

103  
2 Gen.



---

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE QUIMICA

BUSQUEDA DE ANTICUERPOS CONTRA TRYPANOSOMA CRUZI  
EN DONADORES DE BANCOS DE SANGRE REGISTRADOS  
EN EL CENTRO NACIONAL DE LA TRANSFUSION  
SANGUINEA DE LA SECRETARIA DE  
SALUBRIDAD Y ASISTENCIA

TESIS MANCOMUNADA  
PRESENTADA POR:  
IMAY DEL PILAR SEPULVEDA TOLEDO  
LUZ MARIA VELAZCO AGUIRRE  
PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1985



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## C O N T E N I D O

CAPITULO	I.	OBJETIVOS.
CAPITULO	II.	INTRODUCCION.
CAPITULO	III.	MATERIAL Y METODOS.
CAPITULO	IV.	RESULTADOS Y COMENTARIOS.
CAPITULO	V.	BIBLIOGRAFIA.

## C A P I T U L O I

### OBJETIVOS

Demostrar la presencia de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi en donadores de sangre, y de esta manera, conocer el riesgo que existe de transmitir la enfermedad de Chagas por vía transfusional, para finalmente ver la posibilidad de que se apliquen medidas de control en bancos de sangre, que eviten la distribución y utilización de sangre parasitada.

## C A P I T U L O I I

### INTRODUCCION

#### 1. ENFERMEDAD DE CHAGAS.

##### 1.1 GENERALIDADES.

Las tripanosomiasis son zoonosis producidas por protozoos de la clase Zoomastigophora. Los agentes etiológicos de estas protozoosis -- son microorganismos de la familia Tripanosomatidae, caracterizados por tener un solo flagelo, aunque en uno de sus estadios carece del mismo.

Existen diversos géneros de tripanosomátidos; unos son parásitos de vertebrados, transmitidos por artrópodos; otros son parásitos de vegetales, también transmitidos por artrópodos; y otros son parásitos de artrópodos exclusivamente.

En el hombre hay dos géneros causantes de parasitosis: Leishmania y Trypanosoma. Los géneros de la familia Tripanosomatidae se diferencian por el tipo de huéspedes que infectan y su variación morfológica.

El género Trypanosoma tiene cuatro especies parásitas del hombre: Trypanosoma gambiense, Trypanosoma rhodesiense, Trypanosoma cruzi y Trypanosoma rangeli. Las dos primeras son transmitidas por moscas - del género Glossina (tsetsé), que solo se encuentra en África.

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es causada por

Trypanosoma cruzi. Fué descubierta en 1909 por Carlos Chagas en la provincia de Minas Gerais, Brasil. Este investigador encargado de la profilaxis del paludismo en el ferrocarril en construcción de aquella región, encontró abundantes tripanosomas en el tubo digestivo de algunos redúvidos que infestaban las casas techadas de pajas típicas de aquella zona, sospechando que deberían provenir de algún animal infectado (27).

Haciendo picar estos redúvidos, llamados "barbeiros", a monos "uastiti" logró transmitirles la infección, al igual que a algunos animales de laboratorio (27).

Después de una investigación minuciosa encontró que en las casas infestadas por los redúvidos, existía una enfermedad conocida con el nombre vulgar de "opilacao", "cargaury" o "derrengadera", que atacaba principalmente a los niños, y que se caracterizaba por fiebre, adenomegalia, anemia y alteraciones del sistema nervioso, y era producida por estos tripanosomas a los cuales dió el nombre de Trypanosoma cruzi en honor a su maestro Oswaldo Cruz, Director del Instituto de Manghillos, cercano a Rio de Janeiro.

Desde entonces se ha encontrado al parásito infectando varias especies de mamíferos en casi todos los países del continente americano, desde el sur de Argentina y Chile hasta Canadá, en algunos de los cuales se presenta en forma enzoótica, y jugando un papel importante como reservorios. Los transmisores artrópodos o triatóminos se encuentran también distribuidos en todo el continente; y pertenecen a los siguientes géneros: Triatoma, Rhodnius, Panstrongylus, Dipetalogaster, Paratriatoma, Microtriatoma, Eratyrus, Belminus, Albersoprosonia

Boldodera, Parabelminus, Cavernícola, Psammolestes y Nesotriatoma.

En las zonas endémicas o en los territorios enzoóticos se han encontrado infectados en forma natural, muchos otros triatóminos capaces de transmitir Trypanosoma cruzi. En México, como se verá posteriormente, sus principales transmisores son Triatoma barberi, Rhodnius prolixus y Triatoma phillosoma.

Se estima que en el continente americano existen unos 65 millones de personas expuestas a contraer la infección y 24 millones de personas padecen la enfermedad (19). En México se han reportado 350 casos agudos, 100 casos crónicos y varias centenas de miles con serología positiva para Chagas.

La magnitud con que se reporta el padecimiento está relacionada a múltiples factores, como número de encuestas epidemiológicas, prevalencia del problema en zonas suburbanas o rurales donde no hay atención médica, desconocimiento del problema aunado a que el cuadro clínico no es característico, dando lugar a confusión con otras enfermedades, además de que en contadas instituciones se practican los procedimientos de laboratorio para el diagnóstico específico.

En países donde se han hecho estudios adecuados, como Brasil, Argentina, Venezuela y Chile, se ha observado que la gravedad de el cuadro clínico y la irreversibilidad de las lesiones cardíacas y de otros órganos causados por este padecimiento, causan invalidez y muerte con relativa frecuencia (27)(28)(29)(30)(32).

1.2 AGENTE ETIOLÓGICO, MORFOLOGIA, CICLO BIOLÓGICO, TRANSMISOR Y RESERVORIOS.

El agente etiológico de la enfermedad de Chagas es el Trypanosoma cruzi.

CLASIFICACION:

Reino: Animalia  
Phylum: Protozoa  
Subphylum: Sarcomastigophora  
Superclase: Mastigophora  
Clase: Zoomastigophora  
Género: Trypanosoma  
Especie: cruzi

MORFOLOGIA.

Trypanosoma cruzi es una especie pequeña de tripanosomas que habitualmente adquiere forma de "C", "U" o "S" y mide alrededor de 20 micras de largo por aproximadamente 4 micras de ancho. A diferencia de otros tripanosomas, Trypanosoma cruzi nunca se divide en la sangre de los huéspedes mamíferos.

Puede presentar cuatro estadios evolutivos: amastigote en tejidos, tripomastigote en deyecciones de triatóminos y en sangre periférica de reservorios y del hombre, promastigote frecuente en medio de cultivo y epimastigote en aparato digestivo de triatómino.



Amastigote.

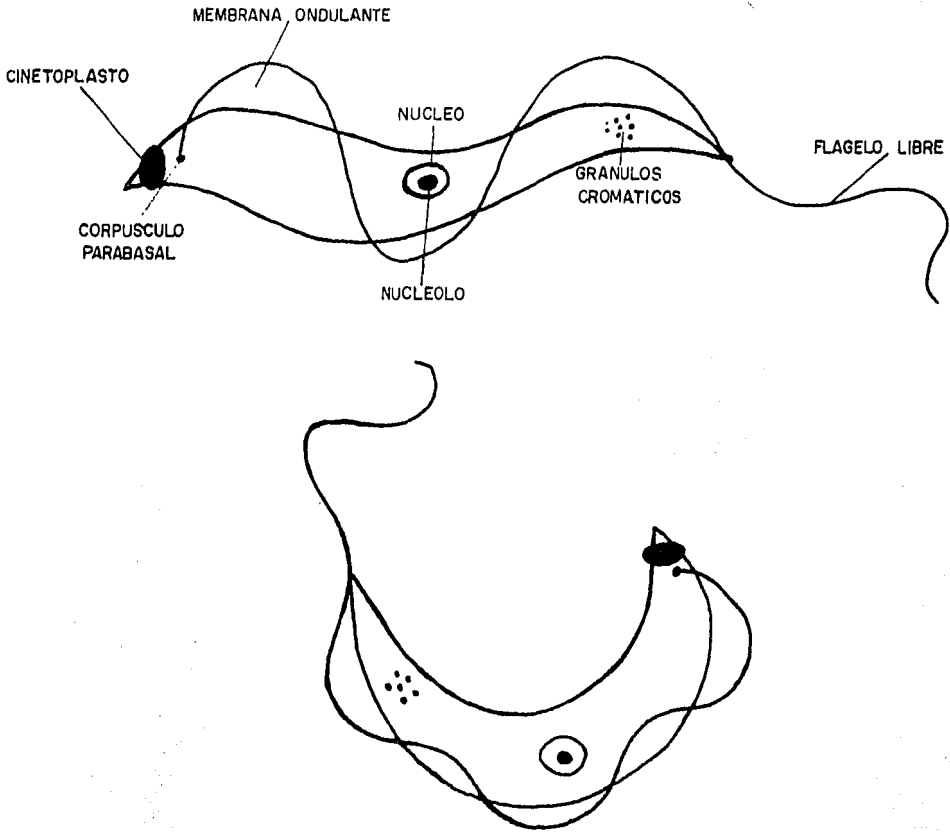
Teñidos con Giemsa o cualquier otro colorante de Romanowski se presentan como estructuras esféricas que miden de 2 a 4 micras, con citoplasma azul, núcleo muy aparente de color rojo, y el cinetoplasto junto a él, semejando un bastoncillo de color rojo oscuro o violeta. Esta forma se encuentra en tejidos como son: miocardio, ganglio, músculo liso e hígado. En músculo, especialmente corazón, se agrupan en racimos formados por divisiones sucesivas de un especimen y su -- progenitor; a estos racimos se les conoce como pseudoquistes o nidos de amastigotes.

Tripomastigote.

En deyecciones de triatóminos y en sangre, se observan como estructuras fusiformes de 18 a 21 micras, en movimiento constante (frotis en fresco) que les da el flagelo con el que se desplazan por entre los eritrocitos o las deyecciones de triatóminos. Teñidos con Giemsa se observan como estructuras alargadas en forma de "C", "U" o "S" que - miden de 18 a 21 micras de largo por 2 a 4 micras de ancho; presen-- tan un núcleo en la parte media, muy aparente, de color rojo oscuro, un cinetoplasto voluminoso color rojo oscuro en la porción posterior del cuerpo del parásito, de donde sale el flagelo que dentro del cuerpo del parásito, forma la membrana ondulante para salir por la por--- ción anterior; en el citoplasma de color azul, se observan gránulos - de volutina color violeta (Fig. 1).

FIGURA No. 1

MORFOLOGIA DE TRYPANOSOMA CRUZI



Promastigote.

En el líquido del medio de cultivo se observan como estructuras en -- forma de huso que miden de 16 a 18 micras de largo con movimiento por medio de su flagelo. Con frecuencia se encuentran agrupados en forma de roseta unidos por su porción posterior. Teñidos con Giemsa puede -- decirse que se trata de una estructura en forma de huso que mide de -- 18 a 21 micras de largo, citoplasma azul, núcleo muy aparente de co-- lor rojo oscuro; el cinetoplasto del mismo color que el núcleo es anterior a él, de donde sale el flagelo por el extremo anterior del pa-- rásito.

Epimastigote.

Teñidos con Giemsa, son estructuras en forma de huso que miden de 16 a 18 micras de largo y cuyo cinetoplasto se encuentra sobre el núcleo localizado en la parte media del parásito. Ambos se tiñen de color rojo oscuro o violeta, el citoplasma es de color azul, el flagelo que sale del cinetoplasto forma una pequeña membrana ondulante antes de -- salir por la parte anterior del parásito (29).

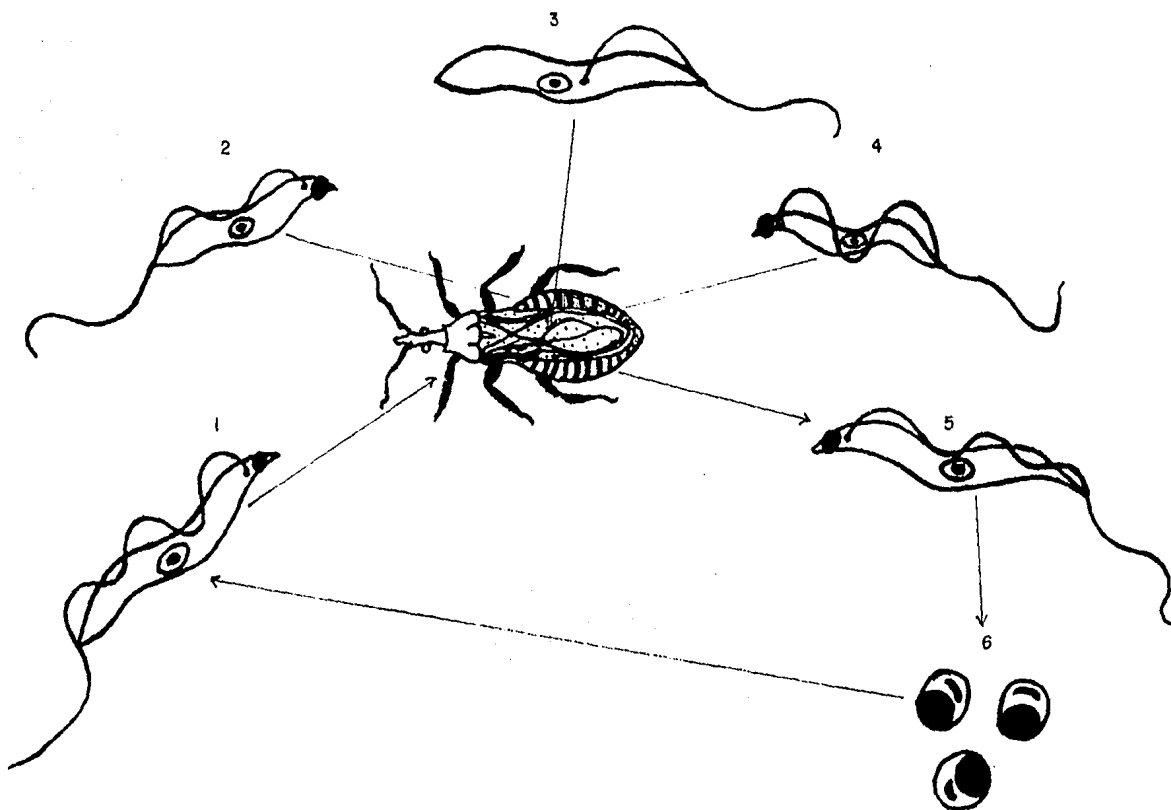
CICLO BIOLÓGICO.

La vida de Trypanosoma cruzi comprende dos ciclos de desarrollo, uno en el hombre o huéspedes mamíferos reservorios y otro en el interior del transmisor (Fig. 2).

El ciclo puede iniciarse cuando un triatómino "limpio" pica a un mamí fero infectado, que contiene en su sangre tripomastigotes circulantes;

FIGURA No. 2

CICLO BIOLÓGICO DE TRYPANOSOMA CRUZI



- 1.- TRIPOMASTIGOTE EN SANGRE DE MAMIFEROS ( HOMBRE Y RESERVORIOS )
- 2.- TRIPOMASTIGOTE EN ESTOMAGO DE TRANSMISOR.
- 3.- EPIMASTIGOTE EN INTESTINO DE TRANSMISOR
- 4.- TRIPOMASTIGOTE METACICLICO EN LA PARTE POSTERIOR DEL INTESTINO DEL TRANSMISOR
- 5.- TRIPOMASTIGOTE METACICLICO EN HECES DEL TRANSMISOR, FORMA INFECTANTE PARA EL MAMIFERO.
- 6.- AMASTIGOTES EN TEJIDOS DE MAMIFEROS ( HOMBRE Y RESERVORIOS )

éstos pasan al estómago e intestino del triatómino donde sufren división binaria longitudinal y se transforman en epimastigotes, los cuales se siguen dividiendo y en ocho a diez días hay presencia de tripomastigotes metacíclicos en el área rectal del transmisor, forma infectante para un nuevo huésped mamífero.

Para que la transmisión se realice al humano, es importante que los triatóminos sean de hábitos domésticos y antropofílicos; asimismo, que efectúen su deyección durante el acto de la picadura. Cuando un triatómino infectado pica a una persona, por lo común alrededor de la boca y ojos, llega a permanecer sobre él un tiempo largo, que le permite ingerir varias veces su peso corporal en sangre y defecar en varias ocasiones sobre la piel o mucosas de la persona depositando, junto con sus heces, los tripomastigotes metacíclicos infectantes, éstos atraviesan las mucosas y la piel escoriada o indemne y pasan al torrente sanguíneo penetrando en las células de diversos tejidos, especialmente las macrofágicas, en donde se transforman en amastigotes, se reproducen por división binaria hasta formar los nidos de amastigotes, los cuales rompen la célula y salen a la circulación transformándose rápidamente en tripomastigotes sanguíneos, diseminándose por vía hematógica a todo el organismo; penetran nuevamente a células donde se vuelven a transformar en amastigotes, se multiplican, rompen las células y repiten este mecanismo constantemente.

Trypanosoma cruzi no se reproduce en la sangre, pero parece que tiene que transformarse en tripomastigote y circular por la periferia para e-

fectuar ciertas fases metabólicas; la sangre capilar cutánea es de temperatura más baja que la visceral y el tripanosoma al parecer necesita este paso por temperaturas bajas para continuar su reproducción; el ciclo biológico se completa cuando un triatómino no infectado pica y chupa sangre con tripomastigotes sanguíneos de un mamífero infectado (28) (29) (32).

#### TRANSMISORES.

Se han encontrado triatóminos infectados con Trypanosoma cruzi en todos los estados de México (24) (25).

Actualmente se conocen en México 7 géneros de la subfamilia Triatominae: Triatoma con 24 especies; Dipetalogaster con la especie maximus; Rhodnius con la especie prolixus; Eratyrus con la especie cuspidatus; Panstrongylus con la especie rufotuberculatus; Belminus con la especie costarricensis; y Paratriatoma con la especie hirsuta (42).

Es de hacer notar que un buen número de especies, sobre todo phyllosoma, barberi, dimidiata y R. prolixus, se han encontrado y colectado dentro de habitaciones humanas, infectas con Trypanosoma cruzi, y con hábitos marcadamente intradomiciliarios; asimismo también se han colectado estos insectos en el peridomicilio humano y, en condiciones selváticas, en nidos de animales salvajes (24) (42).

Se han realizado estudios tendientes a demostrar la capacidad transmisora de algunas especies mexicanas, en los cuales se demuestra que Triatoma phyllosoma pallidepennis y Triatoma barberi son capaces de efectuar

la transmisión de Trypanosoma cruzi muy favorablemente, aún en condiciones experimentales (24) (28).

### RESERVORIOS.

Muy pocos estudios se han realizado sobre los reservorios de Trypanosoma cruzi en nuestro país. Hasta 1980 se había colectado 6 vertebrados mamíferos a los que se les efectuaron estudios para demostrar su infección con Trypanosoma cruzi. El primer reservorio encontrado fué el Didelphis marsupialis (tlacuache) en 1947. Posteriormente se reportaron como reservorios naturales Dasypus novemcinctus maximus (armadillo), Canis familiaris (perro), Rattus norvegicus (rata), Mus musculus (ratón) y Scirus vulgaris. Recientemente se han encontrado vacas infectadas en la ciudad de Cuernavaca, Morelos (24)(25)(45).

### 1.3. MECANISMOS DE TRANSMISION.

Las diversas maneras con las que el hombre puede infectarse con Trypanosoma cruzi se detallan a continuación.

#### 1. Por deyecciones de triatóminos.

Es la forma más importante, y constituye el mecanismo natural de la infección. Ocurre como se dijo anteriormente, cuando un triatómino defeca sobre el huesped al estarlo picando o no, depositando junto con la materia fecal los tripomastigotes metacíclicos, los cuales -- pueden penetrar a través de la mucosa y la piel indemne o escoriada.

## 2. Por transfusion sanguínea.

La posibilidad de transmisión por la transfusión de sangre fue mencionada por primera vez por Mazza en 1936, en Argentina. Tiempo después, Bertín en Chile (1940), Días en Brasil (1945) y Talice en Uruguay (1947), vuelven a llamar la atención sobre este mismo problema, sugiriendo Días que la enfermedad de Chagas debería figurar entre las infecciones que deben ser descartadas en los donadores de sangre.

La elevada prevalencia de esta parasitosis en países latinoamericanos y la presencia cíclica o permanente de Trypanosoma cruzi en la sangre de las personas infectadas, hacen que la transfusión constituya el segundo mecanismo más importante de transmisión, considerando que Trypanosoma cruzi posee gran sobrevivencia y capacidad infectiva en las condiciones en que habitualmente es conservada la sangre para transfusiones (2)(28)(39).

## 3. A través de la placenta.

Durante la segunda mitad de la gestación, los tripomastigotes sanguíneos de la madre pueden pasar la barrera placentaria e infectar al producto (23)(28)(30)(32)(33).

## 4. Por leche materna.

Hay un caso descrito por Mazza (44).

## 5. Manipulación de animales infectados.

Mecanismo que sucede sobre todo en cazadores que desollan animales



y manipulan sus carnes infectadas.

#### 6. Infecciones en el laboratorio.

Accidentes que ocurren al manipular sangre infectada, animales de experimentación para mantener las cepas de Trypanosoma cruzi, cultivos, manejo de los triatóminos, etc., en los laboratorios donde se trabaja en investigaciones sobre enfermedad de Chagas (28).

#### 7. Otros.

Ingestión de carne semicruda o sangre de animales domésticos o silvestres, infectados con Trypanosoma cruzi.

Existe la transmisión de triatoma a triatoma por canibalismo, o entre reservorios carnívoros por vía digestiva.

En forma experimental se ha demostrado la transmisión por vía oral, poniendo en ratones de experimentación directamente los flagelados en la mucosa oral, o con la intervención de moscas (Musca doméstica), mecanismos de poca importancia en la transmisión al humano (2)(28)-(29)(30)(32)(39).

#### 1.4 PATOGENIA.

Al momento de penetrar al huésped vertebrado, Trypanosoma cruzi produce una reacción inflamatoria local aguda. A partir de la diseminación linfática, los organismos son transportados a los ganglios regionales en donde penetran activamente a histiocitos y otras células y se transforman en amastigotes, forma en la que el parásito se multiplica dentro de las células de casi todos los órganos y tejidos. Las preferidas, son las células del sistema mononuclear fagocítico, cardíacas, esqueléticas y de músculo liso. Después de la multiplicación local, los parásitos adoptan la forma de tripomastigotes para invadir la corriente sanguínea y diseminarse por todo el organismo. Cuando penetran los tripomastigotes por vía conjuntival, puede aparecer un edema bipalpebral unilateral, poco doloroso, de aspecto violáceo, con inflamación de la glándula lacrimal y parálisis de los músculos de la órbita, conocido como Signo de Romana. El edema unilateral de los párpados es el más conocido de los signos y casi es patognomónico de la enfermedad de Chagas. Si la inoculación ha sido por otra vía, aparece un nódulo subcutáneo acompañado de microadenitis regional conocido como Chagoma de Inoculación. Desafortunadamente para el médico, estos signos se presentan ocasionalmente.

El chagoma consiste en una intensa reacción inflamatoria con invasión de histiocitos, células adiposas del tejido subcutáneo y células del músculo adyacente por la proliferación de los amastigotes.

Al final se forma un granuloma, pero nunca antes de la diseminación

linfática de los parásitos hacia los ganglios regionales.

Al diseminarse la infección más allá de los ganglios linfáticos regionales, los tripomastigotes aparecen en la sangre circulante e infectan a otros órganos y tejidos conforme son transportados por todo el cuerpo.

Los hallazgos de tripanosomas, la mayoría de las veces muy escasos, aún durante la fase aguda de la enfermedad, hablan en favor de que existen anticuerpos tripanolíticos de elevada efectividad.

También se ha destacado el hecho de que existen procesos inmunobiológicos, quizá también alérgicos, que desempeñan un papel importante en la patogenia de la enfermedad. Adicionalmente, se supone que las endotoxinas liberadas durante la destrucción de los tripanosomas constituyen genuinas neurotoxinas.

Los hallazgos anatomopatológicos se corresponden, en la fase aguda de la enfermedad, con los de una infección general. Inflamación del bazo, hígado y ganglios linfáticos, dilatación cardiaca con alteraciones degenerativas del miocardio, edema cerebral con hemorragias petequiales de este órgano y de las meninges, así como derrames inflamatorios en las cavidades serosas, son hallazgos casi regulares en las autopsias.

En los estadios crónicos se encuentra una miocarditis inflamatoria difusa, la llamada "cardiopatía de Chagas" que está considerada por Köberle como lesión neurotóxica, es decir consecutiva a la destrucción de elementos nerviosos del corazón durante la fase aguda de la

enfermedad.

Hasta ahora no se ha aclarado de modo satisfactorio el problema de la inmunidad. La enfermedad deja tras de sí una inmunidad relativa que, sin embargo, sólo protege frente a reinfecciones con cepas homólogas; la inmunidad cruzada frente a varias cepas, sólo se ha observado en animales de experimentación (28)(30)(32)(40).

### 1.5 DIAGNOSTICO.

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas se funda principalmente en el hallazgo de Trypanosoma cruzi en la sangre o en los tejidos por medio de métodos parasitológicos; en las reacciones inmunológicas para demostrar los anticuerpos contra Trypanosoma cruzi y en las manifestaciones clínicas, electrocardiográficas y radiológicas del paciente. Para efectuar el diagnóstico es importante tomar en cuenta dos aspectos fundamentales: el epidemiológico y el clínico.

En el aspecto epidemiológico hay que tener presente la procedencia - del paciente y su residencia, ya que los signos y síntomas de puerta de entrada muchas veces no existen o pasan desapercibidos y las manifestaciones clínicas de la etapa crónica, en ocasiones tardan hasta 20 años en manifestarse después que la persona estuvo en contacto -- con el parásito.

El conocimiento de los triatóminos y antecedentes de picadura, son - también importantes. Toda persona que resida o provenga de zonas en - démicas y que presente compromiso cardiaco, cardiomiopatías, miocarditis, etc., son sospechosas de estar infectadas; así como también el megaesófago y el megacólon (28)(29).

#### 1.5.1. METODOS PARASITOLOGICOS.

Estos se efectúan para la demostración del parásito en sangre mediante exámenes directos. Se buscarán tripomastigotes en sangre circulante, particularmente durante los periodos febriles de la fase crónica.

Exámen directo de sangre periférica.

Este método se usa en infecciones agudas por Trypanosoma cruzi, para la búsqueda de tripomastigotes sanguíneos. Tiene sus limitaciones ya que no se detectan infecciones crónicas indeterminadas.

Previa asepsia de un dedo con una torunda con alcohol al 70%, se punciona el pulpejo del dedo y se coloca una gota de sangre sobre un -- portaobjetos, se cubre con una laminilla y se lleva al microscopio - para observación con el objetivo de 40X, para observar el movimiento de los tripomastigotes entre los eritrocitos (29).

Frotis de sangre periférica.

Se coloca en el extremo de un portaobjetos, perfectamente desengrasado, una gota de sangre proveniente de punción capilar o venosa. Con la ayuda de otro portaobjetos, se arrastra la gota a lo largo del primer portaobjetos con un movimiento firme. Se utiliza para teñir, colorante de Giemsa, Wright o Leishman y se observan las características morfológicas y tintoreales del parásito (29).

Gota gruesa.

Es una técnica de concentración para la búsqueda de parásitos sanguineos. Se fundamenta en el hecho de que al perder toda la hemoglobina los eritrocitos, éstos al estar acumulados no impidan la observación de los parásitos.

En un portaobjetos desengrasado, se coloca una gota de sangre, con - la punta de una lanceta o el ángulo de otro portaobjetos se desfibru

na y se extiende un poco haciendo un cuadrado de unos 5 mm de lado. Se deja secar al abrigo del polvo. Ya seca, se guarda y hasta el día siguiente se introduce en un recipiente con agua para deshemoglobinizar. Este procedimiento está completo hasta que la gota quede completamente translúcida. Se saca del agua, se deja escurrir y secar, y se procede a su tinción y observación como si fuera un frotis sanguíneo (29).

#### Inoculación a animales de laboratorio.

Generalmente se recurre a esta técnica cuando se presentan casos sospechosos de enfermedad de Chagas en los que no se ha podido comprobar la existencia del parásito por otros métodos. El ratón blanco -- (Mus musculus) es muy susceptible a la infección por Trypanosoma cruzi, por lo que inoculando sangre del paciente sospechoso por vía intraperitoneal en el ratón, los tripomastigotes se desarrollarán en éste y se podrán detectar unos 10 días después de la inoculación en la sangre de los ratones (29).

#### Hemocultivo.

Es un método sencillo y de alta sensibilidad, empleándose con buenos resultados sobre todo en la etapa final de la fase aguda, cuando empiezan a escasear los tripomastigotes en la sangre del paciente.

Los medios de cultivo que ofrecen mayor eficacia son el medio de N.N. (Novy, Nicolle y Mac Neal), medios con solución de Locke y sangre

humana, o el de Nakamura.

### Xenodiagnóstico.

Se utiliza el transmisor u otro huésped diferente del hombre para -- que el parásito se reproduzca y se localice en aquél.

Este método ha demostrado tener una elevada eficacia para detectar - infecciones por Trypanosoma cruzi, en las cuales es necesaria la demostración del parásito. En este caso se usa el transmisor, triatómino, el cual se pone en contacto con el paciente sospechoso para que al succionar sangre los parásitos se multipliquen activamente en el tubo digestivo del triatómino y sea más fácil su demostración, a la manera de un método de concentración.

Para realizar este método, se emplean de preferencia 40 ninfas de -- los últimos estadios, criadas en el laboratorio, libres de infección por Trypanosoma cruzi, las cuales se colocan en una cajita de cartón cubierta con tul de nylon o gasa y se ponen sobre el antebrazo del - paciente permitiendo que los triatóminos se alimenten a saciedad, lo cual hacen aproximadamente en una hora. Se corrobora que los triatóminos se alimentaron con la sangre del paciente al observar la gran distención abdominal de éstos. Una vez que los insectos comieron, se quita la caja y se hace una asepsia de la zona donde estuvieron, con alcohol al 70%.

Se rotula un frasco de boca ancha con el nombre del paciente, se colocan ahí los artrópodos y se guardan en un lugar al abrigo del frío



y de la luz. Se hace la observación de las deyecciones de estos triatominos a los 15, 20 y 30 días después. Con las manos enguantadas y con los dedos índice y pulgar, se hace una ligera expresión del abdomen del triatómimo, para tratar de que defequen. Si hay resistencia a la salida de la deyección, con un poco de solución salina y con el ángulo de un portaobjetos, se hace un raspado de la zona más distal del insecto; se vuelve a comprimir y se colocan las deyecciones sobre un portaobjetos con una gota de solución salina, se cubre y se observa la preparación al microscopio con el objetivo de 40X.

De haber tenido tripomastigotes el paciente en su sangre periférica, habrán pasado al intestino de los triatominos donde se habrán multiplicado profusamente, los que se observarán en las deyecciones. Este método se debe aplicar tanto en la etapa aguda como en la crónica de la enfermedad y se recomienda tomar 3 xenodiagnósticos en días seguidos, para obtener una mayor efectividad del método (28)(29).

#### Cortes histológicos.

Esto se hace en estudios post-mortem, donde se buscarán nidos de amastigotes en músculo cardiaco; aunque en personas fallecidas por enfermedad de Chagas, es difícil encontrar éstos.

#### 1.5.2 METODOS INMUNOLOGICOS.

La respuesta inmune que sigue a una infección por Trypanosoma cruzi,

es de gran ayuda para propósitos de diagnóstico de la enfermedad de Chagas. El parásito, al introducirse en el organismo se multiplica y provoca la formación de anticuerpos que pueden detectarse serológicamente con un alto grado de sensibilidad y especificidad. Las pruebas serológicas más utilizadas son: hemaglutinación indirecta, inmunofluorescencia indirecta, aglutinación directa, fijación de complemento y últimamente se ha estado realizando la técnica inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Se ha recomendado la utilización de hemaglutinación indirecta e inmunofluorescencia indirecta para obtener una sensibilidad y especificidad máxima. La prueba de aglutinación en latex, se encontró menos sensible y específica por lo que su uso es muy restringido.

La prueba de aglutinación directa es una prueba muy sensible con sueros de pacientes con infección aguda; tiene una buena especificidad en lo que refiere a la reacción cruzada con leishmaniasis. Este método emplea epimastigotes obtenidos en cultivo, tripsinizados y fijados en formalina.

La técnica de ELISA que utiliza fosfatasa alcalina como enzima y p-nitrofenilfosfato como sustrato, ha sido introducida recientemente para medir anticuerpos contra Trypanosoma cruzi.

La técnica de fijación de complemento ha caído en desuso debido a su menor sensibilidad y especificidad en comparación con las otras técnicas (7).

A continuación se mencionan algunos métodos utilizados con mayor frecuencia en los laboratorios clínicos.

HEMAGLUTINACION INDIRECTA.

Esta técnica consiste en la aglutinación de eritrocitos humanos o de animales cubiertos con antígenos solubles. Los eritrocitos actúan como acarreadores pasivos de antígenos. La exposición de los eritrocitos al ácido tánico, tripsina u otros reactivos similares, provoca una mayor adsorción del antígeno por parte de los eritrocitos y en consecuencia se aumenta su poder de aglutinación (7)(26)(34).

Principio del método.

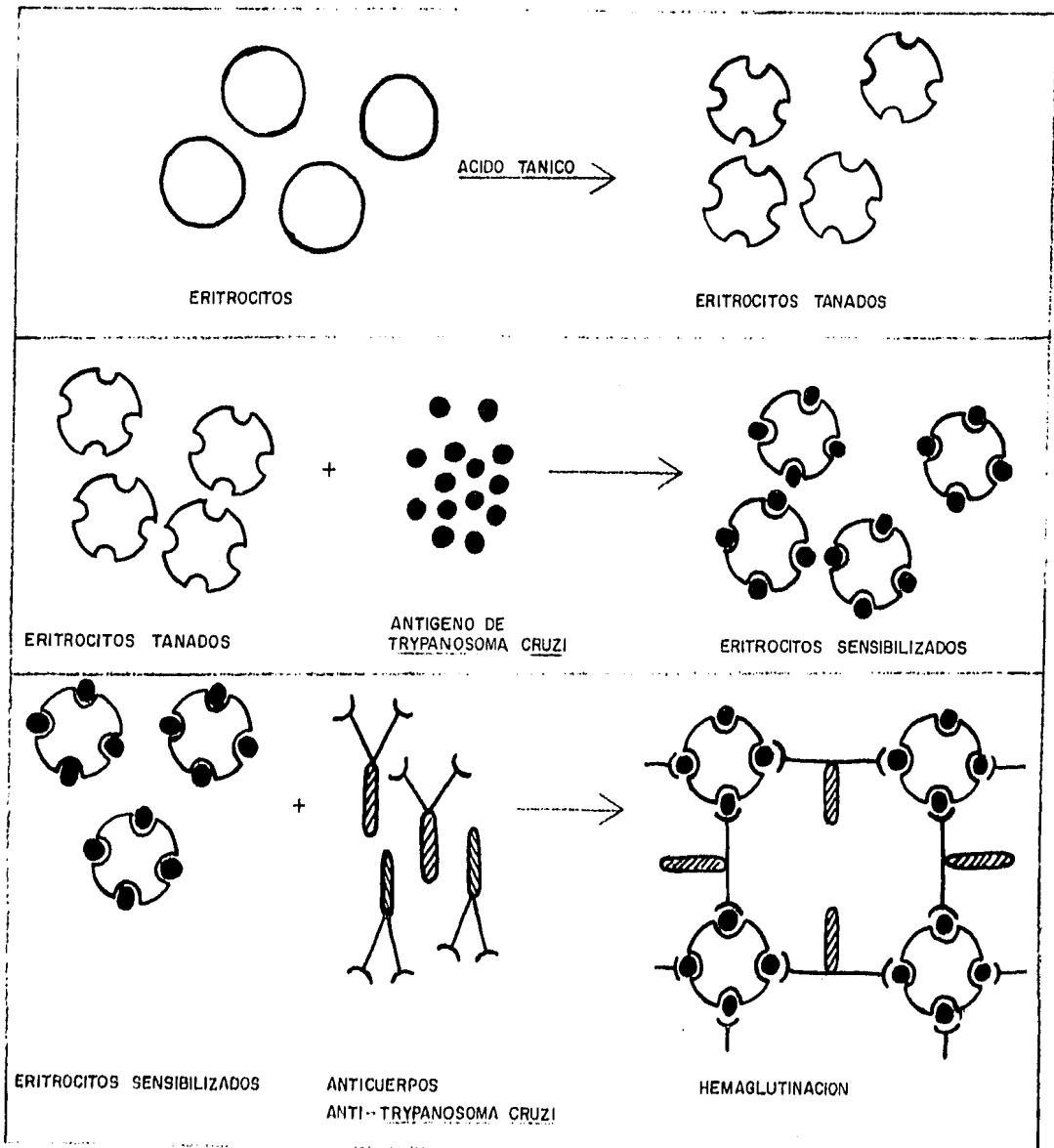
Los eritrocitos sensibilizados con antígenos solubles provenientes de Trypanosoma cruzi son aglutinados por los anticuerpos específicos contenidos en los sueros de personas infectadas por este parásito.

Los anticuerpos que provocan la aglutinación de los eritrocitos sensibilizados responden a la estimulación de antígenos citoplasmáticos de Trypanosoma cruzi.(Fig. 3).

En los sueros de muchas personas no parasitadas por Trypanosoma cruzi se encuentran globulinas capaces de aglutinar partículas antigénicas de diferente origen, inclusive los eritrocitos sensibilizados -- con antígenos de Trypanosoma cruzi. Estas globulinas entre las que se encuentran los anticuerpos heterófilos (presentes a títulos bajos en gran proporción de la población), tienen la capacidad de reaccionar directamente con los eritrocitos aún sin sensibilizar. Estos anticuerpos en especial, pueden ser eliminados tratando previamente -- los sueros con 2-mercaptoetanol (7)(9).

FIGURA No. 3

HEMAGLUTINACION INDIRECTA PARA CHAGAS



INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA.

Coons en 1941 describió un método en el que, utilizando colorantes fluorescentes conjugados con anticuerpos específicos, hizo posible reconocer la unión antígeno-anticuerpo mediante el empleo de un microscopio de luz ultravioleta (2). Este método fue posteriormente modificado adquiriendo gran difusión, la llamada técnica de inmunofluorescencia indirecta, que se utiliza rutinariamente en muchos laboratorios de serología para el diagnóstico de la toxoplasmosis, sífilis, esquistosomiasis y enfermedad de Chagas, entre otras.

Camargo (4), después de obtener una excelente concordancia con otras técnicas, y una buena especificidad frente a infecciones por otros microorganismos, inició el empleo de esta técnica como una prueba de rutina en el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas.

Sus resultados fueron corroborados por otros investigadores, demostrando además que es una técnica más sensible que la reacción de fijación de complemento, y menos que la técnica de hemaglutinación indirecta, en sueros de pacientes con enfermedad de Chagas.

Principio del método.

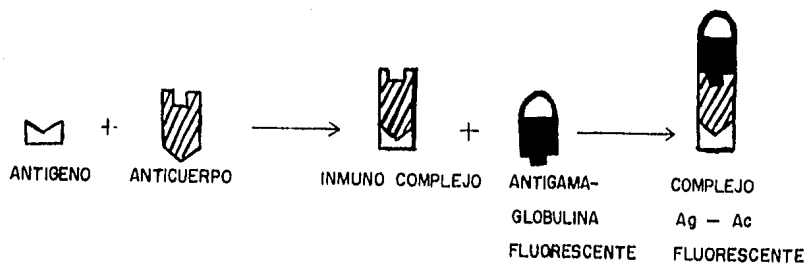


Figura No. 4

La inmunofluorescencia indirecta se basa en la reacción antígeno-anticuerpo, agregando sobre el inmunocomplejo, un suero antiglobulina específico conjugado con fluoresceína (Fig. 4). Esta técnica elimina la necesidad de purificar y conjugar de manera individual cada muestra de suero. El colorante fluorescente más utilizado en esta técnica, es el isotiocianato de fluoresceína, que es una forma de fluoresceína que se fija con facilidad a las proteínas mediante enlaces covalentes a un pH alcalino. Su absorción máxima es a 490-495 nm y -- emite su color verde característico a 517 nm.

Las proteínas que no son anticuerpos, presentes en el medio de la -- reacción, son eliminadas mediante lavados, y la preparación resultante es observada con un microscopio para fluorescencia.

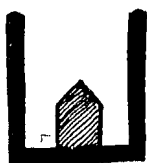
Para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas se utiliza como antígeno, epimastigotes obtenidos en cultivo y fijados a cubreobjetos, -- los cuales se ponen en contacto con el anticuerpo presente en el suero; a este inmunocomplejo se le adiciona la antiglobulina humana marcada con el isotiocianato de fluoresceína. Generalmente se hace una contracoloración utilizando azul de Evans a una dilución óptima de -- 1:10 000 con el objeto de acentuar la diferencia entre reacciones negativas y positivas (4)(5)(6)(26)(37).

#### ANALISIS INMUNOADSORBENTE LIGADO A ENZIMAS (ELISA).

Recientemente se ha prestado mucha atención sobre las técnicas que -- utilizan marcadores enzimáticos conjugados a antígenos o anticuerpos

FIGURA No. 5

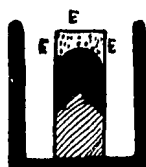
ELISA



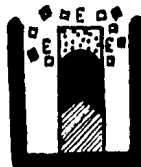
ANTIGENO FIJADO A UNA SUPERFICIE ACARREADORA



ANTICUERPO CONTENIDO EN EL SUERO ENLAZADO AL ANTIGENO



ANTIGLOBULINA MARCADA ENZIMATICAMENTE UNIDA AL COMPLEJO ANTIGENO-ANTICUERPO.



SUBSTRATO HIDROLIZADO POR LA ENZIMA UNIDA AL COMPLEJO. VARIACION DE COLORACION CUYA DENSIDAD OPTICA ES DIRECTAMENTE PROPORCIONAL A LA CANTIDAD DE ANTICUERPO CONTENIDO EN EL SUERO.

en lugar de isótopos radioactivos o colorantes fluorescentes. Algunas marcas comerciales han desarrollado técnicas sencillas, sensibles y específicas para ser utilizadas como pruebas de rutina en el laboratorio de bancos de sangre o para estudios serológicos de la enfermedad de Chagas.

#### Principio del método.

Un antígeno o un anticuerpo es fijado a una superficie acarreadora (placas o perlas). La superficie acarreadora sensibilizada captura al antígeno o al anticuerpo correspondiente contenido en la muestra problema. Se agrega una antiglobulina conjugada con una enzima que se une al complejo antígeno-anticuerpo. El complejo es detectado por la enzima marcadora, que en presencia de su substrato agregado, cambia el color de éste. La densidad óptica de la coloración final es directamente proporcional a la cantidad desconocida del antígeno o del anticuerpo presente en la muestra (Fig. 5). El resultado puede leerse por titulación o por espectrofotometría (7) (37).

#### FIJACION DE COMPLEMENTO.

La técnica de fijación de complemento ha tenido amplia aplicación tanto en investigación como en la práctica del laboratorio clínico y fue una de las primeras pruebas utilizadas para el diagnóstico y estudios serológicos de la enfermedad de Chagas, la cual últimamente ha sido desplazada por pruebas de mayor sensibilidad y especificidad, como son las mencionadas anteriormente.



### Principio del método.

La fijación de complemento ocurre durante la interacción del antígeno y el anticuerpo. La hemólisis inmunológica que se lleva a cabo en la reacción es debida a la acción conjugada de dos factores: un anticuerpo específico de los eritrocitos y el complemento. Se utilizan eritrocitos de carnero y el anticuerpo correspondiente es denominado hemolisina o sensibilizante; en la práctica se trata de suero de caballo o de conejo anti-eritrocitos de carnero.

El complemento está presente en todos los sueros recién extraídos, es muy complejo, frágil y sensible, en especial a la acción de la temperatura que le hace perder su actividad.

Los complejos antígeno-anticuerpo distintos de los eritrocitos y la hemolisina correspondiente, poseen en la mayoría de los casos la propiedad de fijar el complemento. Las moléculas de anticuerpo sufren una modificación de su estructura al contacto del antígeno y esta modificación de su estructura les hace aptos para fijar el complemento. Si el complemento está presente en el momento de la formación del inmunocomplejo, la cantidad de complemento fijado es mayor que cuando se añade el complemento una vez que ya se han formado. En la práctica se utiliza como complemento no el aportado por el suero examinado sino suero de cobayo, pues esta especie es la que tiene el suero más rico en complemento.

El complemento presente en el suero examinado se inactiva previamente por el calentamiento del mismo durante 30 minutos a 56°C.

La fijación del complemento sobre los complejos antígeno-anticuerpo se aprecia por la desaparición del poder hemolítico de la mezcla.

La reacción se lleva a cabo en dos etapas:

En la primera etapa se ponen en contacto el suero problema, el complemento y el antígeno; si el suero contiene un anticuerpo, éste se combina con el antígeno y el inmunocomplejo fija el complemento.

En la segunda etapa, se introducen los eritrocitos y el suero hemolítico; si ha sido fijado el complemento introducido en la primera etapa por el complejo antígeno-anticuerpo, los eritrocitos no son lisados y la reacción es positiva. Si no hubo combinación antígeno-anticuerpo, el complemento permanece libre, los eritrocitos son lisados y la reacción es negativa (26)(37)(38).

## 2. ENFERMEDAD DE CHAGAS EN DONADORES DE SANGRE.

### 2.1 ANTECEDENTES.

En 1936, Mazza y colaboradores (2) llamaron la atención por primera vez sobre la posibilidad de que la enfermedad de Chagas fuese transmitida por transfusión sanguínea. Posteriormente Días en Brasil(2), recomendó que se excluyeran a los donadores de sangre portadores de esta parasitosis y, en los años subsiguientes, aparecieron numerosas publicaciones sobre este tema. Se comunicaron las primeras cifras de prevalencia de la infección tripanosómica en los bancos de sangre, y se reconocieron los primeros casos de infección transmitida por transfusión (1).

La elevada prevalencia de esta parasitosis en los países latinoamericanos y la presencia cíclica o permanente del Trypanosoma cruzi en la sangre de las personas infectadas, aunada a la gran migración de personas de las zonas endémicas a los centros industriales, hacen que la transfusión de sangre constituya el segundo mecanismo más importante de transmisión y, por consiguiente, de transcendencia en salud pública. Este peligro se hace más evidente si se tiene en consideración -- que Trypanosoma cruzi posee gran sobrevivencia y capacidad infectiva en las condiciones en que habitualmente se conserva la sangre y sus derivados (2).

Nuzzenweig encontró que sangre infectada con Trypanosoma cruzi era infectiva en ratones después de su conservación a 6°C por 21 días. El plasma obtenido por centrifugación aproximadamente a 3000 rpm por 15

minutos, era también infectivo, mostrando que el parásito es capaz de mantenerse en los componentes sanguíneos como se preparan usualmente (17)(21)

Desde el momento en que un individuo contrae la enfermedad hasta que aparecen las primeras lesiones viscerales, transcurren años y a veces varios decenios. En ese lapso, el individuo en aparente buena salud es portador de la infección constituyéndose en uno de los reservorios del parásito en la naturaleza.

La primera fase de la enfermedad, denominada periodo agudo, a veces se diagnostica clínicamente por el síndrome constituido en el sitio de entrada del parásito en el organismo. Sin embargo estos signos de puerta de entrada son poco frecuentes, ya que se estima que el 95% de los enfermos crónicos han contraído la infección sin que se haya diagnosticado previamente en ellos un cuadro clínico de enfermedad aguda.

En la primera fase, el laboratorio hace el diagnóstico por el fácil hallazgo de Trypanosoma cruzi en la sangre periférica. Al transcurrir unas pocas semanas, comienzan a aparecer los anticuerpos específicos y este estado inmunobiológico determina una disminución de la parasitemia que sólo puede ser detectada por xenodiagnóstico. Por este método se puede demostrar la persistencia de parásitos circulantes muchos años después de contraída la infección y, lo que es más importante aún, después de haberse alejado el sujeto infectado del contacto con el vector habitual (1)(2).

CUADRO NO. 1  
INFECCION CHAGASICA EN LATINOAMERICA

Prevalencia de reacciones serológicas positivas en donadores de sangre,  
según diversos autores

AUTOR	NO. TOTAL DE MUESTRAS	PORCENTAJE DE POSITIVIDAD
Pellegrino, 1949 (B)	177	1.7
Faria y Col, 1950 (B)	500	1.0
Pellegrino y Col., (B)	565	2.5
Freitas y Col., 1952 (B)	1622	2.2
Passalacua y Col., 1953 (B)	536	4.1
Biancalana y Col., 1953 (B)	473	14.3
Almeida y Col., 1954 (B)	782	5.4
Nussenzweig y Col., 1955 (B)	171	1.8
Pinto y Col., 1957 (G)	1054	7.8
Silva y Lima, 1958 (B)	237	3.6
Brofman, 1958 (B)	-	7.0
Queiroz y Pascual, 1958 (B)	1330	6.9
Mellone y Col., 1959 (B)	16624	1.5
Jafene y Jacono, 1959 (B)	640	15.0
Pellegrino, 1959 (B)	10669	6.8
Freitas y Col., (B)	10086	11.9
De León, 1959 (G)	551	11.4
Freitas y Col., (B)	6405	10.8
Maekelt, 1959 (V)	441	12.0
Berríos, 1960 (CR)	983	6.6
Mora y Col., 1960 (V)	1659	8.2
Rodríguez, 1961 (E)	1122	1.0
Howard y Col., 1962 (Ch)	305	7.5
Salazar y Col., 1962 (V)	-	5.0
Cerisola y Col., 1963 (A)	10971	5.4
Mora, 1964 (V)	17061	7.0
Cerisola y Col., 1965 (A)	26992	5.5
Alexandre, 1965 (B)	1474	11.0
Coura y Col., 1966 (B)	4595	1.3
Rebosolán, 1966 (A)	1582	22.1
Cerisola y Lazzari, 1967 (A)	27547	5.42
Cerisola, 1968 (A)	53395	6.0
Pruneda y Col., 1968 (A)	1200	2.0
Salgado y Col., 1968 (B)	820	7.1
Schenone y Col., 1968 (Ch)	505	3.0
Undiano y Col., 1968 (A)	200	24.5
Mellone y Pagenotto, 1968 (B)	62575	1.45
Huggins, 1970 (B)	136	4.41
Osimani, 1972 (U)	329	5.50
Goldsmith y Col., 1978 (M)	298	4.4
Lorca y Col., 1979 (Ch)	344	6.5
Baruffa, 1979 (B)	3501	3.9
Guhl y Col., 1979 (C)	1021	2.76
Meza y Col., 1982 (Ch)	1000	2.0
Sagua y Col., 1982 (Ch)	214	12.1
Rojas y Col., 1983 (Ch)	1144	6.5
Lorca y Col., 1983 (Ch)	1133	6.0
Rayona y Col., 1984 (M)	200	16.0

(A)=Argentina; (B)=Brasil; (C)= Colombia; (CR)=Costa Rica; (Ch)=Chile;  
(E)=Ecuador; (G)=Guatemala; (M)=México; (U)=Uruguay; (V)=Venezuela

La modalidad evolutiva, habitualmente subclínica de la enfermedad de Chagas en su periodo crónico obliga a utilizar métodos de laboratorio para su reconocimiento.

Se ha observado en general, que individuos que poseen anticuerpos, - son al mismo tiempo portadores de una infección chagásica activa, en la cual es posible demostrar la presencia del parásito. De hecho, diversos estudios han demostrado que en la infección chagásica crónica, existen parásitos circulantes, al menos en la mitad de los casos. Esto implica que la enfermedad de Chagas es una de las más peligrosas en cuanto a la posibilidad de ser transmitida por transfusión sanguínea; y esto es tanto más probable si se considera que la cantidad habitualmente transfundida es de 250 a 500 ml como mínimo.

Esta idea es reforzada al observar las cifras de prevalencia de la infección entre donadores de bancos de sangre situados en zonas endémicas y no endémicas, publicadas en diversos países latinoamericanos (Cuadro No. 1) (2)(11)(12)(13)(14)(15)(16)(17)(18)(19).

## 2.2 ENFERMEDAD DE CHAGAS EN DONADORES DE SANGRE EN LA REPUBLICA MEXICANA.

En nuestro país sólo se han realizado dos estudios con el propósito de encontrar portadores de enfermedad de Chagas entre donadores de sangre.

El primero realizado en 1978 (11), se efectuó a 298 donadores de dos bancos de sangre en el estado de Oaxaca, encontrándose que el 4.4% de

éstos fueron positivos a una o más de las tres pruebas serológicas - en busca de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi empleadas en el --- diagnóstico. Estos resultados eran de esperarse por ser Oaxaca una - zona endémica; sin embargo, la escasa positividad se debió a que pa- ra definir cada caso, se utilizó un título mayor o igual a 1:128, -- cuando un título de 1:16 es suficiente (41).

El segundo fué un estudio piloto realizado en Puebla, Pue. a 200 do- nadores del Hospital Universitario de dicha ciudad en 1984 (19). El 16.5% de estos donadores fueron seropositivos para Chagas, de los -- cuales algunos tenían alteraciones electrocardiográficas sugestivas de miocarditis chagásica, y en dos de estos últimos estudiados por - xenodiagnóstico, se logró aislar el parásito. Estos resultados son - de gran trascendencia ya que no se había diagnosticado la tripanoso- miasis americana en este estado, aunque se sabía que existen en él, 3 especies del vector (19)(24).

Esto nos hace pensar en la posibilidad de que en México se extienda la infección ahagásica por medio de la transfusión sanguínea, el cual crece al no tener un control epidemiológico sobre los donadores, que son personas de bajos recursos económicos provenientes, en gran par- te, de zonas endémicas y que emigran a las grandes ciudades en busca de mejores condiciones de vida.

### 2.3 ENFERMEDAD DE CHAGAS TRANSMITIDA POR TRANSFUSION SANGUINEA.

Hasta la fecha son considerables los casos citados en la bibliogra--

fía de la transmisión de la enfermedad de Chagas por transfusión sanguínea, siendo en Brasil, en 1952 Pedreira de Freitas y colaboradores, los que diagnosticaron los tres primeros casos adquiridos por este mecanismo.

Algunos casos reportados son resultado de una búsqueda exhaustiva de los hemotransfundidos con sangre de donadores con serología positiva para Chagas, y otros casos fueron diagnosticados por el hallazgo casual de Trypanosoma cruzi en su sangre (1)(2)(10).

Lo que dificulta el diagnóstico clínico de la enfermedad, es que la vía de entrada del parásito en el organismo es diferente a la habitual, ya que es inoculado directamente en el torrente circulatorio - causando otro tipo de sintomatología, Esta inoculación determina la aparición de un síndrome febril, adenopatías generalizadas, hepato y esplenomegalia y a veces manifestaciones cutáneas después de varios días o semanas de haber sido efectuada la transfusión de sangre y es por ello que en estos casos, raramente se piensa en la posibilidad de enfermedad de Chagas (1)(10).

Estudios de enfermos hemofílicos politransfundidos han mostrado un alto porcentaje de infectados por esta vía, descartando previamente, todas las posibilidades de que hayan sido infectados por la vía cutánea (1)(23).

Sin embargo, la demostración de que enfermos chagásicos hayan adquirido la infección por vía transfusional, no permite obtener conclusiones respecto de la frecuencia con que puede ocurrir este evento,



ya que no siempre una transfusión de sangre con serología positiva - para Chagas, provoca necesariamente una infección post-transfusional en el receptor, ya que sólo un 12 a 14% de las transfusiones realizadas con sangre de donadores chagásicos, dan lugar a la transmisión de la infección al receptor; sin embargo, contradictoriamente a esto, se ha demostrado un elevado porcentaje de positividad al xenodiagnóstico en enfermos chagásicos crónicos, por lo que se esperaría una mayor frecuencia de transmisión transfusional (2)(39).

Independientemente del alto o bajo porcentaje de individuos que han adquirido la enfermedad de Chagas por vía transfusional, lo cierto es que esta posibilidad existe y seguirá en aumento si no se tiene un control sobre los donadores de sangre con serología positiva para Chagas, por lo que algunos investigadores se atreven a afirmar que este padecimiento dejará de ser una enfermedad limitada a zonas endémicas, para convertirse en enfermedad urbana, sin necesidad de que intervenga el vector natural de la transmisión (23)(39).

#### 2.4 PROFILAXIS DE LA TRANSMISION DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS POR TRANSFUSION SANGUINEA.

Esta profilaxis puede realizarse de dos maneras.

1. Por el estudio de los donadores de sangre mediante las diferentes técnicas inmunodiagnósticas para la tripanosomiasis, descartando a aquellos que presenten positividad serológica, y/o la sangre obtenida de ellos.

2. Por incorporación a la sangre potencialmente infectante, de sustancias antisépticas que destruyan a Trypanosoma cruzi (1)(2)(3)(13)(18)(21).

La primera opción es difícil de llevar a cabo debido a que sería necesario desperdiciar un medio terapéutico de alto costo en el caso de desechar la sangre proveniente de donadores con serología positiva (12).

Respecto al uso de sustancias tripanocidas en las unidades de sangre infectadas, se han hecho numerosos ensayos al respecto. De las sustancias ensayadas, el violeta de genciana es el más recomendable, pues en una concentración de 1:4000 esteriliza totalmente la sangre infectada en un plazo de 24 horas (3).

El violeta de genciana no es un colorante bien definido químicamente, sino que está compuesto por la mezcla de tres derivados de la pararrosanilina: tetrametil, pentametil y hexametil-pararrosanilina. El derivado más metilado, el hexametil-pararrosanilina, conocido como cristal violeta, es el que mostró mayor actividad tripanocida y es por ello que se considera conveniente la utilización del cristal violeta en lugar del violeta de genciana, lo que brindaría mayor seguridad como esterilizante .

Vilaseca y colaboradores (3) ratificaron la acción esterilizante del cristal violeta y estudiaron la viabilidad de los eritrocitos en la sangre a la que se le añadió colorante, mediante cromó radioactivo. Los resultados obtenidos mostraron que la sangre tratada con cristal

violeta tenía un promedio de vida normal que la hacía estar dentro de los estándares exigidos internacionalmente. Los autores recomendaron la utilización de una solución anticoagulante que incluya el cristal violeta como agregado a la misma.

Una de las mayores objeciones para el empleo rutinario del cristal violeta en los bancos de sangre, es el desconocimiento de su dosis tóxica máxima, aunque se conoce el empleo de esta sustancia en dosis hasta de 5 a 7 mg/kg/día, sin que provoque reacciones indeseables.

## C A P I T U L O I I

### MATERIAL Y METODOS

Se recolectaron 150 muestras de suero de donadores de sangre registrados en el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea. Del total de muestras se formaron dos grupos, el primero de 100 muestras pertenecientes a donadores remunerados, y el segundo de 50 muestras, pertenecientes a donadores altruistas.

Los sueros fueron conservados en tubos de ensaye rotulados con el número de registro que se asignó a cada donador, a una temperatura de -20°C, hasta el momento de la determinación.

La técnica utilizada fue la de microhemaglutinación indirecta, con equipo de reactivos ESTABILGEN HEMOCHAGAS de POLYCHACO, S.A. y se tomó como resultado positivo a todo aquel suero cuyo título de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi fue igual o mayor a 1:16 (41).

El cuadro No. 2 muestra la distribución de los 100 donadores remunerados y los 50 donadores altruistas por su lugar de procedencia.

Los cuadros No. 3 y 4 muestran la distribución de los donadores por edad y sexo respectivamente.

#### 1. OBTENCION DE MUESTRAS.

##### 1.1 MATERIAL.

Tubos de vidrio al vacío (Vacutainer).

CUADRO No. 2

PROCEDENCIA DE LOS DONADORES ESTUDIADOS					
DONADORES REMUNERADOS			DONADORES ALTRUISTAS		
PROCEDENCIA	No.	%	PROCEDENCIA	No.	%
Distrito Federal	49	49	Distrito Federal	31	62
Edo. de México	12	12	Oaxaca	4	8
Puebla	7	7	Michoacán	3	6
Veracruz	5	5	Puebla	3	6
Michoacán	4	4	Edo. de México	2	4
Guanajuato	3	3	Guanajuato	2	4
Oaxaca	3	3	Veracruz	2	4
Chiapas	2	2	Guerrero	1	2
Guerrero	2	2	Hidalgo	1	2
Hidalgo	2	2	Jalisco	1	2
San Luis Potosí	2	2			
Aguascalientes	1	1			
Jalisco	1	1			
Morelos	1	1			
Nuevo León	1	1			
Sonora	1	1			
Tabasco	1	1			
Tamaulipas	1	1			
Tlaxcala	1	1			
Zacatecas	1	1			
TOTAL	100	100%	TOTAL	50	100 %

CUADRO No. 3

DISTRIBUCION POR SEXO DE LOS DONADORES ESTUDIADOS							
DONADORES REMUNERADOS				DONADORES ALTRUISTAS			
Masculino		Femenino		Masculino		Femenino	
No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
84	84	16	16	40	80	10	20
Total de muestras:100				Total de muestras; 50			

CUADRO No. 4

DISTRIBUCION POR EDADES DE LOS DONADORES ESTUDIADOS				
EDAD (Años)	DONADORES REMUNERADOS		DONADORES ALTRUISTAS	
	No.	%	No.	%
Hasta 20	3	3	3	6
21 a 30	45	45	23	46
31 a 40	36	36	22	44
41 a 50	15	15	2	4
Mayores de 50	1	1	-	-
T O T A L	100	100%	50	100%

Agujas para Vacutainer.

Ligadura.

Torundas con alcohol.

Aplicadores.

Pipetas Pasteur con bulbo.

Tubos de ensayo de 12 X 75.

Gradilla.

Centrífuga.

Congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## 1.2 PROCEDIMIENTO.

1. Se tomaron 10 ml de sangre por venopunción en tubos Vacutainer, debidamente rotulados.
2. Se dejó en reposo la muestra de sangre hasta la formación del coágulo.
3. Se removió el coágulo con un aplicador suavemente para evitar hemólisis.
4. Se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos.
5. Se transfirió el suero, utilizando pipetas Pasteur, a tubos de ensayo de 12 X 75.
6. Se congeló el suero a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  para su conservación.

## 2. TECNICA DE MICROHEMAGLUTINACION INDIRECTA.

### 2.1 MATERIAL.

Tubos de ensayo de 12 X 75.

Gradillas.

Pipetas de 1 ml.

Microgoteros descartables de 25 microlitros.

Microdilutores de 25 microlitros.

Microgotero de 25 microlitros no descartable.

Placas de microtitulación.

Matraz Erlenmeyer de 50 ml.

Vasos de precipitados de 100 ml.

Papel filtro.

Baño de agua a 56°C.

Estufa a 37°C.

Foco de luz y espejo para lectura de placas.

### 2.2 REACTIVOS.

Antígeno de hemaglutinación indirecta para Chagas proveniente del equipo de reactivos de marca comercial Estabilgen (Polychaco). Se presenta como eritrocitos recubiertos con el antígeno (eritrocitos sensibilizados).

Diluyente para hemaglutinación indirecta estabilizado para Chagas de la misma marca comercial. Consiste en un buffer de fosfatos con pH de 7.2 a 7.3.

2-Mercaptoetanol.



Eritrocitos de carnero estabilizados, no sensibilizados.

Suero control negativo inactivado a 56°C.

Suero control positivo.

Solución salina isotónica.

Agua destilada.

### 2.3 PREPARACION DE REACTIVOS.

1. El antígeno (eritrocitos sensibilizados) se agitó energicamente - antes de usarse, hasta obtener una suspensión homogénea.
2. Por cada 10 ml de solución diluyente se le agregaron 0.50 ml de - suero control negativo inactivado a 56°C.
3. Se preparó una solución de 2-Mercaptoetanol 1:100 en solución salina isotónica.
4. Se agitaron enérgicamente los eritrocitos de carnero estabilizados, no sensibilizados, hasta obtener una suspensión homogénea.

### 2.4 PROCEDIMIENTO.

1. Se trató cada suero con la solución de 2-Mercaptoetanol de la siguiente manera:
  - a. Se colocó con un microgotero descartable de 25 microlitros, para cada muestra, una gota de suero problema en el pozo de la columna 1 de la primera fila (fila A), se continuó depositando los sueros en las siguientes filas hasta la H, continuando con los pozos de la columna 7 de la fila A hasta la H, para cada placa, hasta completar las 150 muestras de suero más un suero

control positivo y un suero control negativo, ocupando un total de 10 placas (Fig. No. 6).

- b. Se agregó a cada suero, con un microgotero descartable de 25 mi crolitros, una gota de la solución de 2-Mercaptoetanol 1:100.
  - c. Se selló cada placa con cinta adhesiva y se agitó cada una suavemente, para homogeneizar la muestra.
  - d. Se incubaron las placas durante 40 minutos a 37°C.
  - e. Se retiró la cinta adhesiva de cada placa.
2. Se colocó con un microgotero de 25 microlitros, una gota de diluyente a partir del segundo pozo (columna 2 y 8), hasta el sexto pozo (columna 6 y 12) de todas las filas, que correspondió al título de 1:64 (Fig. No. 6).
3. Se colocó un microdilutor de 25 microlitros en cada pozo de la columna 1, con el objeto de hacer las diluciones de las muestras. Se giraron los microdilutores entre ambas manos de 10 a 12 veces. Esta operación aseguró una perfecta homogeneización de las muestras. Se transfirieron los microdilutores a la siguiente columna y se repitió la misma operación hasta llegar a la dilución 1:64 (columna 6), y de esta última columna se retiraron los microdilutores, se secaron en papel filtro, se sumergieron sucesivamente en tres vasos de precipitados con agua destilada y se secaron en papel filtro para utilizarlos nuevamente. Se repitió la misma operación con la mitad restante de los pozos (columna 7 a la 12), obteniéndose diluciones de 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 y 1:64 para

cada muestra de suero (Fig. No. 7).

4. Se depositó con un microgotero de 25 microlitros una gota de -- suspensión de eritrocitos de carnero no sensibilizados en los -- pozos de las columnas 1, 2, 7 y 8 de todas las filas de las plcas utilizadas.
5. Se depositó con un microgotero de 25 microlitros una gota de -- suspensión de antígeno (el cual viene adherido a eritrocitos) -- en los pozos restantes de todas las placas.
6. Se agitaron la placas, golpeando con los dedos sobre sus pare-- des laterales, un mínimo de 30 segundos.
7. Se dejaron las placas en reposo, a temperatura ambiente, a res-- guardo de vibraciones y selladas, durante dos horas.
8. Se efectuó la lectura en el espejo para lectura de placas, ilu-- minando cada una de éstas desde arriba e interponiendo un papel translúcido entre la fuente de luz y las placas.

FIGURA No. 6

DISTRIBUCION DE LAS MUESTRAS EN LAS PLACAS

Diluciones:

Diluciones:

	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	sueros problema
B	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
C	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
D	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
E	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	suero control positivo
F	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
G	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
H	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	

sueros problema

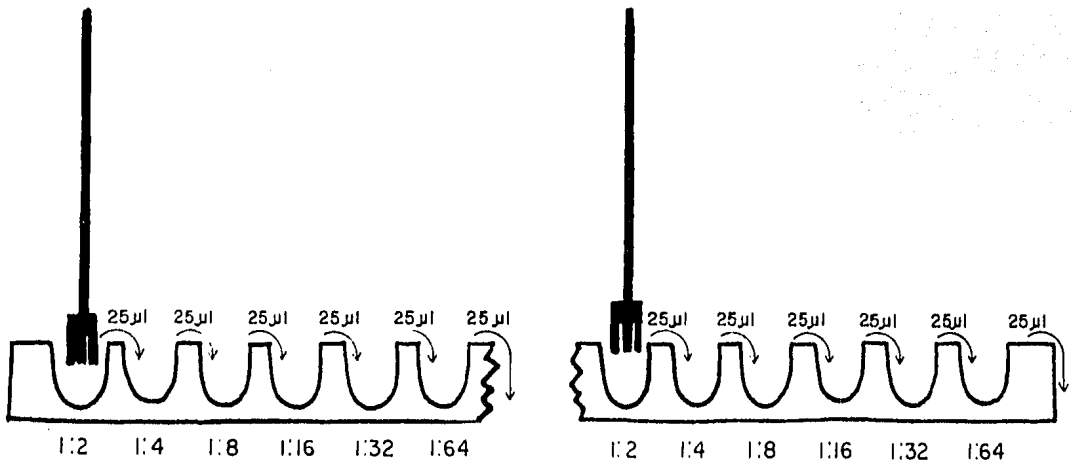
sueros problema

suero control positivo

suero control negativo

FIGURA No. 7

ESQUEMA DE MICROTITULACION



## C A P I T U L O I V

### RESULTADOS Y COMENTARIOS

#### 1. RESULTADOS.

De las 150 muestras de suero estudiadas para determinar anticuerpos contra Trypanosoma cruzi, una muestra mostró un título positivo de 1:64 (última titulación realizada en nuestro estudio), lo que nos dá un porcentaje de 0.75% de seropositividad para Chagas entre los donadores de sangre.

La muestra seropositiva correspondió a un donador remunerado, de -- sexo masculino, de 28 años de edad, proveniente de Tabasco, estado -- de conocida endemia chagásica. Sus condiciones de vivienda antes de trasladarse a la ciudad, eran precarias, conoce los triatóminos y afirmó haber sido picado por ellos en varias ocasiones. Como se dijo anteriormente, este donador pertenece al grupo de los donadores remunerados y cae dentro del 51% que tiene su lugar de nacimiento fuera del Distrito Federal.

El porcentaje obtenido es relativamente significativo, ya que se están tomando en cuenta ambos grupos de donadores, remunerados y altruistas, y para nuestro propósito son de mayor importancia los donadores remunerados, ya que donan su sangre constantemente (por lo menos cada 45 días) (43), a su vez, los donadores altruistas lo hacen oca-

sionalmente o una sola vez en su vida.

Si se toma en cuenta el porcentaje de seropositividad de cada grupo, entonces tenemos un 1% de seropositividad en el grupo de donadores - remunerados.

## 2. COMENTARIOS.

Como se ha mencionado anteriormente, la transfusión de sangre es el segundo mecanismo de transmisión de la enfermedad de Chagas, lo que no tendría gran trascendencia, si las personas portadoras de dicha - parasitosis, mantuvieran su residencia definitiva en las zonas de en - demia, delimitando así el padecimiento, facilitando además su profi - laxis y control.

El peligro de que esto no ocurre así, se basa en que cada día hay - una mayor migración de personas (generalmente campesinos) hacia los centros urbanos en busca de mejores condiciones de vida, provenientes en gran parte de zonas endémicas, lo que la está convirtiendo en una parasitosis urbana. Si a lo anterior agregamos que muchas de estas - personas, para ayudarse a subsistir en las ciudades, venden su sangre y lo hacen por lo menos cada 45 días si se trata de sangre total o ca - da 15 días si es plasma (43), la posibilidad de transmisión por vía - transfusional es mucho mayor.

El 0.75% de seropositividad obtenido en nuestro estudio, cifra muy ba - ja comparada con la registrada en el Banco de Sangre del Hospital Uni

versitario de Puebla (19), probablemente es debido al uso del 2-Mercaptoetanol, utilizado para evitar resultados falsos positivos causados por la presencia de anticuerpos heterófilos, pero que con frecuencia produce un decremento importante en la reactividad específica, disminuyendo el título de la reacción, aún así sugiere un riesgo que no debe menospreciarse, por la frecuencia con que este tipo de individuos venden su sangre.

Por otro lado, se muestra acorde con algunas de las cifras observadas en Sudamérica (Cuadro No. 1); por ejemplo en Brasil, las cifras de donadores infectados con Trypanosoma cruzi son variables de acuerdo a las diferentes regiones y al tamaño de las ciudades, así en la gran ciudad de Sao Paulo, oscilan de 1.0% a 4.0%; y el Chile, se han encontrado cifras de seropositividad desde 2.0% en algunos bancos de sangre de Santiago (12)(15)(16)(18).

En este estudio podemos observar que el 51% de los donadores remunerados de la ciudad de México estudiados, son procedentes de diferentes estados de la República Mexicana, y de ellos, los procedentes de zonas de mayor endemia como Oaxaca, Chiapas, Tabasco, Guerrero y Jalisco, constituyen el 20%.

Estamos concientes de que este estudio inicial carece de validez científica por varias razones:

1. La muestra es pequeña.
2. Probable disminución de la reactividad de la prueba producida la adición del 2-Mercaptoetanol.



3. No se utilizó otra técnica que hubiera servido de comparación - con los resultados obtenidos con la técnica que aplicamos.

No obstante y tomando en consideración el antecedente de estudios similares en nuestro país, y pese a la bajísima frecuencia de seropositividad encontrada en este estudio, consideramos útil llamar la atención una vez más sobre el riesgo potencial de utilizar sangre para transfusiones, provenientes de donadores infectados.

Por tal razón, es deseable continuar esta investigación en mayor - escala y corrigiendo las fallas que tuvimos en este primer estudio.

C A P I T U L O V

BIBLIOGRAFIA

1. Cerisola, J.A., Ravinovich, A. "Enfermedad de Chagas y la Transfusión de sangre". Bol. Of. Sanit. Panamer. 73/203-221 (1972).
2. Rohwedder, R.N. "Infección chagásica en dadores de sangre y las probabilidades de transmitirla por medio de la transfusión". Bol. Chil. Parasitol. 24/1-2-/88-93 (1969).
3. Vilaseca, G.C. Cerisola, J.A. "The use of cristal violet in the prevention of the transfusional transmission of Chagas-Mazza" -- Vox Sang. 11/711-716 (1966).
4. Stagano, S., Kierm, F. "EL test de inmunofluorescencia indirecta aplicado al diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas". Bol. Chil. Parasitol. 35/28-32 (1980).
5. Lorca, M., Atías, A. "Infección por Trypanosoma cruzi en bancos de sangre de doce hospitales de Chile". Bol. Of. Sanit. Panamer. 95/4/321-325 (1983).
6. Sanchez de , N.R., Marinkelle, C.J. "Prevalencia de anticuerpos fluorescentes contra tripanosoma en pacientes de algunos hospitales de Bogotá, Colombia". Rev. Microb. 21/27-29 (1979).
7. Rose, N.R., Friedman, H.

2nd. Edition

American Society for Microbiology.

Washington D.C. (1980).

8. Neal, R.A., Miles, R.A. "Indirect hemagglutination test for Chagas disease, with a simple method for survey work". Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo. 12/5/325-332 (1970).
9. Vattuone, H., Pesce, V.J. "Evaluación de un antígeno de aglutinación de epimastigotes de Trypanosoma cruzi". Bol. Chil. Parasitol. 26/1/7-10 (1971).
10. Baldy, J.L. da S., Takaoka, L. "Doença de Chagas por Transfusae - de sangue em Londrina, Paraná. Relato de dois casos agudos tratados com Nifurtimox". Rev. Inst. Med.trop. Sao Paulo. 21/1/155-159 (1979).
11. Goldsimth, R.S., Zárate, R. "El potencial de la transmisión en la enfermedad de Chagas por transfusión sanguínea: hallazgos serológicos entre donadores en el estado de Oaxaca". Salud Pública de México. 20/4/439-443 (1978).
12. Lorca, M., Astorga, B. "Investigación de la enfermedad de Chagas mediante la reacción de inmunofluorescencia indirecta en diversos bancos de sangre". Rev. Med. Chile. 107/6-8 (1979).
13. Baruffa, G. "Prevalencia da infeccao chagásica no banco de sangue da Santa Casa de Misericordia de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil". Rev. Inst. Med.trop. Sao Paulo. 21/1/37-49 (1979).

14. Guhl, F., Canosa, A. "Estudio serológico sobre la incidencia de donantes chagásicos en cuatro bancos de sangre de la ciudad de Bogotá". Rev. Lat-amer. Microbiol. 21/225-227 (1979).
15. Meza, C., Contreras, M.G. "Enfermedad de Chafas en Chile. Sectores Urbanos I. Prevalencia de la infección chagásica en dadores de sangre de un hospital del sector norte de la Región Metropolitana". Bol. Chil. Parasit. 37/63-65 (1982).
16. Sagua, H., Araya, J. "Seropositividad chagásica en banco de sangre de zona endémica. Algunos aspectos epidemiológicos de los hemodonantes". Bol. Chil. Parasit. 37/24-26 (1982).
17. Schenone, H., Rubinstein, P. "Infección por Trypanosoma cruzi en dadores de sangre en un hospital de Santiago, Chile". Bol. Parasit. 23/83-84 (1968).
18. Rojas, R., Contreras, M.C. "Enfermedad de Chagas en Chile. Sectores Urbanos II. Prevalencia de la infección chagásica en dadores de sangre del hospital de Copiapó". Bol. Chil. Parasit. 38/26-28 (1983).
19. Bayona, C., Velasco, C.O. "Enfermedad de Chagas en donadores de sangre del Hospital Universitario de Puebla, México". Sal. Pub. Mex. (en prensa) (1984).
20. Oliveira, J. de A. "Técnica de la reacción de fijación de complemento en gotas para excluir donadores de sangre chagásicos". Bol. Of. Sanit. Panam. 55/2/133-145 (1963).

21. Knierim, F., Rubinstein, P. "The detection of Chagas disease. A rapid haemagglutination test for special use in blood banks and epidemiological studies". Vox. Sang. 18/280-286 (1970).
22. Velasco, C.O., Sánchez, B. "Defunciones por enfermedad de Chagas en México". Sal. Pub. Mex. (en prensa) (1984).
23. Brener, Z. "Simposio sobre nuevos enfoques en la investigación de la tripanosomiasis americana". Bol. Of. Sanit. Panam. 83/2/106-116 (1977).
24. Tay, J. "La enfermedad de Chagas en la República Mexicana". Sal. Pub. Mex. 22/4/409-450 (1980).
25. Salazar, S.P.M., Haro, I. de "Dos nuevas localizaciones de transmisores de la enfermedad de Chagas en la República Mexicana". Sal. Pub. Mex. 25/1/77-82 (1983).
26. Pillot, J., Peltier, A.P.  
TECNICAS EN INMUNOLOGIA  
Primera Edición  
Exámenes de Laboratorio  
Editorial Jims  
Barcelona (1976).
27. Soberón y P., G., Pelaez, F.D.  
NOCIONES DE PARASITOLOGIA MEDICA Y PATOLOGIA TROPICAL  
Editor Francisco Méndez Oteo  
México D.F. (1977).

28. Tay, Z.J., A.R., Velazco, C.O., Gutierrez, Q.M.

PARASITOLOGIA MEDICA

Editor Francisco Méndez Cervantes

México D.F. (1980).

29. Salazar, S.P.M., de Haro, A.I.

MANUAL DE TECNICAS PARA EL DIAGNOSTICO MORFOLOGICO DE LAS PARASITOSIS.

Primera Edición

Editor Francisco Méndez Cervantes

México D.F. (1980).

30. Faust, E.C., Farr. R.P., Clifton, J.R.

PARASITOLOGIA CLINICA

Primera Edición

Salvat Editores, S.A.

Barcelona (1974).

31. Lynch, M.J., Raphael, S.S., Mellor, L.D., Spare, P.D.

METODOS DE LABORATORIO

2a. Edición.

Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V.

México, D.F. (1972).

32. Thomas, C.C.

GENERAL PARASITOLOGY

Academic Press

- N.Y. (1973).
33. Stagno, S., Hurtado, R. "Enfermedad de Chagas congénita. Estudio inmunológico y diagnóstico mediante inmunofluorescencia con anti-IgM". Bol. Chil. Parasit. 28/20-27 (1971).
34. Tesis presentada por García Robles Verónica.  
"Estudio serológico de la enfermedad de Chagas utilizando muestras de sangre en papel filtro".  
Facultad de Química, U.N.A.M. (1979).
35. Freund, J.E., William, F.J.  
ELEMENTOS MODERNOS DE ESTADISTICA EMPRESARIAL  
Editorial Prentice Hall Internacional  
New Jersey (1973).
36. Enfermedad de Chagas en México.  
Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste.  
Conclusiones de un grupo de estudio. Junio de 1977.  
No. 1 Serie Documentos.  
San Cristobal de las Casas, Chiapas, México.
37. Fudenberg, H.H. Stites, D.P., Caldwell, J.L., WELLS, J.  
INMUNOLOGIA CLINICA  
Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.  
México, D.F. (1980).
38. Carpenter, P.L.  
INMUNOLOGIA Y SEROLOGIA

2a. Edición

La Prensa Médica Mexicana, S.A.

México, D.F. (1982).

39. Mollison, P.L.

BLOOD TRANSFUSION IN CLINICAL MEDICINE

6th. Edition

Blackwell Scientific Publications

N.Y. (1979).

40. Markell, E.K., Voge, M.

PARASITOLOGIA

Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.

México, D.F. (1984).

41. Normas de Control de la Enfermedad de Chagas

Ministerio de Salud Pública

República Argentina, (1982).

42. Velazco, C.O.

Monografía de la Enfermedad de Chagas

Dirección General de Epidemiología, S.S.A.

México, D.F. (1980).

43. Ley General de Salud

Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario de la disposición de órganos, tejidos y cadáveres de seres humanos.



Artículo 48, Fracción VI.

Diario Oficial, 20 de Febrero de 1985.

44. Comunicación verbal del Dr. Oscar Velazco Castrejón.

45. Mazza, S., Montana, A. "Transmisión de Schizotrypanum cruzi al -  
niño por leche de la madre con enfermedad de Chagas". M.E.P.R.A.  
28/41-53 (1936).