6	0	11	2	0	0	12	0	1	0	1	0
6 años	19	3	6	1	3	0	19	2	0	0	24	1	9	0	4	1	4	1	0	0	3	0	7	2	1	0
>6 años															11		27	0	7	1	46	7	6	1	4	1
Rescate													813	31												
TOTAL	997	69	340	20	53	1	199	8	17	1	168	3	838	32	66	3	137	4	13	1	117	9	64	3	9	1
FREC.		7%		6%		2%		4%		6%		2%		4%		4,5%		3%		8%		8%		5%		



# Chagas Disease

## Congenital Chagas disease: diagnosis

Editorial

For reprint orders, please contact [reprints@expert-reviews.com](mailto:reprints@expert-reviews.com)

### Shed acute-phase antigen protein in an ELISA system for unequivocal diagnosis of congenital Chagas disease

*Expert Rev. Mol. Diagn.* 10(6): 705–707 (2010)  
*Expert Rev. Mol. Diagn.* 10(6), 705–707 (2010)



**Graciela Russomando**

*\*Author for correspondence:*  
Molecular Biology and Genetics Department,  
Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud,  
Universidad Nacional de Asunción, Río de la Plata  
y Lagerenza, Asunción, Paraguay  
[grusso@rieder.net.py](mailto:grusso@rieder.net.py)



**Zunilda Sánchez**

Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud,  
Universidad Nacional de Asunción, Río de la Plata  
y Lagerenza, Asunción, Paraguay



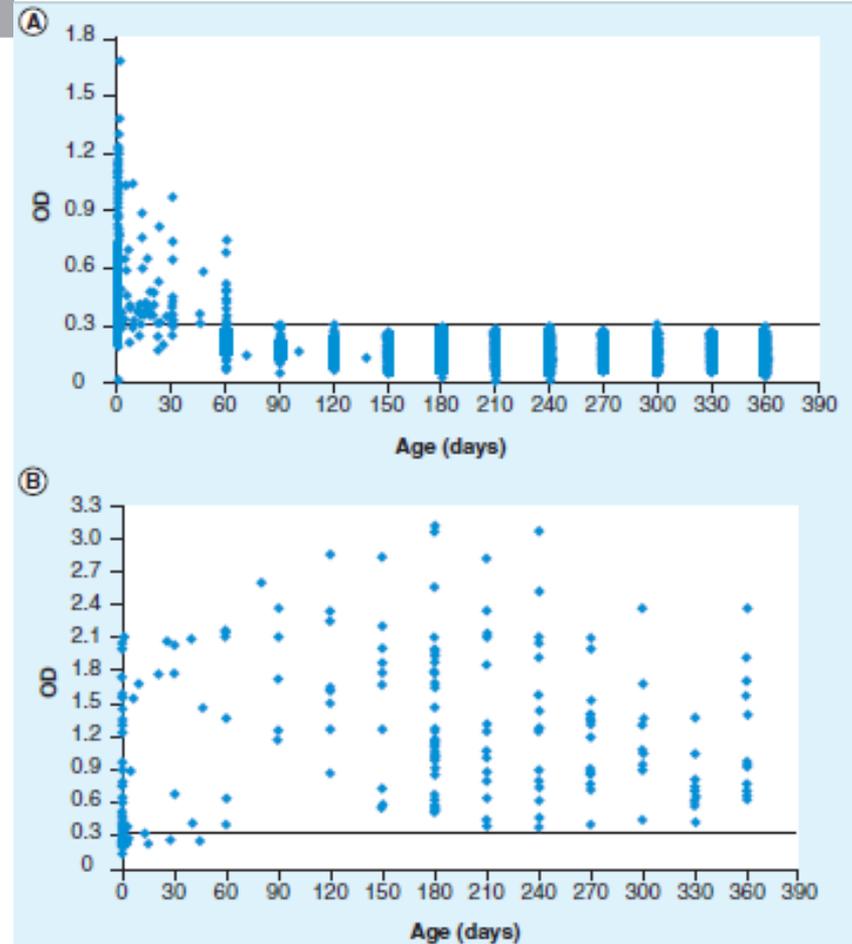
**Graciela Meza**

Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud,  
Universidad Nacional de Asunción, Río de la Plata  
y Lagerenza, Asunción, Paraguay



**Yvalena de Guillen**

Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud,  
Universidad Nacional de Asunción, Río de la Plata  
y Lagerenza, Asunción, Paraguay



**Figure 1. Results of a large-scale screening of serum samples from infants born to *Trypanosoma cruzi*-infected mothers. (A) Anti-shed acute-phase antigen IgG antibodies of 2074 noninfected infants. (B) Anti-shed acute-phase antigen IgG antibodies of 209 congenitally *T. cruzi*-infected infants. OD: Optical density.**



# GABRIEL network

*Clinical Epidemiology and Global Health (2012),  
<http://doi:10.1016/j.cegh.2012.11.002>*

- GABRIEL es una red de laboratorios de investigación de países de bajo ingreso:
  - profesionales de la salud e investigación.
  - instituciones académicas
  - organizaciones no gubernamentales
- Se inició en Enero 2008 por la Fundación Mérioux
- Coordinado por el Departamento Científico de la Fundación Mérioux y el Comité Científico de GABRIEL.



**Misión de la Red GABRIEL:  
fortalecer las capacidades de investigación de los  
laboratorios locales de países en vias de desarrollo**





# Objetivos de la Red GABRIEL

- ✓ Desarrollar y evaluar **nuevos tests de laboratorio.**
- ✓ Prover **entrenamiento** y soporte.
- ✓ **Transferir tecnologías** a través del entrenamiento
- ✓ Conducir **estudios colaborativos**







# Miembros de GABRIEL en 2014





# ASUNCION-PARAGUAY

## Pneumonia Multicentric Pilot Study

des racines pour la vie



roots for life



# Pilot Multicentric Case Control on Pneumonia

## *ASUNCION - PARAGUAY*

### Instituciones y colaboradores del proyecto

#### **Investigador Coordinador**

**Dra. Graciela Russomando**, Jefe Dpto. de Biología Molecular y Genética- Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud- Universidad Nacional de Asunción.

Email: [grusso@rieder.net.py](mailto:grusso@rieder.net.py)

Tel: 595 21 424520 Fax: 595 21 480185

#### **Investigador Coordinador Clínico**

**Dra. Wilma Basualdo**, Médico Pediatra-Infectólogo. Jefe del Dpto. de Epidemiología - Hospital General Pediátrico Niños de Acosta Ñu (HGP Niños Acosta Ñu)- Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSPyBS)

Email: [wdb@rieder.net.py](mailto:wdb@rieder.net.py), [wilmabasualdo@hotmail.com](mailto:wilmabasualdo@hotmail.com) Tel: 595 971 252748

#### **Co-investigadores de Biología Molecular**

**Lic. Emilio Espínola**, MSc. Biólogo. Area Virología Molecular-Dpto. Biología Molecular y Genética-IICS-UNA

**Dra Rosa Guillen**, PhD. Bioquímica. Area Bacteriología Molecular- Dpto. Biología Molecular y Genética-IICS-UNA

**Sra Graciela Meza**, Técnico de laboratorio. Dpto. Biología Molecular y Genética-IICS-UNA

#### **Co-investigadores Médicos del Hospital General Pediátrico Niños de Acosta Ñu (MSPyBS)**

**Dra Viviana Pavlicich**, Médico Pediatra. Jefe de Servicio de Urgencias.

**Dra Gloria Martínez**, Médico Pediatra. Jefe de Sala.

**Dr Carlos Caballero**, Médico Pediatra. Jefe de Sala y de Terapia Intermedia.

**Dra Amalia Duarte**, Médico Pediatra. Jefe de Terapia Intensiva.

**Dr Hector Castro**, Médico Pediatra-Infectólogo.

**Dra Carolina Aquino**, Bioquímica. Jefe de Laboratorio.

**Lic. Laura Maldonado**, Enfermera. HGP Niños Acosta Ñu-MSPyBS

**Real time PCR is.....**

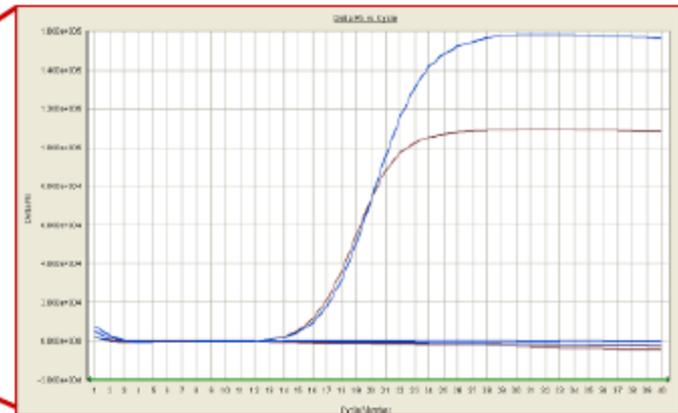
**The ability to monitor or visualize accumulation of PCR products using fluorescence**

- Amplification and detection are combined in one analytical step
- Amplification => thermocycler
- Detection => thermocycler

Amplification



Visualization



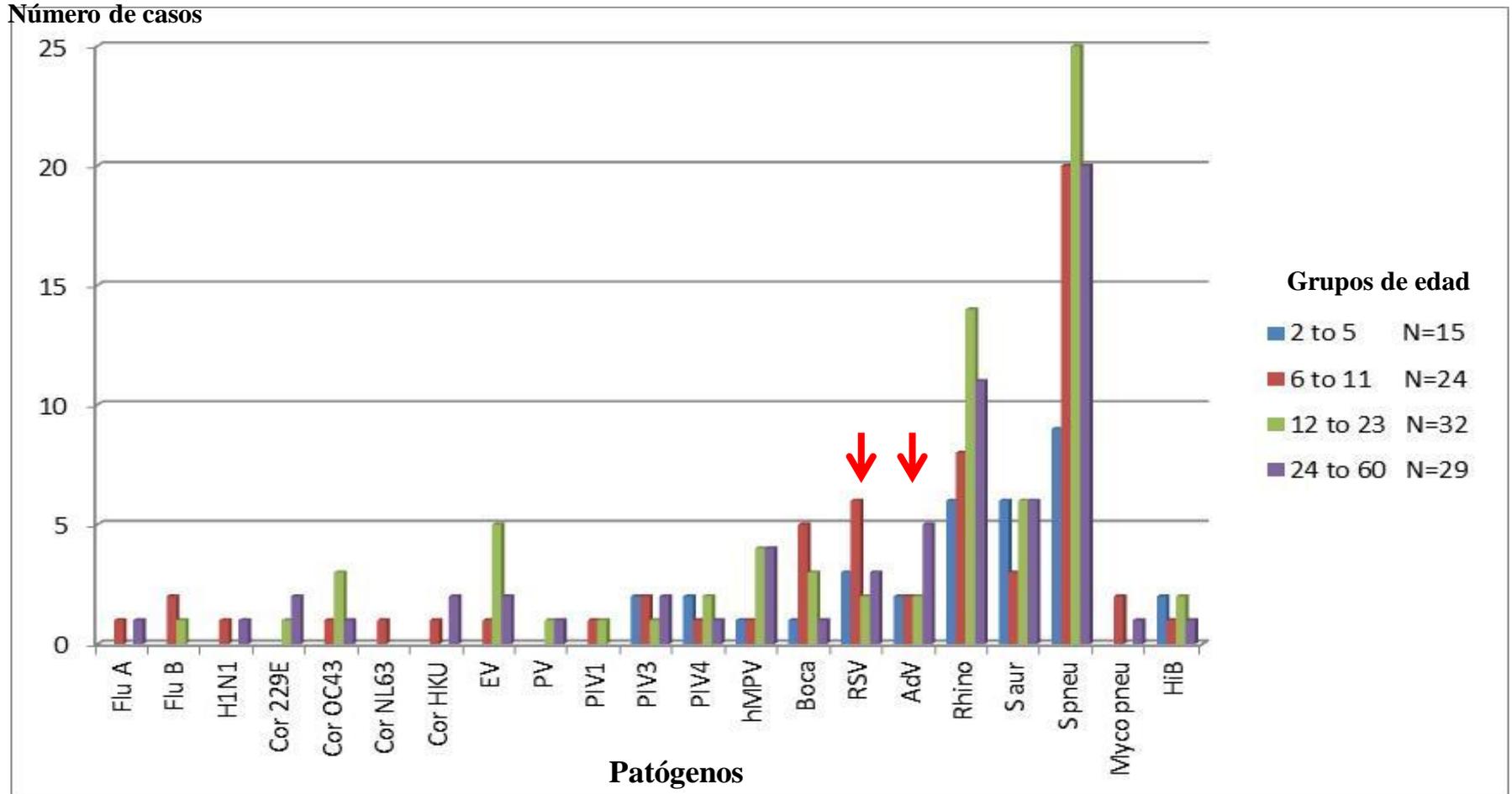
## 6 tube multiplex PCR for **detection** of 25 respiratory pathogens

1. Multiplex: Influenza A, Influenza B, **Rhinovirus (detecting also new subtype C)** and **A(H1N1)swine**
2. Multiplex: Coronavirus NL 63, 229E, OC43, **HKU**
3. Multiplex: Parainfluenza 2, 3, 4, Internal control
4. Multiplex: Parainfluenza 1, Human metapneumovirus A and B, Bocavirus, ***Mycoplasma pneumoniae***
5. Multiplex: Respiratory syncytial viruses A and B, adenovirus, **parechovirus, enterovirus**
6. Multiplex: ***Chlamydia pneumoniae***, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae B*, *Staphylococcus aureus*



# 100 CASOS DE NIÑOS CON NEUMONIA

## IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS DE ACUERDO A LA EDAD

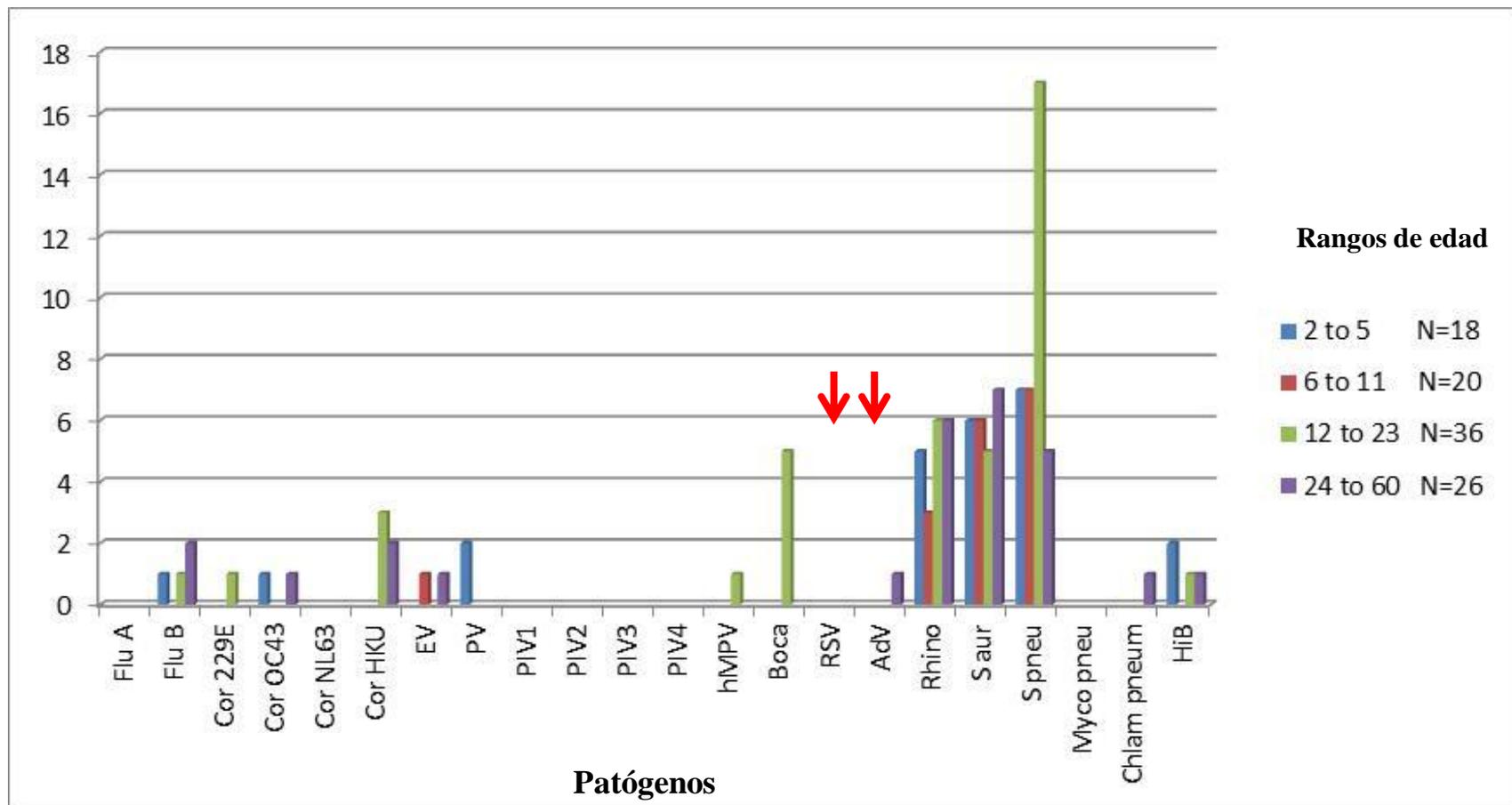


Al menos una bacteria en AN: **81%**      Co-infección bacteria /virus: **69%**  
Al menos un virus en AN: **85%**      Co-infección viral: **26%**

# 100 CONTROLES

## IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS POR RANGO DE EDAD

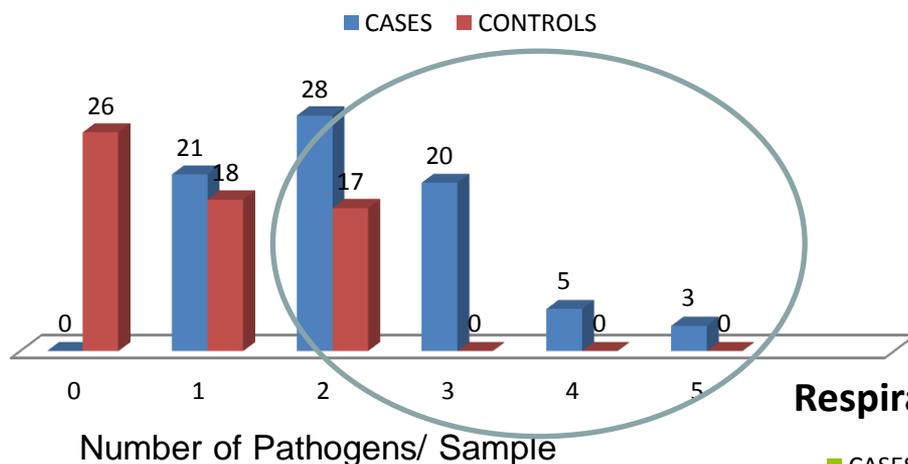
Número de casos



Al menos una bacteria en NS: 52 %    Co-infección bacteria - virus: 23%  
Al menos un virus en NS: 37%        Co-infección viral: 9%

**Pilot Multicentric  
Case Control on Pneumonia  
PARAGUAY**

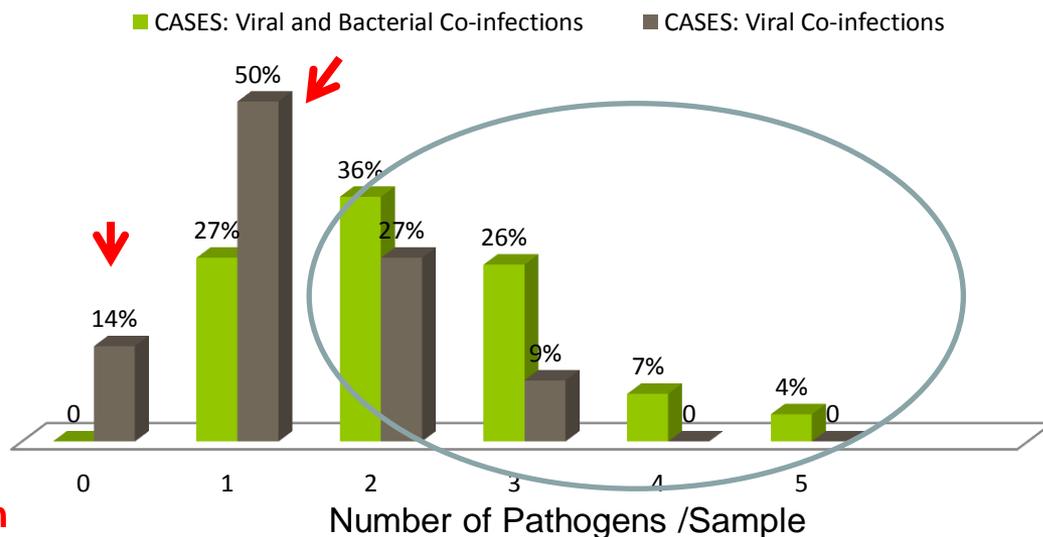
**Respiratory Co-Infections Detected in Cases and Controls by Viral and Bacterial Agents**



**28% (17/61) of the Controls Showed Co-infection with One Pathogen.**

**73% (56/77) of Children with Pneumonia Had One or More Co-infections.**

**Respiratory Co-Infections in 77 Pneumonia Cases**



**Children with Pneumonia:**

- 14% No Viral Pathogen Detected
- 50% Had at Least One Virus
- 36% Had Co-infection with Two or More Viruses
- 73% of Bacterial Colonization were Associated with at Least One Viral Pathogen



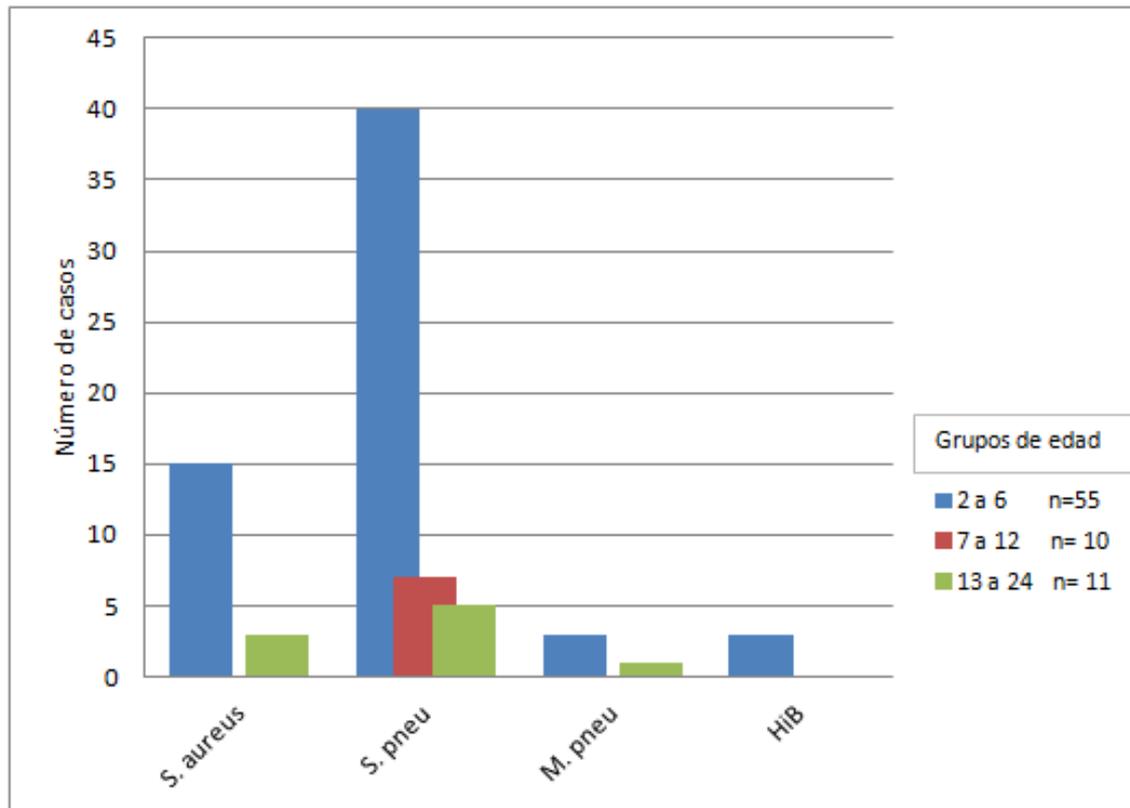
Co-infecciones virales  
Bacterias colonizantes  
Casos con bronquiolitis

# BRONQUIOLITIS



## BACTERIAS COLONIZANTES DETECTADAS EN 76 ASPIRADOS NASOFARÍNGEOS DE NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS HOSPITALIZADOS bronquiolitis (n=53), asma (n=15) e IRA alta (n=8).

(Mayo 2010 a Octubre 2011)



**PATÓGENOS VIRALES DETECTADOS EN 76 ASPIRADOS NASOFARÍNGEOS DE NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS HOSPITALIZADOS**  
**bronquiolitis (n=53), asma (n=15) e IRA alta (n=8).**

**CO-INFECCIONES VIRALES**

(Mayo 2010 a Octubre 2011)

<b>VIRUS</b>	<b>INFECCION VIRAL UNICA</b>	<b>CO-INFECCION</b>	<b>TOTAL</b>	<b>%</b>
<b>Rhinovirus</b>	9	14	23	30.3%
<b>Coronavirus</b> (OC43, NL63, 229E, HKU)	8	10	18	23.7%
<b>Parainfluenza</b> (1- 2- 3- 4)	14	4	18	23.7%
<b>RSV</b>	8	6	14	18.4%
<b>Bocavirus</b>	4	6	10	13.2%
<b>Adenovirus</b>	0	7	7	9.2%
<b>Metapneumovirus</b>	2	2	4	5.3%
<b>Enterovirus</b>	0	3	3	3.9%
<b>Parechovirus</b>	0	0	0	0.0%
<b>Influenza A</b>	0	0	0	0.0%
<b>Influenza B</b>	0	0	0	0.0%
<b>Influenza A sw</b> (H1N1)	0	0	0	0.0%
<b>Muestras Negativas</b>	-	-	4	5.3%



## SEROTIPOS DE *Streptococcus pneumoniae* DETECTADOS POR REAL TIME PCR

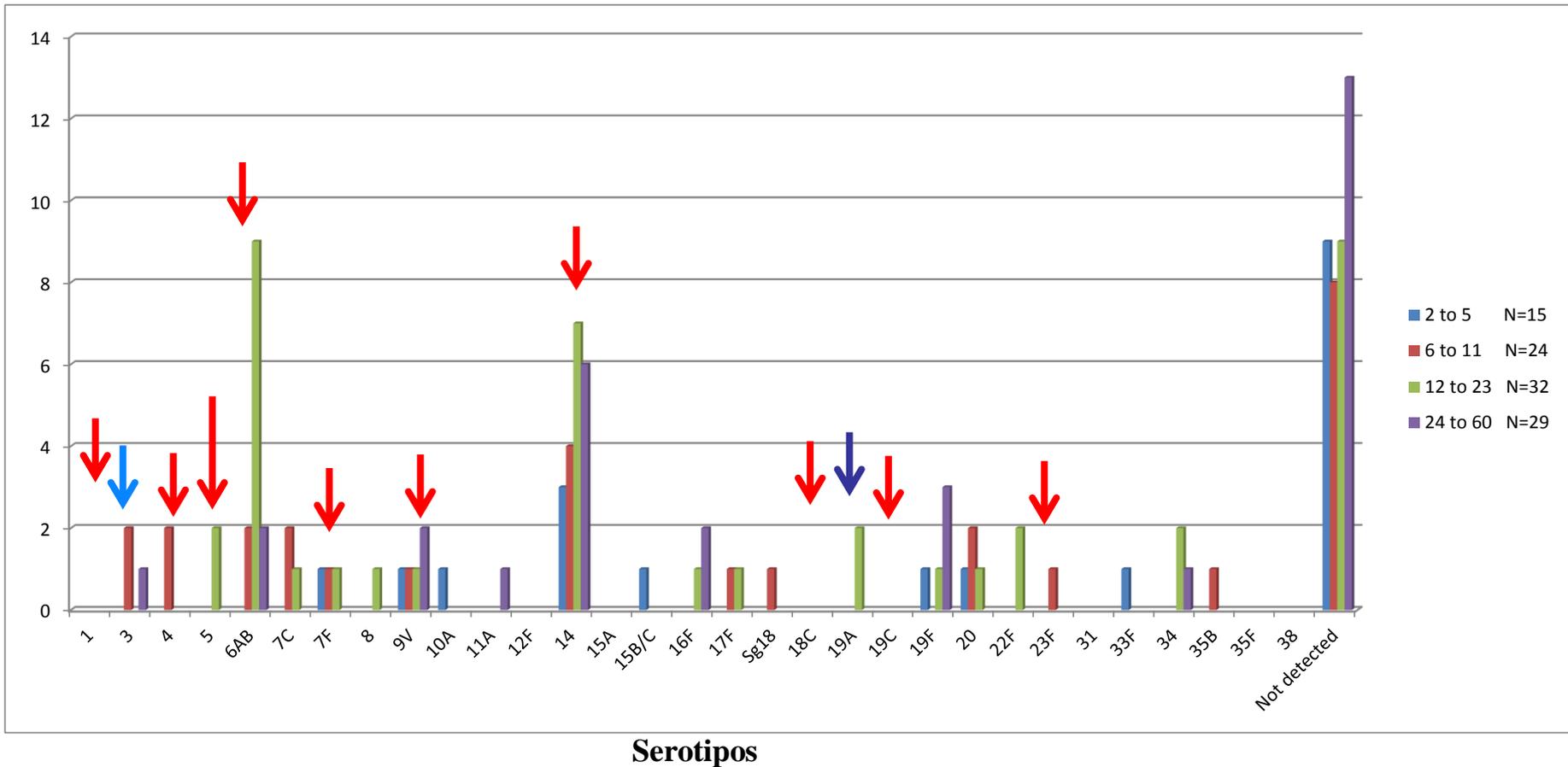
**Tabla 1:** Reacciones múltiples que contienen los 29 pares de cebadores y sondas de genes blanco serotipo-específicos

POOL	SEROTIPO	FLUORÓFORO	POOL	SEROTIPO	FLUORÓFORO
A	19A	Cy5	E	15B/C	Cy5
	22F	HEX		31	HEX
	3	FAM		38	FAM
	6AB	Texas Red		8	Texas Red
B	14	Cy5	F	10A	Cy5
	4	HEX		35F	HEX
	12F	FAM		1	FAM
	9V	Texas Red		34	Texas Red
C	23F	Cy5	G	15A	Cy5
	11A	HEX		17F	HEX
	33F	FAM		20	FAM
	7F	Texas Red		7C	Texas Red
D	16F	Cy5	H	LytA	FAM
	35B	HEX		5	Texas Red
	Sg18	FAM			
	19F	Texas Red			

# 100 CASOS DE NIÑOS CON NEUMONIA

## *S. pneumoniae* SEROTIPOS DETECTADOS POR RANGO DE EDAD

Número de casos



Serotipos PCV10 →  
 Serotipos PCV13 → →

*S. pneumoniae* vacuna introducida en Mayo 2012

# CONTROLES

## FRECUENCIA DE PORTACIÓN DE *Streptococcus pneumoniae* Y SEROTIPOS PREVALENTES ANTES DE LA VACUNA CONJUGADA 10-VALENTE (PCV-10) EN NIÑOS SANOS MENORES DE 5 AÑOS DE EDAD

AÑO	Nº de niños	Nº de casos portadores de Spn	Nº de casos con Spn tipificado
2010	34	23	17
2011	38	24	23
2012	34	6	4
TOTAL	106	53	44

Tabla 2: *S. pneumoniae* (Spn) en niños sanos: total de niños analizados por año, casos detectados con portación y casos tipificados

SEROTIPOS de <i>S.pneumoniae</i>	Total serotipos detectados en 44 niños sanos	Serotipos en Prevenir PCV10	Serotipos en Prevenir PCV13	Frecuencia de serotipos en 44 niños sanos
1	2	SI	SI	4,5%
3	1	NO	SI	2,3%
4	No detectado	SI	SI	
5	2	SI	SI	4,5%
6AB	11	6B	SI	25%
7C	5	NO	NO	11,4%
7F	1	SI	SI	2,3%
8	No detectado	NO	NO	
9V	4	SI	SI	9%
10A	1	NO	NO	2,3%
11A	2	NO	NO	4,5%
12F	1	NO	NO	2,3%
14	No detectado	SI	SI	
15A	1	NO	NO	2,3%
15B/C	2	NO	NO	4,5%
16F	4	NO	NO	9%
17F	1	NO	NO	2,3%
Sg18	2	NO	NO	4,5%
18C	No en el test	SI	SI	
19A	1	NO	SI	2,3%
19C	No en el test	SI	SI	
19F	No detectado	NO	NO	
20	3	NO	NO	6,8%
22F	1	NO	NO	2,3%
23F	No detectado	SI	SI	
31	No detectado	NO	NO	
33F	No detectado	NO	NO	
34	3	NO	NO	6,8%
35B	No detectado	NO	NO	
35F	1	NO	NO	2,3%
38	1	NO	NO	2,3%

Tabla 3: Frecuencia de serotipos de *S. pneumoniae* tipificados en 44 niños sanos con portación



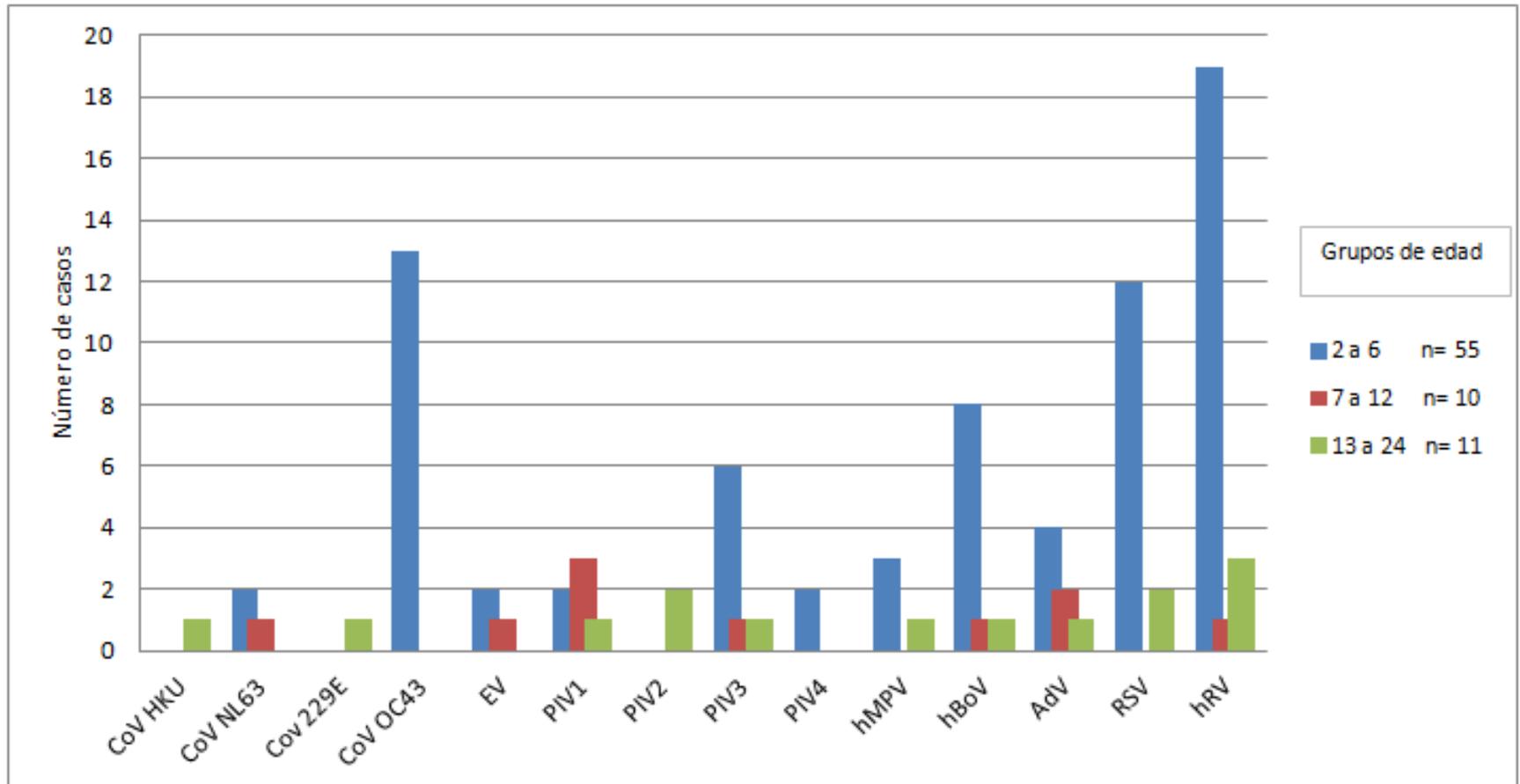
Co-infecciones virales  
Bacterias colonizantes  
Casos con bronquiolitis

# BRONQUIOLITIS



## PATÓGENOS VIRALES DETECTADOS EN 76 ASPIRADOS NASOFARÍNGEOS DE NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS HOSPITALIZADOS bronquiolitis (n=53), asma (n=15) e IRA alta (n=8).

(Mayo 2010 a Octubre 2011)





## CONCLUSIONES

- 
- i) Se describe por primera vez en Paraguay la circulación de virus respiratorios no comunes, en infecciones únicas o co-infecciones con otros virus respiratorios tales como CoVs, BoV, hMPV y EV.
  - ii) La elevada portación de Spn en niños internados con bronquiolitis debe ser considerado un riesgo incrementado para la neumonía bacteriana;**
  - iii) La detección cuali-cuantitativa de múltiples agentes en las IRAs requiere de un mejor entendimiento de la portación y su relación con el patógeno que causa la enfermedad.

# Quality initiative



## MALI

Rodolphe Mérieux Laboratory  
in Bamako  
RESAOLAB Laboratories



BANGLADESH  
ICDDR,B

LAOS  
Rodolphe Mérieux Laboratory in Vientiane



## PARAGUAY

Instituto de Investigaciones en Ciencias de la  
Salud - Universidad Nacional de Asunción



## HAITI

Rodolphe Mérieux Laboratory in  
Port au Prince



# Iniciativa de Calidad



- Resultados esperados
  - Evaluación de los 4 laboratorios seleccionados e identificación de las necesidades a ser mejoradas.
  - Plan de acción que permita a los laboratorios alcanzar un estándar de calidad internacional.
  - Un cuestionario de “auto-evaluación” para todos los miembros de la Red GABRIEL
    - Desarrollado con Fiocruz, Brazil
    - Colectando información sobre su actual sistema de Aseguramiento de Calidad



# Indicadores

- La herramienta tiene 12 módulos:
- Cada **módulo** contiene indicadores (10-14)
- Cada **indicador** está compuesto de varias preguntas.
- Cada **pregunta** posee un puntaje 0-100%.
- Ejemplos:

➤ **Módulos**

➤ **Indicadores**

GENERAL INDICATOR		43%
Y	<b>1- FACILITY AND SAFETY</b>	<b>43%</b>
	Information, infection prevention and risk groups	67%
	Laboratory access	0%
	First aid system	33%
	Rooms organization	29%
	BSL2+/3 - general facts	44%
	Facilities & Safety Assessment	40%
	Pre-Analysis	60%
	Waste and disposal	31%
	Power supply back-up	100%
	Storage	25%
	Documentation management	67%
	Biosafety Manual	13%
	Retention schedule	11%
	Cleanliness and biosafety	78%
	<b>2- ORGANIZATION</b>	<b>50%</b>
	Quality Management	50%
	Quality Officer	33%
	Laboratory Vision and policy	33%
	Meetings	50%
	Work Schedules	29%
	Biosafety Officer	75%



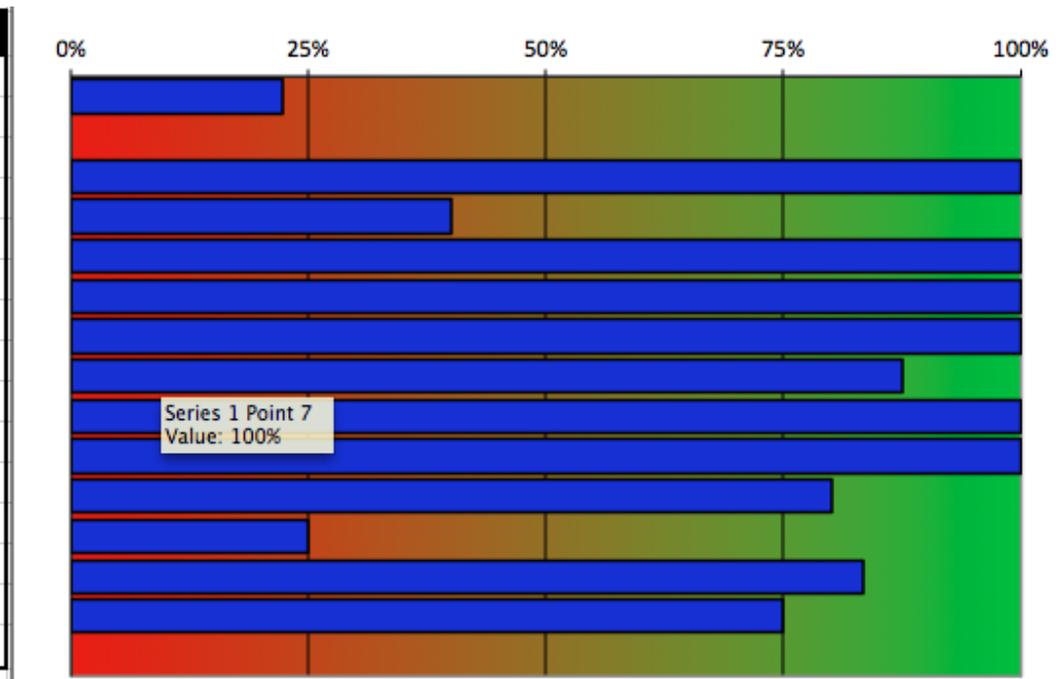
# Resultados ejemplo – LQSI Phase based

Quality System Essential (QSE)	Phase 1	Phase 2	Phase 3	Phase 4
1- Facility and Safety	<b>23%</b>	<b>86%</b>	<b>42%</b>	'
2- Organization	<b>50%</b>	<b>93%</b>	<b>56%</b>	<b>0%</b>
3- Personnel	<b>49%</b>	<b>42%</b>	<b>75%</b>	<b>13%</b>
4- Equipment	<b>67%</b>	<b>28%</b>	'	<b>0%</b>
5- Purchase	<b>67%</b>	<b>56%</b>	<b>61%</b>	'
6- Process	<b>63%</b>	<b>37%</b>	<b>7%</b>	<b>0%</b>
7- Information	'	<b>58%</b>	<b>42%</b>	'
8- Documents	<b>0%</b>	<b>27%</b>	'	'
9- Customers	'	<b>25%</b>	<b>33%</b>	<b>0%</b>
10- Assessment	<b>0%</b>	<b>13%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>
11- Non-conformity	'	'	'	<b>6%</b>
12- Continual Improvement	'	'	'	<b>0%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>40%</b>	<b>47%</b>	<b>39%</b>	<b>2%</b>

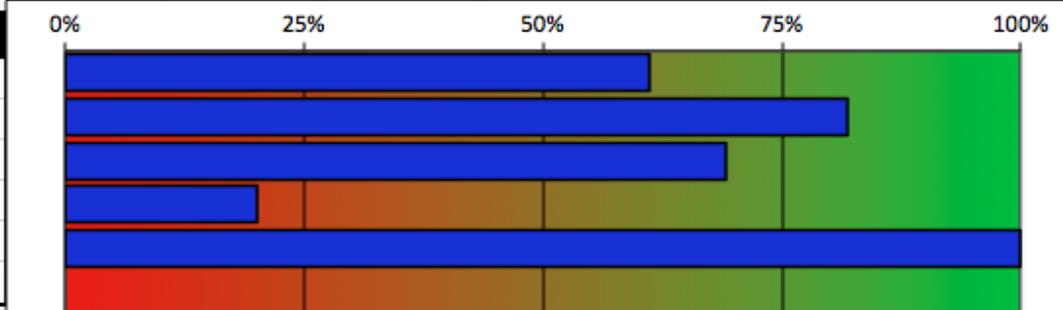


# Results example

<b>3- PERSONNEL</b>		<b>68%</b>
Staff hiring processes	22%	
Applicant hiring procedure	0%	
Guest laboratory access processes	100%	
Induction programme	40%	
Job description	100%	
Quality commitment and promotion	100%	
Biosafety officer	100%	
Competency assessment	88%	
Staff relations management	100%	
Competency assessment	100%	
Personnel file	80%	
Replacement and substitutes	25%	
Authorization matrix	83%	
Continuous education	75%	
Failure-mode-effect analyses	0%	



<b>4- EQUIPMENT</b>		<b>55%</b>
Equipment register	61%	
Equipment management	82%	
Equipment SOPs	69%	
Equipment labeling	20%	
Maintenance Log Sheet	100%	
Equipment maintenance	0%	



# PARAGUAY: PRIMEROS RESULTADOS

## Resultados- Junio 2014

## Resultados – Diciembre 2014

Elementos esenciales del Sistema de Calidad (QSE)	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Total Fases	TOT Modulo/QSE
1- Instalaciones y Bioseguridad	65%	66%	56%	*	62%	64%
2- Organización	33%	47%	17%	0%	24%	31%
3- Personal	42%	57%	50%	31%	45%	34%
4- Equipamientos	43%	27%	*	50%	40%	34%
5- Compras e Inventario	100%	41%	33%	*	58%	49%
6- Control de procesos	63%	31%	22%	20%	34%	34%
7- Gestión de Información	*	15%	4%	*	9%	13%
8- Documentos y registros	0%	20%	*	*	10%	19%
9- Servicio al cliente	*	50%	0%	60%	37%	28%
10- Aseguramiento de calidad	100%	60%	0%	0%	40%	44%
11- Gestión de ocurrencias	*	*	*	11%	11%	13%
12- Mejora continua	*	*	*	0%	0%	0%
<b>TOTAL</b>	<b>56%</b>	<b>41%</b>	<b>23%</b>	<b>22%</b>	<b>31%</b>	<b>34%</b>

Elementos esenciales del Sistema de Calidad (QSE)	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Total Fases	TOT Modulo/QSE
1- Instalaciones y Bioseguridad	65%	66%	56%	*	62%	64%
2- Organización	93%	92%	50%	0%	59%	72%
3- Personal	57%	60%	67%	60%	61%	53%
4- Equipamientos	46%	32%	*	50%	43%	39%
5- Compras e Inventario	100%	41%	33%	*	58%	49%
6- Control de procesos	63%	31%	22%	20%	34%	34%
7- Gestión de Información	*	15%	4%	*	9%	13%
8- Documentos y registros	0%	33%	*	*	17%	30%
9- Servicio al cliente	*	50%	0%	60%	37%	28%
10- Aseguramiento de calidad	100%	60%	0%	0%	40%	44%
11- Gestión de ocurrencias	*	*	*	11%	11%	13%
12- Mejora continua	*	*	*	0%	0%	0%
<b>TOTAL</b>	<b>65%</b>	<b>48%</b>	<b>29%</b>	<b>25%</b>	<b>36%</b>	<b>40%</b>

Evaluación inicial

Monitoreo



# Acceso y calidad a sistemas diagnósticos

**La baja calidad** (conlleva errores en el diagnóstico) como también la **falta de accesibilidad** al diagnóstico, **son tan letales** como malos medicamentos y falta de acceso a los medicamentos.





**GRACIAS!!!**

*“La vida no se mide por los descansos que tomamos sino por los momentos que te roban el aliento”.*

