

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“Seroreactividad a *Trypanosoma cruzi* en
muestras sanguíneas de mujeres embarazadas
en Tuxpan, Veracruz”.**

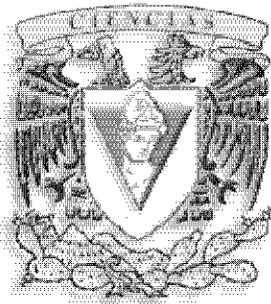
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

CITLALLI AZUCENA MANJARREZ ALVA



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

TUTORA: ADELA LUISA RUIZ HERNÁNDEZ

2006



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 esta 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.

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumno
Manjarrez
Alva
Citlalli Azucena
52 50 43 44
Universidad Nacional Autonoma de Mexico
Facultad de Ciencias
Biologia
097268978
2. Datos del tutor
Med Cir
Adela Luisa
Ruiz
Hernandez
3. Datos del sinodal 1
Dra
Paz Maria Silvia
Salazar
Schettino
4. Datos del sinodal 2
M en C
Martha Irene
Bucio
Torres
5. Datos del sinodal 3
M en C
Yolanda
Guevara
Gomez
6. Datos del sinodal 4
Biol
Leticia Araceli
Ruiz
Gonzalez
7. Datos del trabajo escrito.
Seroreactividad a Trypanosoma cruzi en muestras sanguineas de mujeres embarazadas en Tuxpan Veracruz
61 p
2006

*Nuestra vida es un instante entre dos eternidades.
Mi vida son ustedes los amo eternamente.*

Javier Antonio Manjarrez Hernández

*En memoria a mi padre Javier Antonio Manjarrez Hernández (1918-1996) y
mi abuelo Raúl Alba Hernández (1933-2005), dos grandes ejemplos de vida.*

A mis Padres, Maricela Alva Luévano y Javier A. Manjarrez Hernández por brindarme la vida e instruirme a enfrentarla con amor y respeto, pero sobre todo por su gran amor incondicional e incomparable.

Al Sr. Aurelio Arce por acompañar en todo momento a mi mamá y por estar siempre ahí cuando lo he necesitado.

A mis Abuelos Raúl (cape) porque siempre estarás presente en mis pensamientos y en mi corazón y a mi tita Esther, por todo su cariño y por ser la base de ésta gran familia.

A mis hermanos Oscar e Itzel (la próxima eres tu) por compartir toda una vida llena de momentos inolvidables, por su amor y apoyo. Los quiero muchísimo.

A Fati y a Oscar por convertirme en la tía más feliz de dos increíbles personitas Javier y Julieta a quienes quiero y adoro, mis niños no olviden que siempre pueden contar conmigo.

A mis tíos: Eduardo-Blanca, Patricia, Guadalupe-Ernesto, Raúl-Sandra, Enrique-Verónica y Francisco, porque siempre he obtenido su amor, apoyo y consejos.

A todos mis primos y sobrinos. En especial a Nadia y Carlos por ser los papás de Ana Paula, Nads te quiero mucho mucho al igual que a tu pequeña familia. A Eduardo, Omar, Michelle y Octavio por considerarme un ejemplo en su vida.

A mis amigos de Valle: Erika, Aarón y Erick.

Por último a mis amigos de toda la vida: Miriam, Meri, Carlos, Alfonso y Daniel.

Para ustedes todo mi amor y gratitud, porque sé que siempre estarán ahí.

Al Comité de Sinodales:

Dra. Paz María Salazar Schettino, por saber llevar de la mano a un gran equipo de trabajo, ser una investigadora apasionada y una excelente persona. Gracias por el cariño mostrado.

A Adela Ruiz mi tutora, porque desde un principio pensó en que formara parte del laboratorio y del proyecto Chagas CONNATAL. Gracias por el tiempo dedicado a revisar esta tesis y compartir lo que sabes.

M. en C. Martha Bucio por el conocimiento transmitido y los momentos tan amenos dentro y fuera del laboratorio.

M. en C. Yolanda Guevara por la disposición, tiempo y paciencia para revisar este trabajo.

Biól. Leticia Ruiz por el tiempo en la realización de IFI y aceptar ser parte del Jurado.

Dra. Guadalupe García de la Torre por sus comentarios y propuestas para mejorar esta tesis.

A los Servicios de Salud del Estado de Veracruz en particular a la Dra. Lucía Rosales Jiménez Coordinadora de Control y Prevención de Enfermedades de la Jurisdicción Sanitaria No. 2 de Tuxpan, Veracruz y a todo su equipo de trabajo médicos, personal de enfermería y de laboratorio

Al grupo de investigadoras, compañeros y amigos del laboratorio: M. en C. Gloria Rojas, M. en C. Margarita Cabrera, Alice, Nelia, Laurita, Elia, Santiago, Lorena, Hugo, Vicente, Mauro, Celeste, Erick, Chabe y Evita.

Al financiamiento brindado por PAPIIT proyecto IN219103.

A todos mis amigos y compañeros de la Facultad de Ciencias por su amistad y compañía pues sin ustedes nada hubiera sido igual: Morena, Fabricio, Natalia, Andrex, Martín, Agustina, Ana, Fabiola Villela, Fabiola Rojas, Paulina, Iván Chirino, Adina, Mariana Tatjuana, Leonora, Carlitos, Eugenia, Ianis, Andrés, Quique, Yosa, Gerardo, Juan Carlos, Daniel, Adal y ... a todos los que saben son mis amigos.

Sin olvidar por supuesto a la UNAM y la Facultad de Ciencias, por ayudar en mi formación académica y seguir formando parte de ella.

Gracias

ÍNDICE

1. ENFERMEDAD DE CHAGAS	
1.1 Mecanismos de transmisión	10
1.2 Transmisión congénita	11
1.2.1 Otros mecanismos de transmisión	14
1.3 Agente etiológico	15
1.3.1 Morfología	15
1.4 Agente transmisor	18
1.4.1 Reservorios	20
1.4.2 Ciclo biológico	21
1.5 Patogenia	23
1.5.1 Patología	24
1.6 Respuesta inmune	25
1.7 Cuadro clínico	27
1.7.1 Fase aguda	27
1.7.2 Fase indeterminada	28
1.7.3 Fase crónica	28
1.8 Diagnóstico	29
1.8.1 Métodos parasitológicos	30
1.8.2 Métodos inmunoserológicos	31
1.9 Tratamiento	33
2. JUSTIFICACIÓN	35
2.1 HIPÓTESIS	36
2.2 OBJETIVO GENERAL	37
2.2.1 Objetivos particulares	37
3. METODOLOGÍA	38
3.1 Área de estudio	38
3.2 Criterios de inclusión y eliminación	41
3.3 Obtención de la muestra	41
3.3.1 Tamizaje	41
3.3.2 Confirmación	42
3.4 Pruebas serológicas	43
3.4.1 Técnica de ELISA indirecta	43
3.4.2 Inmunofluorescencia (IFI) indirecta	44
4. RESULTADOS	46
5. DISCUSIÓN	51
CONCLUSIONES	55
PROPUESTAS	56
ANEXOS	57
BIBLIOGRAFÍA	58

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es también conocida como tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas-Mazza; debe su nombre al emérito e ilustre investigador brasileño Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas, quien en 1909 describe por primera vez dicha enfermedad, en Minas Gerais, Brasil⁽¹⁾.

La tripanosomiasis americana es una antropozoonosis endémica en América causada por el parásito hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. Esta enfermedad constituye un importante problema de Salud Pública en gran número de países de América Latina, principalmente en Argentina, Brasil, Bolivia, Colombia, Uruguay, Chile, Perú, Ecuador, Venezuela, Panamá, Costa Rica, El Salvador, Guatemala y México, entre otros. El área de endemicidad para la enfermedad de Chagas comprende desde la latitud 42° N en Estados Unidos, hasta el paralelo 34° S en Chile y el 42° S en Argentina^(2,3).

A finales de la década de los 80's se estimó que en las áreas endémicas residían alrededor de 90 millones de personas, de las cuales de 16-18 millones estaban infectadas con este parásito^(4,5). Por su parte Hayes, R. J. y Schofield, C. J. estiman que más de 24 millones de individuos están infectados y provoca la muerte de 50,000 de ellos al año^(5,6,7). La Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1991 señaló que existen 150 millones de habitantes que están en riesgo de adquirir la infección⁽⁸⁾.

La enfermedad de Chagas está asociada directamente con factores socioeconómicos, particularmente con personas de escasos recursos y que viven en condiciones higiénico-sanitarias deficientes; este padecimiento es una patología crónica que deteriora y pone en riesgo la calidad de vida del individuo, convirtiéndose en una enfermedad discapacitante que se refleja directamente en el desarrollo socioeconómico de cada país^(5,9).

Como antecedentes en México, uno de los datos más importantes sobre la enfermedad, es el que reporta Mazzotti, L. en 1940, él refiere los dos primeros casos humanos en fase aguda; así como los dos primeros vertebrados infectados por el parásito⁽¹⁰⁾. Para la década de los 90's se conocían en el país cerca de 300 casos clínicos en etapa crónica, específicamente cardiomiopatías⁽⁹⁾. Schofield, C. J. (1985) estimó que cerca de 4 millones de personas podían estar infectadas en México; sin embargo, el estudio realizado a través de la Encuesta Nacional de Seroepidemiología (ENSE) en 1987, confirmó una distribución

irregular de la enfermedad de Chagas en el país, con un rango de seroprevalencia entre el 5 y 20% en el área rural⁽⁹⁾. En zonas urbanas, los estudios realizados en bancos de sangre muestran una seroprevalencia entre el 0.28 y el 17 %⁽¹¹⁾. En 1984 Salazar, S.⁽¹²⁾ reporta el primer caso de megaesófago con serología positiva; Tay, J. en 1986 el primer de megacolon⁽¹³⁾, y en 1989 Salazar, S. y cols. describen el primer caso de transmisión por transfusión sanguínea⁽¹⁴⁾. El reporte del primer caso de transmisión congénita en México fue hecho por Guzmán, B. y cols. en 1998⁽¹⁵⁾.

En el año 2000, Schofield, C. J. calcula que en el territorio mexicano existe una seroprevalencia de 540,000 casos con 10,854 casos nuevos por año⁽⁶⁾.

En México es aún desconocida la seroprevalencia de esta enfermedad en las diferentes áreas por lo que no se puede hablar de alta o baja endemicidad; la mayoría de los estudios que se han realizado son de tipo epidemiológico y algunos han estado dirigidos a la identificación de los principales triatomíneos transmisores; así como, del comportamiento biológico que muestran en el domicilio y peridomicilio humano^(16,17). Otros estudios buscan determinar la seroprevalencia a *T. cruzi* en diversos grupos poblacionales en localidades de las diferentes entidades federativas.

Usualmente el hemoflagelado es transmitido al hombre por un insecto vector hematófago, pero se describen al menos dos mecanismos de infección, además del vectorial, el transfusional y el transplacentario o congénito^(5,18).

RESUMEN

En América Latina existen más de 20 millones de individuos infectados por *Trypanosoma cruzi*. Hay numerosos estudios epidemiológicos sobre la transmisión vectorial y transfusional; en contraste con un menor número sobre la vía vertical. En países como Argentina, Brasil, Chile y Bolivia principalmente, se han realizado estudios seroepidemiológicos dirigidos a la detección de anticuerpos en mujeres gestantes, encontrando datos de infección hasta del 50% y con un riesgo en la transmisión al producto hasta del 10%. En México se carecen de datos epidemiológicos sobre la frecuencia de infección de *T. cruzi* en mujeres embarazadas y además que habiten en áreas donde se ha identificado la presencia del vector. El presente estudio se realizó en 11 Centros de Salud de la Jurisdicción Sanitaria No. 2 de Tuxpan, Veracruz, esta jurisdicción fue identificada por estudios previos como de alta endemicidad. Con la finalidad de conocer la seroreactividad a *T. cruzi*, se estudiaron 3 832 mujeres con diagnóstico clínico de embarazo. El tamizaje se realizó con muestras sanguíneas obtenidas en papel filtro y procesadas mediante la prueba de ELISA indirecta. Los casos reactivos en el tamizaje, se confirmaron en suero, utilizando las técnicas de ELISA indirecta e Inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se encontraron 18 (0.46%) mujeres seropositivas a ambas pruebas. El Centro de Salud que mostró el mayor número de casos seropositivos fue el de Tuxpan con 11 mujeres (0.28%) y en la valoración electrocardiográfica de los 18 casos, 7 (38.8%) mostraron registros con diversos grados de anomalías compatibles con miocardiopatía chagásica. Las mujeres seropositivas representan un importante factor de riesgo en la transmisión de la infección en las distintas formas que se conocen: vectorial, transfusional y congénita; es decir, como fuente de infección para el transmisor, como riesgo en la hemodonación, no solo en la zona de residencia, sino a través de migraciones hacia áreas exentas de la enfermedad y la transmisión en futuros embarazos. A medida en que sean controladas la vía vectorial y transfusional, la transmisión congénita podría surgir como una enfermedad emergente.

1. ENFERMEDAD DE CHAGAS

1.1 Mecanismos de transmisión

El mecanismo de transmisión más importante mediante el cual el humano y otros mamíferos son infectados, es a través de las deyecciones de los triatominos, conocido como **transmisión vectorial**. Estos insectos colonizan áreas de escasos recursos, asentándose en zonas rurales, ya que en estos sitios se pueden encontrar casas infestadas por cientos de triatominos. Existen diversas especies las cuales tienen diferentes comportamientos y ecotopos, por lo que no invaden las habitaciones del hombre, estas especies son de distribución selvática; sin embargo, dichas especies pueden llegar a abandonar ese hábitat natural e invadir el espacio doméstico, por lo que eventualmente pueden transmitir el parásito al hombre y a otros mamíferos⁽¹⁹⁾.

Más del 80 % de los casos de la enfermedad de Chagas en áreas endémicas del Sur y Centro América se deben a las especies domiciliadas *Triatoma dimidiata*, *Rhodnius prolixus*, *T. sordida*, *Panstrongylus megistus*, *T. brasiliensis* y *Triatoma infestans* siendo esta última la especie más importante en los países del Cono Sur⁽¹⁹⁾.

En la República Mexicana los principales triatominos vectores de *Trypanosoma cruzi* pertenecen al Género *Triatoma*, específicamente a los complejos *Phyllosoma* entre las que se encuentran: *T. dimidiata*, *T. pallidipennis*, *T. mazzotti*, *T. picturata*, *T. longipennis* y *T. phyllosoma* y al complejo *Protacta* en el que se incluye a *T. barberi*^(11,20).

El segundo mecanismo en orden de importancia corresponde a la **transmisión sanguínea**. Este mecanismo cobró gran relevancia debido a que en algunos países como Argentina y Brasil, plantearon establecer un estricto control en la transmisión vectorial, además de contar con el apoyo de programas continuos de Salud Pública. Se observó que en áreas no endémicas existe un gran número de personas infectadas; lo cual puede deberse a que estos individuos habitaron áreas endémicas y migraron hacia zonas urbanas, con la posibilidad de ser un hemo donante, aumentando el riesgo de transmisión por transfusión e incluso riesgo en otros países donde la enfermedad no existe⁽¹⁹⁾.

1.2 Transmisión Congénita (motivo de este trabajo)

También denominada Chagas CONNATAL o transmisión vertical.

La transmisión congénita fue originalmente descrita por Carlos Chagas en 1911 en niños mellizos en los que identificó a *Trypanosoma cruzi* en sangre periférica, posteriormente realizó un mayor número de estudios en su laboratorio sobre esta vía de transmisión en el lapso de 1914 a 1936^(19,21).

Este mecanismo de transmisión ha sido señalado por varios autores, entre ellos, Dao, L. en Venezuela en 1949, quien describe el primer caso humano de la enfermedad de Chagas congénita en ese país, generando así la proyección hacia nuevos estudios en países como Chile, Argentina y Brasil^(19,21).

Los primeros casos descritos en Argentina fueron hechos por Jorg y Romaña en 1953. En Chile, Howard, J. E. publica los primeros casos de transmisión transplacentaria; mientras que en Brasil, Rezende, J. y Bittencourt, A. L. lo hacen en 1959^(22,23,24,25).

En la década de los 70's Bittencourt, A. L. y cols, demostraron la presencia del parásito mediante el hallazgo de *T.cruzi* en estudios anatomopatológicos de fetos y mortinatos^(23,25,26).

La enfermedad de Chagas congénita, constituye por sí misma un problema de Salud Pública ya que se considera dentro de los grandes desafíos de lucha contra la endemia chagásica en América Latina⁽²⁷⁾.

Se ha observado que la transmisión vertical tiende a mostrar un incremento considerable, a medida que la transmisión vectorial y transfusional han sido controladas mediante programas de vigilancia y control. Es así que la transmisión vertical se plantea a futuro como un mecanismo y un riesgo con el nacimiento de niños infectados, persistiendo casos de esta enfermedad, aún cuando se hubieran eliminado las otras dos vías de transmisión⁽²⁸⁾. Esto puede reflejarse en la prevalencia de seropositividad a *T. cruzi* en mujeres embarazadas en diferentes países de Sudamérica, la cual varía considerablemente entre el 2% y 51% de las reportadas en centros urbanos y del 23% al 81% en algunas áreas

rurales de regiones endémicas; éstas frecuencias varían de acuerdo al área estudiada y la metodología aplicada ^(24,28,29,30).

El índice de prevalencia de la infección chagásica en mujeres embarazadas ha sido analizado por varios autores, en sus reportes consideran la existencia de variabilidad, la cual depende de la región geográfica y las condiciones socioeconómicas de los grupos estudiados⁽⁵⁾, tal como se consideran en los hallazgos de 0.7-4% en Argentina (1995), 10.5 % en Paraguay (1998), 2.1-9.8% en Brasil y 2-21% en Bolivia (1985). En Argentina se reportó para el 2002 una prevalencia de infección por *T. cruzi* en mujeres embarazadas del 6-20% ^(29, 30, 31).

Actualmente en mujeres en etapa gestante la positividad de anticuerpos, contra *T. cruzi* varía entre 4-50 % de acuerdo a la zona. Basándose en los estudios realizados, y estableciendo un promedio, se podría destacar que el riesgo de transmisión de la madre a su hijo oscila entre 1-4% y entre el 0.7-10 % según diversos autores^(5,32).

Estudios realizados en diferentes provincias de la República de Argentina señalan seroprevalencias variables, en el caso de Ushuaia, la cual tiene la particularidad de ser una zona libre de triatomíneos, donde de 1311 muestras analizadas de mujeres gestantes se obtuvieron 78 reactivas (5.9%). Para la mayoría de las provincias endémicas argentinas la transmisión vectorial se aproxima al 9%⁽³³⁾. En Santiago del Estero zona endémica para la transmisión vectorial, se realizó un estudio durante 1998-2002 en el cual obtuvieron 31,602 muestras de mujeres embarazadas, siendo reactivas el 6.93%^(34,35). En un trabajo realizado en 1996 en Salta, se estudiaron 276 embarazadas, el resultado de seroprevalencia fue del 12.3%⁽⁵⁾. En la provincia de Tucumán, en el lapso comprendido de 1992 a 1994 se muestrearon a 16,842 mujeres gestantes, de las cuales 927 (5.5%) resultaron seroreactivas, determinando los autores un riesgo de infección CONNATAL de 7.1 a 8.8%⁽²⁹⁾.

En Arequipa, Perú, zona endémica de la enfermedad, se realizó un estudio para determinar también la prevalencia en mujeres embarazadas y así documentar casos congénitos. Se analizaron 3,000 muestras entre el 2001-2002 obteniendo una seroprevalencia de 0.73%, dato similar al observado en el estado de Londrina en Brasil que fue de 0.9% en el 2000⁽³⁰⁾.

Los datos previamente asentados muestran un significado valioso para considerar la directriz sobre la transmisión de la infección por vía materna; es necesario comprender que una mujer embarazada e infectada representa un riesgo transmisional.

Durante la etapa gestante las mujeres infectadas que padezcan el proceso, ya sea en fase aguda, indeterminada o crónica, pueden transmitir al parásito, entre el 5° y 9° mes del embarazo, desde que la placenta se involucra con el producto^(5,19). Hoy en día se sabe que la transmisión puede ocurrir en cualquier momento de la gestación, pero es más frecuente a partir del tercer trimestre⁽³⁰⁾.

Los recién nacidos con infección intrauterina presentan distintos grados de morbimortalidad. Las manifestaciones clínicas varían desde neonatos de término y asintomáticos hasta niños prematuros con importante sintomatología y elevada mortalidad. Estas diferencias surgen de estudios realizados en distintas áreas endémicas y no endémicas en las que podrían estar involucradas cepas de *T. cruzi* regionales y el estado nutricional e inmunológico de la madre⁽²⁵⁾.

Este mecanismo de transmisión también puede producir aborto espontáneo, nacimiento prematuro, retraso en el crecimiento, bajo peso y mortinatos⁽⁵⁾.

Cabe mencionar que el recién nacido infectado puede presentar un cuadro agudo típico para la enfermedad de Chagas asociado con manifestaciones de prematuridad y visceromegalia; así como, alta parasitemia y presencia de anticuerpos específicos IgM, aún cuando la prematuridad y el bajo peso no son factores que siempre se encuentren presentes, también se han observado casos de hijos sanos y con enfermedad de Chagas congénita de una madre infectada. En el caso de embarazo gemelar se ha encontrado que la infección puede pasar en uno o ambos productos. En la transmisión CONNATAL el establecer un diagnóstico precoz en la madre y/o producto, y en los casos confirmados la administración del medicamento específico en el momento adecuado es de gran utilidad^(5,19).

Epidemiológicamente en la transmisión congénita es indispensable atender los casos de migración de mujeres en edad fértil desde las zonas rurales hacia las ciudades, ya que la transmisión congénita puede convertirse en un serio problema de Salud Pública⁽³⁰⁾.

Lamentablemente en muchos países endémicos para la enfermedad, no se realizan pruebas de rutina en las mujeres embarazadas ni en sus productos para la detección de la infección por *T. cruzi* ⁽²⁹⁾. En el Cono Sur, por ejemplo, además de Argentina y Brasil, sólo Chile cuenta con programas específicos de vigilancia y control de la transmisión congénita ⁽²⁸⁾.

En relación a México, la enfermedad de Chagas vía transmisión congénita o CONNATAL sólo cuenta con un reporte en la literatura, descrito por Guzmán, C. en 1998 ⁽¹⁵⁾ como el primer caso de transmisión congénita; por lo que hasta este momento se desconoce la seroprevalencia de infección en mujeres embarazadas.

1.2.1 Otros mecanismos de transmisión

- Transmisión oral. Este ocurre cuando un mamífero incluyendo al humano se alimenta de triatominos infectados, o bien, a través de alimentos contaminados con las deyecciones u orina de triatominos.
- Transmisión accidental. Se presenta al hacer un inadecuado manejo de la piel y sangre de animales, medios de cultivo o insectos infectados; ocurre principalmente en personas que trabajan en laboratorios clínicos y de investigación.
- Transmisión por trasplantes de órganos. Dicho mecanismo ha sido demostrado científicamente, y explicado debido a que los pacientes que son trasplantados llevan un tratamiento de inmunosupresores haciendo más susceptible al paciente a que pueda infectarse.
- Transmisión por leche materna. Este mecanismo es muy poco frecuente, el primer reporte fue hecho por Salvador Mazza en 1936 ⁽¹⁹⁾.

1.3 Agente etiológico

Trypanosoma cruzi es un protozoo parásito flagelado cuya ubicación taxonómica es la siguiente:

Reino: Protista

Subreino: Protozoa

Phylum: Sarcomastigophora

Subphylum: Mastigophora

Clase: Zoomastigophorea

Orden: Kinetoplastida

Suborden: Trypanosomatina

Familia: Trypanosomatidae

Género: *Trypanosoma*

Especie: *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909)

Clasificación tomada de Levine, et al⁽³⁶⁾.

1.3.1 Morfología

Trypanosoma cruzi presenta principalmente cuatro estadios morfológicos: **amastigote**, **promastigote**, **epimastigote** y **trypomastigote**.

Amastigote, es la forma que invade las células del sistema fagocítico mononuclear y de otros tejidos, se multiplican por fisión binaria. Esta forma es redondeada u ovoide, mide de 1.5 a 4 μm de diámetro, posee un núcleo grande y un kinetoplasto en forma de bastoncillo, el flagelo se encuentra retraído. Estas formas se aglomeran intracelularmente conformando nidos^(37,38,39) (Fig.1).

Promastigote, es un estadio flagelado alargado fusiforme que mide de 20 a 25 μm de longitud, el kinetoplasto se localiza en el extremo anterior del cual emerge un flagelo saliendo libre y sin formar membrana ondulante. Esta fase es una forma de transición rápida⁽³⁸⁾.

Epimastigote, es la forma que se multiplica por fisión binaria longitudinal en el intestino del artrópodo transmisor y también se puede observar en los medios de cultivo. Presenta una forma alargada, mide 20 a 25 μm de largo. El kinetoplasto se localiza anterior al núcleo en la parte media del cuerpo, presenta una corta membrana ondulante y un flagelo libre que sale hacia la parte anterior^(37,38,39) (Fig.2).

Tripomastigote, es la forma flagelada que se encuentra tanto en la sangre circulante de los mamíferos infectados y que se observa principalmente en los periodos agudos o iniciales de la infección; así como, también se localiza en el intestino posterior de los triatominos. El tripomastigote es fusiforme, presenta una forma característica de "C" o "S" y su tamaño es aproximadamente de 20- 25 μm de longitud por 2- 4 μm de ancho, posee un núcleo grande ubicado en la parte central, cerca del extremo posterior se localiza el kinetoplasto de donde emerge una prolongación citoplasmática, la membrana ondulante que se extiende a todo lo largo de su cuerpo y en la cual bordea un flagelo que sale del parásito por el extremo anterior. Los tripomastigotes no se dividen en la sangre, sólo se multiplican en las células del Sistema Fagocítico Mononuclear en la forma de amastigote. Constituye la forma infectante para los mamíferos y triatominos; para los primeros se conoce con el nombre de tripomastigote metacíclico y para el segundo tripomastigote sanguíneo^(37,38,39) (Fig.3).

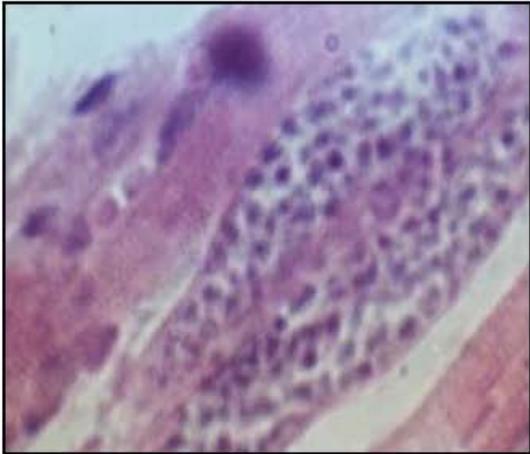


Fig. 1. Nidos de amastigotes en músculo cardíaco.
Cortesía Laboratorio Biología de Parásitos
Facultad de Medicina, UNAM.

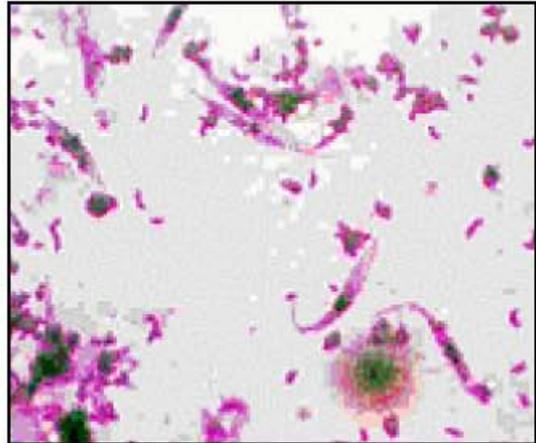


Fig. 2. Epimastigotes en medio de cultivo.
Cortesía Lab. Biol. Parásitos
Fac. Medicina, UNAM.



Fig.3. Tripomastigote sanguíneo.
Cortesía Lab. Biol. Parásitos
Fac. Medicina, UNAM.

1.4 Agente transmisor

Los insectos vectores de *T. cruzi* se ubican taxonómicamente de la siguiente manera:

Phylum: Arthropoda

Clase: Hexapoda (insecta)

Orden: Hemiptera

Suborden: Heteroptera

Familia: Reduviidae

Subfamilia: Triatominae

Géneros: *Triatoma*

Belminus

Dipetalogaster

Eratyrus

Paratriatoma

Panstrongylus

Rhodnius

Géneros transmisores en
México

Clasificación tomada de Carcavallo U.R.⁽⁴⁰⁾.

Los insectos vectores son reduvídeos de la subfamilia de los triatominos y están representados por diversos géneros. En la República Mexicana han sido reportados siete géneros: *Belminus*, *Dipetalogaster*, *Eratyrus*, *Panstrongylus*, *Parabelminus*, *Rhodnius* y *Triatoma*, por esta razón es considerado el país latinoamericano con mayor número de especies de triatominos⁽²⁰⁾. Las especies de importancia médica pertenecen al género *Triatoma*, el cual tiene reportadas 24 especies en el país^(9,11,41).

Respecto al transmisor, en 1928, Hoffmann, C. reporta la presencia de este insecto al encontrar ejemplares de *Triatoma dimidiata* en la parte central de San Andrés Tuxtla, Veracruz, señalando el autor que el mismo se encuentra en adaptación a las habitaciones del hombre y por lo tanto como parásito del mismo⁽⁴²⁾.

En 1936 Mazzotti, L. realiza un importante estudio en Oaxaca, encontrando abundantes triatominos en cuyo contenido intestinal observó la existencia de *T. cruzi*; lo que despertó su interés por investigar la enfermedad en el hombre, reportando dos años después los dos primeros casos humanos⁽⁴³⁾.

En México se han hecho numerosos estudios para conocer las diferentes especies que pueden transmitir la infección al humano, encontrándose que *Triatoma dimidiata* y *Triatoma barberi* son las especies que presentan un mayor grado de adaptación a la vivienda humana puesto que estos transmisores se han encontrado habitando en las grietas de paredes de barro, techos de paja o palma de las casas o chozas de adobes, principalmente en localidades suburbanas y rurales donde se lleva a cabo su ciclo biológico, por lo que son considerados como vectores potenciales de *T. cruzi* ⁽²⁾. Particularmente en Veracruz se reporta la presencia de *Triatoma dimidiata* como la única especie intradomiciliaria⁽⁴⁴⁾.

Los triatominos son insectos hematófagos obligados y su ciclo de vida incluye la etapa de huevo, cinco estadios de ninfa y una de adulto. La diferencia entre las ninfas y el adulto es la presencia de alas en este último. Entre una y otra etapa de ninfa el insecto sufre una muda de cutícula proceso conocido como ecdisis. Cuando el insecto llega a la fase adulta se alimenta cada tres o cuatro semanas para su supervivencia y desarrollo de huevos. Su ciclo de vida es variable dependiendo de la especie y de la disponibilidad alimenticia. La mayoría de las especies completan su ciclo entre 5 y 12 meses en condiciones óptimas y bajo condiciones de laboratorio se ha observado que presentan ciclos con duración media de 6-15 meses. El tamaño del adulto varía dependiendo de la especie en un rango de 5 a 45 mm, se observa dimorfismo sexual, siendo la hembra el ejemplar de mayor tamaño^(11,45) (Figs.4,5).



Fig. 4. Adultos de *T. dimidiata*.
Cortesía Lab. Biol. Parásitos
Fac. Medicina, UNAM.



Fig. 5. Ciclo de vida de *T. dimidiata*
Cortesía Lab. Biol. Parásitos
Fac. Medicina, UNAM.

Estos insectos suelen ser relativamente grandes por lo que necesitan alimentarse por periodos prolongados de hasta 30 minutos, las ninfas incluso pueden ingerir sangre 9 veces su peso seco; en cambio en los adultos es de 2 a 4 veces, proceso llevado a cabo principalmente en las noches al abandonar los sitios donde se refugian por el día, dicha picadura es imperceptible ya que por las sustancias anestésicas no causa ningún dolor ni molestia⁽⁴⁶⁾.

Reservorios

Existen otros animales que albergan al protozooario tanto en la sangre como en los tejidos y que junto con el hombre juegan el papel de reservorio, algunos de ellos con hábitos domésticos como el perro (*Canis familiaris*) y el gato (*Felis domesticus*)^(2, 37).

Entre los reservorios encontrados naturalmente infectados en México están: murciélagos (*Pteronotus psilotis*), armadillos (*Dasypus novemcinctus*), ardillas (*Sciurus vulgaris*), tlacuaches (*Didelphys marsupialis*), ratas, ratones de campo (*Neotoma sp.* y *Peromyscus sp.*) y rata noruega (*Rattus norvegicus*), siendo los tlacuaches, armadillos y ratas de campo los reservorios más importantes que se encuentran en México^(2,38,47).

1.4.2 Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*

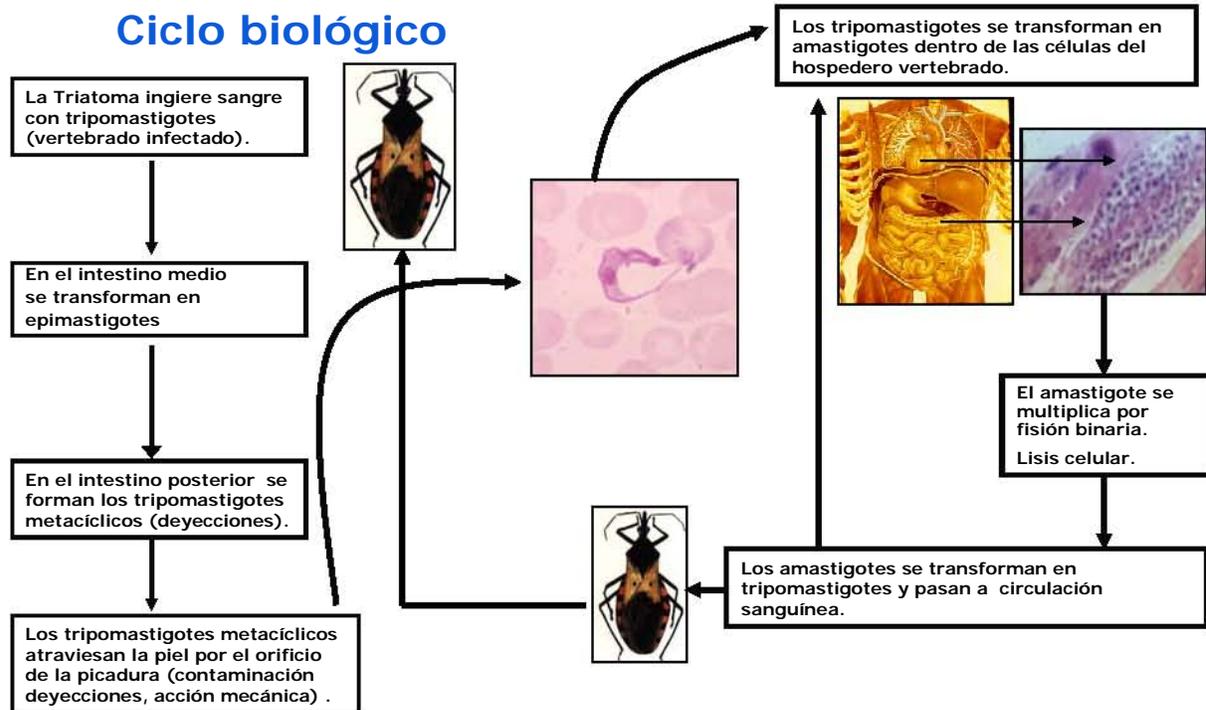
El ciclo de vida del parásito es un ciclo complejo que incluye cuatro estadios básicos de desarrollo, tripomastigote, promastigote, epimastigote y amastigote comprendidos en dos tipos de hospederos: uno invertebrado, que son insectos de la familia Reduviidae y otro un mamífero, como el hombre^(2,37,48).

El ciclo biológico inicia cuando los triatominos se alimentan de sangre de un mamífero infectado que contiene tripomastigotes circulantes, éstos se localizan en el intestino del insecto transmisor, donde se desarrollan en epimastigotes, mismos que se multiplican por fisión binaria longitudinal y en pocos días se transformarán en tripomastigotes metacíclicos (forma infectante) en la porción distal del intestino del insecto. *T. cruzi* no es transmitido por la picadura de la chinche infectada, sino que junto con las deyecciones penetra a través del orificio o laceraciones que produce la probóscide del insecto al alimentarse. La mayoría de las especies que suelen considerarse como buenos transmisores, defecan cuando están alimentándose, entonces las heces contaminadas que contienen los tripomastigotes metacíclicos, son depositadas sobre la piel o mucosas de su huésped; también es posible que el mismo huésped se infecte a si mismo al llevar las deyecciones a una solución de continuidad de la piel, hacia alguna mucosa o la conjuntiva ocular. El vector muestra cierta preferencia de picar en las uniones mucocutáneas, como el ángulo palpebral externo y las comisuras de la boca de ahí que reciba el nombre de chinche besucona u hocicona, cabe señalar que la picadura suele ser indolora^(2,37).

La infección se produce al momento de rascar en el sitio de la picadura ya que esta acción ayuda a que los parásitos penetren la piel o mucosas denominándose chagoma de inoculación. Los triatominos se vuelven infectivos 8-10 días después de haber picado a un huésped infectado, y se mantienen así durante el tiempo que reste para completar su ciclo de vida^(2,38).

En el mamífero los tripomastigotes no se multiplican mientras están en el torrente sanguíneo, pero una vez que se introducen en las células de los tejidos, pierden el flagelo y la membrana ondulante diferenciándose en amastigotes, los cuales se multiplican por fisión binaria longitudinal, lo que dará origen a un gran número de formas, que posteriormente al estallar la célula huésped se transforman en tripomastigotes sanguíneos

alcanzando la circulación. Estas nuevas formas logran diseminarse en el organismo con la capacidad de invadir a nuevas células del tejido linfóide o muscular entre otros, para repetir el ciclo de multiplicación dentro del huésped. El ciclo biológico se completa cuando otro triatomino se alimenta del mamífero infectado y adquiere el parásito^(2,11,37) (Fig. 6).



C. M. A

Fig. 6. Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*.

1.5 Patogenia

El daño que produce *T. cruzi* a su huésped, es generado por diferentes mecanismos que a su vez se relacionan con factores que involucran tanto al parásito como al huésped. A continuación se mencionan dichos factores:

Parásito	Huésped
Polimorfismo	Constitución genética Sexo
Tropismo	Edad Especie
Virulencia	Grupo étnico Infecciones
Constitución antigénica	Respuesta inmunológica Temperatura
Cantidad de parásitos	Estado nutricional y dieta

Los parásitos de cada región geográfica tienen características biológicas diferentes, definiéndose así distintos tipos de cepas de acuerdo a su morfología, niveles de parasitemia y a la multiplicación y daño estudiados en modelos animales.

Al invadir la célula del huésped mamífero, el amastigote de *T. cruzi* se multiplica, y un alto porcentaje de éstos induce la lisis de la célula infectada.

En la invasión celular participan cepas que tienen mayor virulencia, al haber un gran número de parásitos, existe la posibilidad de invadir mayor número de células que sufran lisis, lo que se traduce en un incremento en la liberación de antígenos parasitarios⁽¹¹⁾.

El parásito en el huésped vertebrado muestra tropismo por distintos tipos de células, entre ellas macrófagos, células del sistema fagocítico mononuclear, tejido muscular cardíaco, muscular estriado, muscular liso, neuroglia entre otros. Prácticamente cualquier órgano puede ser invadido^(11,39).

1.5.1 Patología

Básicamente se presentan dos tipos de lesiones: la inflamatoria y la neuronal, en ambas la respuesta primaria del huésped a *T. cruzi* parece ser consecuencia directa de la multiplicación del parásito, esta multiplicación origina lesión por destrucción de las células del huésped y/o mecanismos de sensibilización; las alteraciones degenerativas que pueden ocurrir en células no parasitadas son consecuencia de trastornos isquémicos o metabólicos inducidos por el proceso inflamatorio o por fenómenos de autoinmunidad⁽¹¹⁾.

En la primera etapa o fase aguda, los amastigotes de *T. cruzi* se reproducen dentro de las células y las destruyen. Los parásitos libres invaden otras células que también se rompen causando reacción inflamatoria con infiltrado de diferentes tipos de leucocitos. La ruptura de las células parasitadas provoca una intensa respuesta inmune, que en casos severos, genera una miocarditis aguda o la destrucción de ganglios nerviosos autónomos del tracto digestivo e incluso una meningoencefalitis con manifestaciones graves y con frecuencia fatales, sobre todo en niños. Las formas de amastigotes se ven dentro de las células invadidas, las cuales aparecen tumefactas y degeneradas y acaban por ser destruidas⁽²⁾. En la fase crónica al incrementarse la cantidad de macrófagos y células gigantes, también se forman granulomas⁽⁴⁹⁾. En esta se presentan lesiones típicas en el corazón o en tubo digestivo. La patología más importante es la cardiopatía, aquí el parásito produce diversas lesiones: una directa sobre las fibras del miocardio, originando fibrosis, y otra en forma indirecta ocasionada por un lipopolisacárido que destruye las células ganglionares produciendo desnervación y afectando el sistema de conducción sobre el haz de His⁽⁵⁰⁾. Hay intensa multiplicación de los parásitos en las fibras musculares del corazón, lo que origina la miocarditis, con desintegración de la fibra miocárdica por la liberación de antígenos y sustancias tóxicas que causan edema intersticial e infiltrados celulares. Otras formas de patología se relacionan con las lesiones hipertróficas del tubo digestivo o megavísceras, especialmente megaesófago y megacolon. En estos casos existe desnervación o destrucción neuronal que trastorna el funcionamiento peristáltico de la musculatura. Las células nerviosas situadas en los ganglios autónomos de las vísceras huecas son destruidas, con la interrupción consiguiente de la coordinación neuromuscular. Las fibras musculares se desintegran, hay focos inflamatorios con infiltrado de linfocitos e histiocitos^(2,39).

1.6 Respuesta inmune

Una vez que el parásito penetra las células se multiplican y completa uno o varios ciclos de replicación intracelular, pasa al torrente sanguíneo en donde puede alcanzar diversas células del huésped, como las del bazo, hígado y sobre todo músculo cardíaco. También puede establecer un primer contacto con los macrófagos y ser fagocitado, o bien evadir este primer contacto con la respuesta inmune y escapar de la vacuola fagocítica para replicarse en el citoplasma de los macrófagos⁽³⁷⁾.

En el huésped se originan diferentes mecanismos de defensa a la infección parasitaria, como son, la respuesta inmune celular y la respuesta inmune humoral. La primera esta mediada por macrófagos activados, por neutrófilos y eosinófilos a través de anticuerpos. El segundo tipo de respuesta incluye la lisis del parásito a través de la activación de la vía alterna del complemento mediada por inmunoglobulinas del tipo IgG, así como también, la producción de inmunoglobulinas del tipo IgM durante la fase aguda de la infección; posteriormente estas decrecen para que sean producidas las inmunoglobulinas IgG 1, 2 y 3 e IgA, que pueden perdurar durante toda la vida del paciente⁽³⁷⁾.

Los parásitos también han desarrollado otros mecanismos de evasión de la respuesta inmune con el fin de lograr sobrevivir, reflejando así su gran adaptación evolutiva. En las infecciones por *T. cruzi* se presentan distintos procesos mediante los cuales el parásito es capaz de resistir la acción del sistema inmune del huésped, algunas se mencionan a continuación:

Inmunodepresión. Se produce una inmunosupresión general, con disminución de anticuerpos para ciertos antígenos, además puede inhibir la producción de interleucina 2 (IL-2), se ha observado que en las personas que se encuentran en la fase aguda presentan una severa inmunodepresión, que corresponde con el punto más elevado de parasitemia^(37,39,49,51).

Localización intracelular. Una vez que *T. cruzi* se encuentra dentro de las células del huésped, evade los mecanismos lisosomales y escapa de la vacuola fagocítica hacia el citoplasma, en donde completa su ciclo de diferenciación a la forma de amastigote. Los amastigotes se replican y pueden destruir las células huéspedes e infectar a células

vecinas o bien diferenciarse a la forma de tripomastigote e invadir nuevas células de tejidos distantes. Sin duda este es el principal mecanismo mediante el cual el parásito contrarresta la respuesta inmune^(37,39,49,51).

“Capping”. El parásito, durante su estancia dentro del huésped, expresa antígenos similares a los componentes del organismo parasitado, estos antígenos pueden desencadenar efectos autoinmunes que se manifiestan en las formas crónicas de la enfermedad^(37,39,49,51).

Autoinmunidad. Se ha demostrado la formación de anticuerpos con reacción cruzada entre el parásito y antígenos de las células de los vertebrados que han sido involucrados en la patogénesis del daño celular y de componentes tisulares en el humano, lo cual genera lisis no solo de las células infectadas sino también de las no infectadas^(37,39,49,51).

Activación de la vía alterna del complemento. La forma infectiva de tripomastigote puede contrarrestar el sistema de complemento e inhibir la formación del complejo con la convertasa de C₃ por medio de una glucoproteína que presenta en la superficie membranal, lo que bloquea la lisis del parásito por esta vía^(37,39,49,51).

1.7 Cuadro clínico

La infección puede ocurrir a cualquier edad, pero es más frecuente en la infancia. En la historia natural de la enfermedad de Chagas se distinguen tres fases, y en cada una de ellas la presentación clínica, los criterios diagnósticos y terapéuticos son distintos.

1.7.1 Fase aguda

La fase aguda, cualquiera que sea la vía de transmisión, se inicia en el momento de adquirir la infección, dura entre 2-4 meses, con escasas manifestaciones clínicas y elevada parasitemia, usualmente suele cursar asintomática, cuando los síntomas existen, estos pueden aparecer de 4-12 días después de la inoculación del parásito. En la transmisión por transfusión sanguínea, el período de incubación es largo, entre 20 y 40 días o hasta 116 días. Los hallazgos clínicos están asociados con signos que relacionan el sitio de entrada del parásito y las manifestaciones de la infección. Cuando el parásito penetra a través del ojo, se presenta un edema bipalpebral unilateral (signo de Romaña) (Fig. 7), conjuntivitis y puede presentarse adenopatía preauricular, y si penetra a través de la piel en otra parte del cuerpo se observa lo que se conoce como chagoma de inoculación que es una manifestación cutánea, caracterizada por una zona eritematosa de aproximadamente 1 cm de diámetro e indolora. Las manifestaciones sistémicas que pueden presentarse en ésta fase son: fiebre, taquicardia, linfadenopatía, esplenomegalia y edema. La fiebre oscila alrededor de 38° C, también puede haber astenia, anorexia, dolor de cabeza, dolor muscular e irritabilidad^(9,18,52).



Fig. 7. Signo de Romaña.
Cortesía Dr. Francisco Alcaráz.

1.7.2 Fase indeterminada

En la fase indeterminada, la única evidencia de infección es la serología positiva con escasa cantidad de parásitos en el torrente circulatorio, no hay signos ni síntomas viscerales y puede durar toda la vida o derivar a la fase crónica. El individuo en fase indeterminada se denomina “infectado chagásico”^(9,18,52).

1.7.3 Fase crónica

En la fase crónica el paciente presenta manifestaciones orgánicas. A esta fase llegan aproximadamente entre el 10% a 30% de los infectados chagásicos, presentando síntomas y signos de expresión variada, pudiendo causar daño a varios órganos entre los cuales se ven afectados principalmente el corazón y el aparato digestivo. La miocardiopatía chagásica, constituye la forma clínica más frecuente en la etapa crónica, aparentemente un elevado número de casos no se reportan, debido a la ausencia de especificidad en el cuadro clínico^(9,18,59) (Fig. 8).

Después de las primeras manifestaciones que consisten en taquicardia, extrasístoles y dolor precordial, estas se comprueban con el electrocardiograma, pueden detectarse bloqueo completo o incompleto de la rama derecha del haz de His o bloqueo aurículo-ventricular. En esta etapa se encuentran datos de insuficiencia cardiaca y en el caso de fallecimiento en las autopsias se observa la pared ventricular adelgazada y con aneurisma de la punta. Son manifestaciones de esta fase clínica la presencia de taquicardia, disnea, dolor precordial, mareos, edema, ingurgitación yugular y hepatoesplenomegalia entre otras^(3,50).

Las manifestaciones del proceso crónico en el aparato digestivo se producen debido a la dilatación esofágica lo que clínicamente recibe el nombre de megaesófago y del colon, megacolon. Estas manifestaciones se deben al peristaltismo desordenado por la destrucción de los ganglios autónomos que están dentro de las paredes viscerales. El síntoma principal presente del megaesófago es la disfagia que puede dar lugar a regurgitación de alimentos no digeridos mucho después de la ingesta y otros como dolor al tragar alimentos, y pérdida de peso. El estreñimiento es el síntoma principal para el megacolon, que en ocasiones es intenso y provoca una acumulación masiva de heces en el colon^(2,18) (Fig. 9).

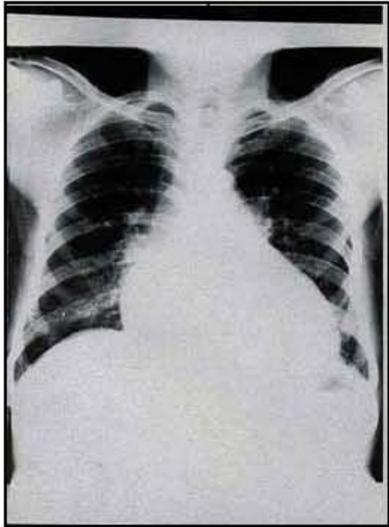


Fig. 8. Radiografía de tórax.
Se observa cardiomegalia producida por *T. cruzi*.
Cortesía Lab. Biol. Parásitos
Fac. Medicina, UNAM.



Fig.9. Caso de megacolon ocasionado por *T. cruzi*.
Cortesía Lab. Biol. Parásitos.
Fac. Medicina, UNAM.

1.8 Diagnóstico

El diagnóstico de la enfermedad varía de acuerdo a la forma clínica en que se encuentre el individuo. Los procedimientos de laboratorio que se emplean se dividen en parasitológicos y serológicos o inmunológicos^(38,39).

El diagnóstico tiene como finalidad la detección y confirmación de individuos infectados y/o enfermos, de este derivará las medidas terapéuticas que se establezcan y posteriormente el monitoreo en programas sanitarios de vigilancia epidemiológica y control del padecimiento⁽¹¹⁾.

En la fase aguda los métodos de elección son los **parasitológicos** ya que estos se centran en la búsqueda del parásito en sangre, debido a que en esta etapa se presentan altos períodos de parasitemia. Para la fase crónica se emplean los métodos **inmunoserológicos** que permiten detectar la presencia de anticuerpos en el individuo.

1.8.1 Métodos parasitológicos

- **Examen directo:** tiene por objeto observar al microscopio las formas de tripomastigotes sanguíneos. Es un método 100% específico, pero de baja sensibilidad, dando numerosos falsos negativos, ya que la observación de los mismos depende del tamaño de la gota y la cantidad de parásitos circulantes.
- **Gota gruesa y frotis sanguíneo:** estos métodos también tienen como finalidad visualizar al parásito, solo que estas técnicas utilizan algunos colorantes que facilitan su identificación^(2,38,53).
- **Strout:** es un método que concentra los elementos parasitarios mediante centrifugación. La especificidad es de 100% y la sensibilidad de 95%.
- **Microhematocrito:** La sangre que se emplea en este método se extrae por capilaridad mediante punción digital o plantar en tubos de microhematocrito, posteriormente se centrifuga. Este método se recomienda para hacer el diagnóstico en los recién nacidos, por la escasa cantidad de sangre utilizada. Su sensibilidad es de 95% y la especificidad de 100%^(38,39,53).
- **Xenodiagnóstico:** consiste en emplear triatomíneos no infectados que son alimentados con la sangre del paciente por algunos minutos, su especificidad es de 100% y la sensibilidad es cercana a 100%, a pesar de su alta especificidad y sensibilidad no es un estudio que se realice de rutina pues requiere grandes cantidades de triatomíneos en etapa ninfal de 3^o y 4^o estadio para realizarlo^(38,39,53).
- **Hemocultivo e inoculación de animales de laboratorio:** son métodos que permiten la multiplicación del parásito; por lo que generalmente se emplean para aislar y mantener las cepas en el laboratorio^(38,39,53).

1.8.2 Métodos inmunoserológicos

El diagnóstico de la infección a través de la detección de anticuerpos específicos se remonta a 1913, cuando Guerreiro y Machado describieron la prueba de fijación de complemento. Desde entonces el diagnóstico serológico es aplicado, para detectar Inmunoglobulinas M y G en las primeras semanas de la infección aguda, y permaneciendo la detección de IgG en las etapas indeterminada y crónica^(54,55,56).

En estas etapas las parasitemias son transitorias, por lo que la detección del flagelado en sangre es totalmente aleatoria. El diagnóstico se basa en el hallazgo de anticuerpos circulantes anti *T. cruzi*, los que pueden ser detectados desde las primeras semanas de infección. Los procedimientos que se emplean son las pruebas serológicas que indican indirectamente la existencia, presente o pasada, del parásito en el organismo. Se recomienda utilizar al mismo tiempo por lo menos dos técnicas complementarias para identificar a un individuo infectado, pauta recomendada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Mundial de la Salud (OMS)^(38,39,53).

Las pruebas de elección y que recomienda la OPS/ OMS son las siguientes:

1. Hemaglutinación indirecta (HAI). Se utiliza como prueba inicial de selección en grupos grandes de población.
2. ELISA indirecta. Es una prueba sensible para detectar IgG o IgM, de especial utilidad en laboratorios de diagnóstico clínico o en bancos de sangre para "screening" o tamizaje. Así como en sueros de recién nacidos⁽⁵⁴⁾.
3. Inmunofluorescencia indirecta (IFI): se usa como prueba confirmatoria de infección por *T. cruzi* además de las pruebas de ELISA o hemaglutinación, se emplea especialmente en los bancos de sangre.

La OMS define que para la confirmación del diagnóstico se debe demostrar reactividad en dos pruebas serológicas de diferente principio⁽¹¹⁾.

Cabe mencionar que para establecer el diagnóstico de la enfermedad son necesarios el empleo de estudios complementarios clínicos, de imagenología y electrocardiográfico.

Otros recursos que se emplean para comprobar las formas tisulares de *T. cruzi* son la biopsia y el estudio post- mortem, para observar tejidos con nidos de amastigotes⁽¹¹⁾.

Existen actualmente diversas técnicas de estudio también para el diagnóstico, como la ELISA directa para la detección de antígenos en la etapa aguda, tanto en sangre como en plasma y orina; la búsqueda de enzimas parasitarias en sangre, y lo más reciente la detección de ADN parasitario mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) así como la inmunodetección en soportes sólidos (Western Blot)⁽⁵³⁾.

Es necesario mencionar que para hacer estudios epidemiológicos se utilizan programas de tamizaje, en los cuales se deben emplear pruebas que sean fáciles de realizar, de bajo costo y sobre todo con metodologías y procedimientos reproducibles en diferentes centros de trabajo. Por estas razones el uso de papel filtro como herramienta para tamizaje se ve justificado; éste instrumento de colecta de sangre se ha empleado desde la década de los 30' s con la finalidad de obtener con mayor facilidad la muestra y evitar así la punción venosa braquial⁽⁵⁷⁾.

1.9 Tratamiento

Para el tratamiento específico de la enfermedad de Chagas, actualmente sólo existen dos medicamentos activos contra *T.cruzi*. Los medicamentos tripanocidas están indicados en infección aguda del niño y del adulto aunque la OMS/OPS sugiere la administración de tratamiento en individuos menores de 14 años, en nuestro país ya está contemplado por la Norma Técnica Mexicana (NOM) el tratamiento para administrarse en menores de 18 años, en pacientes con parasitemia, en accidentes de laboratorio, en transmisión por transfusiones, en pacientes trasplantados e infección congénita confirmada. El Nifurtimox, del grupo de los nitrofuranos y Benznidazol, del grupo de los nitroimidazoles.

El agente que se prescribe mayormente es el Nifurtimox, el cual es efectivo en los casos agudos y crónicos tempranos.

En los casos pediátricos agudos, la dosis es de 25 mg por kg de peso, divididos en cuatro tomas diarias durante 15 días. Después se administran 15 mg por kg de peso al día, repartidos en cuatro tomas por 65 días.

La dosis en el adulto en casos agudos y crónicos es de 5 a 7 mg por kg de peso al día, repartidos en cuatro tomas. La dosis se incrementa 2 mg cada dos semanas hasta alcanzar 16 mg por kg de peso por 120 días.

Los niños y adolescentes toleran mejor la droga. Este medicamento puede ocasionar graves efectos colaterales, entre los que se encuentran alteraciones del sistema nervioso central, como desorientación, parestesias, insomnio, convulsiones y polineuritis. Pueden también presentarse alteraciones digestivas: náuseas, vómito, anorexia, pérdida de peso y dolor abdominal. Estos efectos colaterales se pueden presentar hasta en el 70 % de los casos cuando el tratamiento se administra por periodos prolongados.

La dosis recomendada para el Benznidazol es de 5-10 mg por kg de peso al día para los casos pediátricos y de 5 mg por kg de peso para los adultos, ambos durante 60 días. La dosis diaria debe ser administrada en dos o tres tomas, con intervalos de 8 ó 12 horas. En casos de transmisión congénita la dosis es de 10-15 mg por kg al día. En recién nacidos de pretérmino o de bajo peso, el tratamiento se inicia con la mitad de la dosis, administrando la dosis total en un periodo de 72 horas.

Los efectos secundarios que produce este fármaco son parecidos al Nifurtimox ya que también se presentan, náuseas, cefalea, anorexia, dolor abdominal, pérdida de peso,

mareos, astenia, vómito, polineuritis, dermatitis exfoliativa y trombocitopenia. Durante el tratamiento con esta droga no debe ingerirse alcohol.

Los principales problemas, con respecto a los fármacos disponibles actualmente, son los largos periodos de tratamiento, los numerosos efectos secundarios y la eficacia parcial^(39,53).

2. JUSTIFICACIÓN

Un precedente importante para realizar el presente estudio de seroreactividad en mujeres embarazadas en Tuxpan, Veracruz fue el proyecto que se llevó a cabo previamente en todo el estado, con la finalidad de conocer la prevalencia y factores de riesgo asociados sobre esta enfermedad en la entidad. En ese proyecto, se planteó a las autoridades de la Secretaría de Salud de Veracruz el estudio que abarcaba los siguientes puntos: prevalencia de la infección y factores de riesgo asociados en las 11 Jurisdicciones Sanitarias. El trabajo se realizó en el período comprendido entre 1997-2001. La seroprevalencia de la enfermedad de Chagas que se encontró para el estado fue de 0 a 2.8%, las jurisdicciones con mayor seropositividad fueron Tuxpan (2.8%), Pánuco (1.6%) y Córdoba (1.3%). Con base en estos hallazgos se deriva el presente estudio “Enfermedad de Chagas CONNATAL en Tuxpan, Veracruz” ^(44,45). En México, existen estudios que destacan las condiciones en las que se presenta la epidemiología en la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas, incluso se han implementado programas para el control del transmisor y la elaboración de normas para bancos de sangre; sin embargo, se carece de estudios que refieran la dinámica de transmisión vertical (CONNATAL) en el país, así como, el tamizaje y detección en muestras sanguíneas de mujeres gestantes de las diferentes áreas que conforman las zonas endémicas en México para la enfermedad de Chagas. Situación distinta a lo que sucede en Argentina que cuenta con un Programa de Control en la transmisión congénita y Chile que aún se encuentra en etapa piloto⁽²⁸⁾.

Trypanosoma cruzi tiene la capacidad de atravesar la barrera placentaria y la posibilidad de dañar diversos tejidos en el producto. Es indispensable el diagnóstico oportuno en primera instancia en la madre, mediante la detección de anticuerpos y la confirmación serológica; con esta información se puede alertar al médico y a la paciente del estado que guarda este riesgo en la transmisión materna, y así proponer medidas de atención al binomio madre-hijo, medidas de control y vigilancia epidemiológica para este mecanismo de transmisión.

En el estado de Veracruz se cuenta con las condiciones para que se dé la cadena epidemiológica en la transmisión del parásito, además de que estudios previos revelan que la jurisdicción Sanitaria No. 2 correspondiente a Tuxpan es una zona de endemidad para esta enfermedad⁽⁴⁴⁾.

2.1 HIPOTÉISIS

Si la infección por *Trypanosoma cruzi*, genera en el huésped una respuesta inmune produciendo anticuerpos específicos contra el parásito; entonces, es probable que estos anticuerpos puedan ser detectados también en mujeres en etapa clínica de embarazo, empleando para ello pruebas inmunoserológicas sensibles.

2.2 OBJETIVO GENERAL

- Determinar la seroreactividad a *Trypanosoma cruzi* mediante pruebas inmunológicas en muestras de mujeres gestantes procedentes de Tuxpan, Veracruz.

2.2.1 Objetivos particulares

- Realizar un tamizaje con la técnica de ELISA indirecta, utilizando muestras sanguíneas obtenidas en papel filtro.
- Confirmar seroreactividad a *T. cruzi* en las mujeres embarazadas reactivas en el tamizaje con suero obtenido por venopunción, mediante dos técnicas inmunológicas ELISA indirecta e Inmunofluorescencia indirecta (IFI).
- Identificar en los casos de mujeres seropositivas, alteraciones electrocardiográficas compatibles con enfermedad de Chagas.

3. METODOLOGÍA

Este trabajo forma parte de un estudio integral realizado en el estado de Veracruz denominado "Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz", el cual se llevó a cabo en el período 1997-2001.

Tipo de estudio

Se llevó a cabo un estudio epidemiológico de tipo transversal, descriptivo y prospectivo.

3.1 Área de estudio

El presente estudio se realizó en la Jurisdicción Sanitaria No. 2, Tuxpan, perteneciente al estado de Veracruz.

El estado de Veracruz, Ignacio de la Llave cuya capital es Xalapa Enríquez, tiene una superficie de 72,420 km², es el décimo estado de la República Mexicana en extensión, y representa el 3.7% de la superficie total del país.

Su ubicación geográfica es la siguiente: Al norte 22°28', al sur 17°09' de latitud norte; al este 93°36', al oeste 98°39' de longitud oeste.

Colinda con siete estados de la República Mexicana: Tamaulipas al norte; San Luis Potosí, Hidalgo y Puebla al oeste; Chiapas y Oaxaca al sur, y Tabasco al sureste.

Debido a la diferencia de altitudes, el estado cuenta con una gran variedad de climas, la mayor parte (84.4% del territorio) posee el clima cálido, húmedo y subhúmedo, que se hace más fresco en las planicies y montañas, alcanzando temperaturas bajo cero en las partes altas. El territorio es bajo y llano en la zona costera, y se eleva hacia el interior en la Sierra Madre Oriental.

Es uno de los estados de la República Mexicana con mayor riqueza natural. En la entidad se observan todos los ecosistemas. Veracruz, Chiapas y Oaxaca conforman la región con mayor biodiversidad del país. Existen más de 3,400 especies de fauna registradas. La flora es abundante, de las más de 30 mil especies de plantas conocidas en el país, más de 9,500 están presentes en el estado.

4. RESULTADOS

En el lapso de junio 2001 a diciembre 2005, fueron enviadas 3 832 muestras sanguíneas en papel filtro de mujeres embarazadas. Este período comprende dos etapas, una primera etapa del proyecto Chagas CONNATAL integrado al estudio “Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz”; y una segunda etapa como proyecto unitario, apoyado por PAPIIT IN219103, el cual concluyó en la fecha señalada.

Los resultados se muestran mediante tablas

TABLA 1

Distribución por Centro de Salud de las mujeres embarazadas y estudiadas de la Jurisdicción Sanitaria de Tuxpan, Veracruz.

CENTRO DE SALUD	NO. DE MUJERES	%
Alto Lucero	165	4.3
Chontla	3	0.1
La Mata	152	4.0
Laja De Coloman	33	0.9
Naranjos	15	0.4
Ojite	320	8.4
Países Bajos	87	2.2
Santiago De La Peña	582	15.2
Tamiahua	274	7.2
Tierra Blanca	365	9.5
Tuxpan	1836	47.9
TOTAL	3832	100

En esta tabla se observan los Centros de Salud con mayor y menor número de mujeres embarazadas estudiadas, Tuxpan con 1836 (47.9%) y Chontla con 3 (0.1%) respectivamente.

TABLA 2

Reactividad a *T. cruzi*. Tamizaje con la prueba de ELISA indirecta de 3 832 muestras en papel filtro de mujeres embarazadas.

CENTRO DE SALUD	REACTIVO		NO REACTIVO		TOTAL	
	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
ALTO LUCERO	0		165	4.3	165	4.3
CHONTLA	0		3	0.1	3	0.1
LA MATA	0		152	4.0	152	4.0
LAJA DE COLOMAN	0		33	0.9	33	0.9
NARANJOS	0		15	0.4	15	0.4
OJITE	7	0.2	313	8.4	320	8.4
PAISES BAJOS	1	0.03	86	2.3	87	2.2
SANTIAGO DE LA PEÑA	2	0.05	580	15.2	582	15.2
TAMIAHUA	0		274	7.2	274	7.2
TIERRA BLANCA	3	0.07	362	9.5	365	9.5
TUXPAN	13	0.33	1823	47.9	1836	47.9
TOTAL	26	0.7	3806	99.3	3832	100

En la tabla se observa el número de mujeres reactivas a *T. cruzi* durante el tamizaje en cada Centro de Salud, el C. S. que presentó el mayor número de mujeres gestantes reactivas corresponde a Tuxpan con 13 (0.33%).

TABLA 3

Seroreactividad a *Trypanosoma cruzi* en mujeres embarazadas de Tuxpan, Veracruz. Distribución por rangos de edad.

RANGOS DE EDAD (AÑOS)	NO. DE MUJERES		TOTAL (%)
	SEROPOSITIVAS (%)	NEGATIVAS (I%)	
12-18	2 (0.05)	392 (10.22)	394 (10.3)
19-25	11 (0.29)	786 (20.51)	797 (20.7)
26-32	2 (0.05)	447 (11.66)	449 (11.7)
33-39	3 (0.07)	176 (4.59)	179 (4.7)
40-46	0	20 (0.52)	20 (0.5)
Total	18 (0.46)	1821 (47.5)	1839 (48)
Sin datos			1993 (52)
TOTAL			3832 (100)

Se observa que la mayoría de mujeres embarazadas seropositivas y seronegativas caen en el rango de 19- 25 años.

TABLA 4

Seropositividad a *Trypanosoma cruzi* en mujeres embarazadas de la Jurisdicción Sanitaria de Tuxpan, Veracruz. Tamizaje con la prueba de ELISA indirecta. Confirmación serológica con las pruebas de ELISA e IFI indirectas.

CENTRO DE SALUD	MUJERES ESTUDIADAS	TAMIZAJE REACTIVO A <i>T. cruzi</i>	SUEROS RECIBIDOS PARA CONFIRMACIÓN	
			ELISA/ IFI	(%)
Ojite	320	7	3	0.078
Países Bajos	87	1	1	0.026
Santiago de la Peña	582	2	1	0.026
Tierra Blanca	365	3	2	0.052
Tuxpan	1836	13	11	0.28
TOTAL		26	18	0.46

Al solicitar el suero para realizar el diagnóstico confirmatorio con las pruebas de ELISA e IFI indirectas de las 26 mujeres embarazadas que resultaron reactivas a *T. cruzi* durante el tamizaje, sólo fue posible obtener el suero de 18 mujeres de los cuales en su totalidad se confirmó seropositividad a *T. cruzi*.

En esta tabla sólo se confirmó la seropositividad en 18 mujeres, debido a que en 8 casos por cuestión de inasistencia a su control prenatal o por cambio de domicilio, incluso hacia otra entidad no se contó con el suero.

TABLA 5

Correlación de la seropositividad a *T. cruzi* de 18 mujeres embarazadas de la Jurisdicción Sanitaria de Tuxpan, Veracruz.

NO.	CENTRO DE SALUD	TAMIZAJE REACTIVO ELISA ¹ INDIRECTA	SEROPOSITIVIDAD	
			ELISA ² INDIRECTA	IFI ³ INDIRECTA
1	Tuxpan	0.155	0.615	1:512
2	Tuxpan	0.473	0.474	1:32
3	Tuxpan	0.318	0.399	1:256
4	Tuxpan	0.418	0.393	1:64
5	Tuxpan	0.162	0.362	1:64
6	Tuxpan	0.310	0.359	1:128
7	Tuxpan	0.457	0.355	1:128
8	Tuxpan	0.309	0.325	1:128
9	Tuxpan	0.221	0.282	1:128
10	Tuxpan	0.211	0.222	1:512
11	Tuxpan	0.171	0.222	1:128
12	Ojite	0.302	0.329	1:256
13	Ojite	0.296	0.253	1:32
14	Ojite	0.186	0.186	1:32
15	Tierra Blanca	0.140	0.344	1:256
16	Tierra Blanca	0.234	0.214	1:64
17	Países Bajos	0.246	0.505	1:512
18	Santiago de la Peña	0.217	0.197	1:64

1 REACTIVO \geq 0.140 D. O

2 POSITIVO \geq 0.180 D. O

3 POSITIVO \geq 1:32

Esta tabla muestra la correlación entre el tamizaje (papel filtro) con la prueba de ELISA indirecta y la confirmación en suero con ELISA indirecta e IFI indirecta.

TABLA 6

Hallazgos electrocardiográficos detectados en 18 mujeres seropositivas de 11 Centros de Salud de Tuxpan, Veracruz.

PACIENTE	DIAGNÓSTICO ELECTROCARDIOGRÁFICO
1	Bloqueo incompleto de rama derecha.
2	Transición precoz en precordiales. ECG Probablemente normal
3	Crecimiento auricular izquierdo en el límite. ECG en el límite
4	ECG normal
5	ECG normal
6	ECG normal
7	ECG normal
8	Ritmo sinusal normal con hipertrofia del ventrículo izquierdo
9	ECG normal
10	ECG normal
11	Crecimiento auricular izquierdo. Desviación derecha del eje en el límite.
12	Crecimiento auricular izquierdo en el límite. ECG en el límite
13	Bloqueo de la subdivisión anterior izquierda o laterales.
14	ECG normal
15	Sin ECG
16	Sin ECG
17	Intervalo RR corto en el límite. ECG en el límite.
18	Hipertrofia ventricular izquierda

Se identificaron 7 pacientes (38.8%) cuyos registros electrocardiográficos muestran alteraciones compatibles con miocardiopatía chagásica en etapas iniciales o en etapa crónica.

El estado está conformado por 11 Jurisdicciones Sanitarias que incluyen 22,032 localidades y 210 municipios, con un total poblacional de 6'908,975 habitantes de los cuales 3'355,164 son hombres y 3'553,811, representando el 7.1% de la población nacional^(58,59).

Para el presente trabajo se obtuvieron muestras de mujeres embarazadas de 11 Centros de Salud de la Jurisdicción:

1. Alto Lucero
2. Chontla
3. La Mata de Tampamacholo
4. Laja de Coloman
5. Naranjos
6. Ojite
7. Países Bajos
8. Santiago de la Peña
9. Tamiahua
10. Tierra Blanca
11. Tuxpan Centro

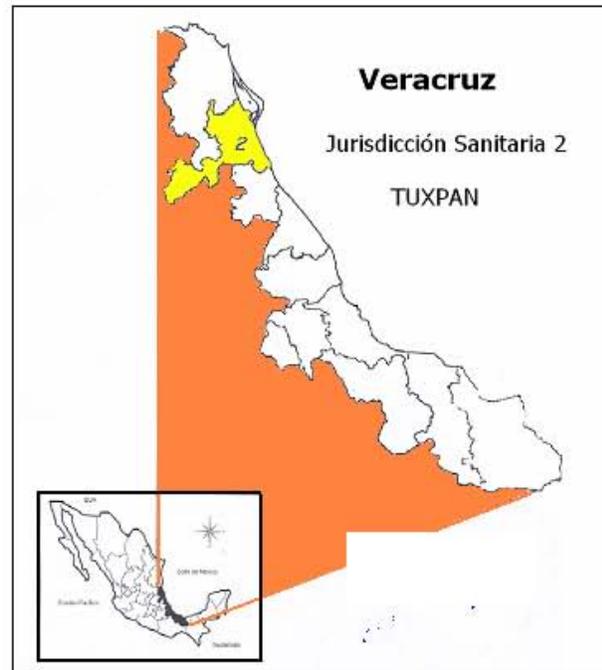


Fig. 10. Ubicación de la zona de estudio.



Fig. 11. Países Bajos



Fig. 12. Tuxpan



Fig. 13. Ojite



Fig. 14. Santiago de la Peña

Figs. 11, 12, 13, 14. Centros de Salud de la Jurisdicción Sanitaria No. 2.

3.2 Criterios de inclusión y eliminación

Criterios de inclusión

- Mujeres embarazadas de cualquier etapa gestacional y de cualquier edad.
- Lugar de residencia actual correspondiente a la zona de estudio.
- Para las mujeres infectadas, ser positiva a dos pruebas serológicas ELISA e IFI.
- Carta de consentimiento informado firmado (**Anexo 1**).

Criterios de eliminación

- Muestra insuficiente
- Carta de consentimiento informado no firmado

3.3. Obtención de la muestra

3.3.1 TAMIZAJE

Las mujeres embarazadas que asistían a consulta externa con el Médico General del Centro de Salud se les informaba acerca de la enfermedad de Chagas y del riesgo de transmisión de la infección a su producto. Se les mostraba previamente al vector de *T. cruzi*, en este caso a *Triatoma dimidiata*, especie presente en el estado. Se solicitó su consentimiento para la toma de muestra de sangre en papel filtro (material facilitado por el Laboratorio de Biología de Parásitos de la Facultad de Medicina, UNAM).

La toma de muestra de sangre se llevó a cabo por el personal médico que labora en cada una de las localidades incluidas en este estudio. Se empleó papel filtro Whatmann no. 1 de aproximadamente 2.5 cm de ancho X 7.5 cm de longitud; para la punción digital se utilizó una lanceta estéril, cuidando que el papel se impregnara con la sangre por ambos lados. El papel estaba identificado con datos de la paciente: nombre completo, folio correspondiente para cada localidad, edad de la paciente, edad gestacional y fecha de la toma. Las muestras se dejaban secar a temperatura ambiente y eran enviadas envueltas en papel secante al Laboratorio de Biología de Parásitos, Facultad de Medicina, UNAM.

El tamaño total de muestras obtenidas en los 11 Centros de Salud incluidos en el estudio durante el período 2001-2005 fue de 3 832, posterior al envío a la UNAM se registraron y procesaron mediante la prueba de ELISA indirecta.



Figs. 15, 16, 17. Toma de muestra en papel filtro.
Cortesía Lab. Biol. Parásitos
Fac. Medicina, UNAM.

3.3.2 CONFIRMACIÓN

Aquellas muestras que durante el tamizaje resultaran con la técnica de ELISA indirectas con valores de Densidad Óptica (D.O) dentro de los rangos de reactividad o en zona gris en la detección de anticuerpos de *T.cruzi*, se solicitó el suero obtenido por punción venosa para realizar el diagnóstico confirmatorio (Fig. 18).

Acorde a los lineamientos establecidos por la OMS/OPS, la confirmación se realiza con dos diferentes pruebas serológicas positivas, en este trabajo se emplearon ELISA indirecta e Inmunofluorescencia indirecta (IFI).



Fig.18. Obtención de sangre
Cortesía Lab. Biol. Parásitos
Fac. Medicina, UNAM.

3.4 Pruebas serológicas

3.4.1 Técnica de INMUNOENSAYO ENZIMÁTICO (ELISA INDIRECTA)

1. ADSORCIÓN DE ANTIGENO A LA PLACA

Se colocó 100 µl por pozo en policubetas o placas de poliestireno de fondo plano, de alta unión (Costar o Nunc). Este material debe ser nuevo y no reusarse.

Dejar a 4° C durante 24 horas y continuar al día siguiente o bien dejar dos horas a temperatura ambiente y guardar en congelación a -20° C hasta su uso sin exceder 15 días.

Retirar la placa del refrigerador y esperar a que tome la temperatura ambiente, lavar 3 veces con solución PBS-TWEEN 20 al 0.05%.

2. BLOQUEO DE SITIOS INESPECÍFICOS

El bloqueo se realizó con una solución de PBS- leche misma que se preparó al momento.

Se bloqueó con una solución de PBS-leche 5% (200 µl por pozo). Tapar la placa y dejar 60 minutos a temperatura ambiente.

Lavar la placa igual que el paso anterior por 3 veces.

3. OBTENCIÓN DE ELUIDOS E INCUBACIÓN DE ELUIDOS Y SUEROS (PRIMER ANTICUERPO)

Los sueros testigo y problema se emplean en dilución 1:200 con solución PBS- leche 1%. La dilución utilizada en papel filtro fue 1:16, la cual se obtuvo cortando dos círculos con una perforadora de uso convencional y partidos por la mitad, colocados en un tubo tipo Eppendorf con 125 µl de una solución salina estabilizadora (SSE) pH 7.2 durante 2 horas. Posteriormente se agitan por 2 min (agitador tipo vortex). Una vez agitados colocar 100 µl de la dilución de sueros testigo y problema por pozo. Todas las muestras (testigo y problema) se colocan por duplicado. Para el papel filtro se tomaron 16 µl del eluido y se depositaron en cada pozo al que previamente se le agregaron 86 µl de la solución PBS-leche 1%

Tapar la caja e incubar 30 minutos a 37°C.

Lavar la placa 3 veces como se señaló anteriormente.

4. INCUBACIÓN CON EL CONJUGADO (SEGUNDO ANTICUERPO)

Colocar 100 µl por pozo de la dilución del conjugado. Tapar e incubar 30 minutos a 37°C.
Lavar la placa igual que en pasos anteriores pero por 5 veces.

5. REACCION CON EL SUSTRATO

Colocar 100 µl por pozo del sustrato correspondiente.

Resguardar de la luz durante 15 minutos.

Frenar la reacción agregando 100 µl por pozo de ácido sulfúrico .1 N.

6. LECTURA

Se realizó con la ayuda de un espectrofotómetro o lector de microplaca con filtro de 490 nm.

En tamizaje los eluidos séricos reactivos fueron considerados entre los valores ≥ 0.140 D. O y no reactivos ≤ 0.139 D. O.

En la confirmación con suero fueron positivos entre los valores ≥ 0.180 D. O. y negativos ≤ 0.179 D.O.

3.4.2 Técnica de INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)

- 1- Retirar las laminillas con el antígeno del congelador a -20° C, dejar que tome la temperatura ambiente, sobre el papel absorbente en posición vertical, realizar un lavado con PBS para IFI durante 5 min. Y dejar secar de la misma forma como se señaló anteriormente.
- 2- Colocar en cada pozo las diluciones de sueros testigo y problema.
- 3- Incubar las laminillas en cámara húmeda a 37° C durante 30 min.
- 4- Lavar en vaso de Koplín con PBS para IFI durante 5 min en dos ocasiones y una tercera con agua destilada durante el mismo tiempo en agitación constante.
- 5- Dejar secar las laminillas.
- 6- Colocar 20 µl de la dilución óptima del conjugado en azul de Evans.
- 7- Incubar a 37° C durante 30 minutos en cámara húmeda.
- 8- Lavar y secar las laminillas como se indicó previamente en el inciso 4.
- 9- Añadir 2 µl de la solución de montaje en cada pozo (amortiguador glicerinado) y colocar el cubre objeto.

10- Lectura: se realiza en microscopio binocular de epifluorescencia con oculares 10x y objetivos acromáticos de 10x 40x y 100x con filtros para luz azul.

Testigo de fluorescencia inespecífica: los parásitos se observan con una coloración rojiza sin fluorescencia.

Testigo reactivo: los parásitos se observan de color verde fluorescente de mayor intensidad especialmente en la membrana y el flagelo del parásito. Esta fluorescencia debe permanecer hasta la dilución del título.

Testigo no reactivo: los parásitos se observan con una coloración rojiza sin fluorescencia.

Esta prueba fue realizada en el laboratorio de inmunoparasitología a cargo del Dr. Manuel Gutiérrez Quiróz, por la Bióloga Leticia Ruiz González.

Aquellas mujeres que en la confirmación resultaron seropositivas, se canalizaron al servicio de especialidad de Cardiología del Hospital General de Zona Dr. Emilio Alcázar de Tuxpan, Veracruz, mismo donde se realizó el estudio electrocardiográfico.

5. DISCUSIÓN

La importancia de conocer la seropositividad a *T. cruzi* en mujeres gestantes, está estrechamente relacionada con el riesgo y la posibilidad que guarda la madre de transmitir la infección al producto, mecanismo conocido como transmisión vertical, congénita, transplacentaria o bien, CONNATAL.

Una madre infectada y serológicamente confirmada puede transmitir la infección a todos o a algunos de sus descendientes, ya que cada embarazo es considerado como un *evento novo* ⁽⁴⁸⁾ de ahí que es fundamental establecer en primera instancia el diagnóstico en la madre, y así tomar decisiones y medidas oportunas; actualmente se ha visto y comprobado que la detección y el tratamiento temprano de infantes infectados por vía materna, curan en el 100% de los casos⁽²²⁾.

Cabe señalar que en estudios previos realizados en Veracruz, se encontró que Tuxpan es la jurisdicción con mayor riesgo de adquirir la infección, la seroprevalencia hallada en esa zona fue de 2.8 %. Respecto a la presencia del transmisor en el domicilio se encontró un índice infestación de 34.5 % y un índice de colonización del 67 %, lo que significa que se hallaron diferentes estadios ninfales dentro de las casas; por lo tanto; el ciclo biológico del transmisor se lleva a cabo en el domicilio, indicando que el triatomino vive estrechamente con su fuente de alimentación⁽⁴⁴⁾.

Se solicitó la toma de sangre por punción venosa de las 26 mujeres gestantes reactivas en el tamizaje, respondiendo a esta petición en 18 casos, el resto están en proceso de localización, debido a que algunas de ellas tienen su domicilio lejos del Centro de Salud (C.S) y se dificulta su traslado e incluso han cambiado de domicilio, por lo que su seguimiento y asistencia al control médico mensual fue suspendido por la falta de recursos y transporte principalmente. Sin embargo, no se debe descartar el riesgo que existe de las mujeres que no fueron localizadas, ya que pueden ser fuente de infección en la transmisión vectorial, en futuros embarazos y como hemodonantes.

De 26 mujeres reactivas, 18 mujeres se confirmaron mediante el empleo de dos pruebas de diferente principio (ELISA e IFI) tal como lo establecen la OMS/OPS (**Tabla 4**).

Los resultados que se obtuvieron en el presente estudio muestran una seroreactividad de **0.46 % (Tabla 4)**; es decir, 4 de cada 1 000 mujeres de este estudio están infectadas con *T. cruzi*, en 3 832 muestras de mujeres embarazadas de los 11 Centros de Salud, cifra parecida a la que reporta Houston, Texas 0.4 % en 3765 mujeres, y semejantes a los reportes de Perú 0.73% y el estado de Londrina en Brasil de 0.9% en el año 2000. Sin embargo, se encuentra por debajo de las seroprevalencias reportadas en otros países Sudamericanos, Argentina 0.4 a 7%, Paraguay 10.5 %, Brasil 2.1 a 21 % y Bolivia 2 a 21 %^(30, 32). En cuanto a México solo se conoce un caso de transmisión congénita⁽¹⁵⁾.

Los C. S. en donde se detectaron mujeres seroreactivas fueron 6 de los 11 estudiados; Tuxpan con 13, Ojite 7, Tierra Blanca 3, Santiago de la Peña 2 y Países Bajos 1. Los Centros de Alto Lucero, Chontla, La Mata, Laja de Coloman, Naranjos y Tamiahua, en el lapso del estudio no hubo ninguna paciente seroreactiva a *T. cruzi* **(Tabla 2)**.

El C. S. de Tuxpan mostró el porcentaje de seropositividad más alto de 0.28% **(Tabla 4)**, situación que puede explicarse debido a que es hospital considerado cabecera municipal, además se encuentra ubicado en el centro de la ciudad, por lo que el transporte de las madres que viven cerca resultaba más práctico, que aquellas mujeres que vivían en los C. S. de las localidades lejanas. Otro factor que debe considerarse es el de migración de mujeres que anteriormente residían en zonas no urbanas y que a su vez son áreas endémicas para la enfermedad, hacia zonas urbanas en este caso Tuxpan. Por lo tanto la detección de mujeres embarazadas que viven en el área urbana resulta más sencillo, esto explica que en el C. S. de Tuxpan se haya encontrado el mayor número de casos de madres seropositivas, pues durante el tamizaje también fue el centro del que se recibieron la mayoría de muestras **(Tablas 1 y 2)**.

Desafortunadamente en las primeras etapas de este proyecto no se había establecido una correcta comunicación ni enlace logístico con el personal médico y de enfermería que enviarían las muestras y los datos de las pacientes incluyendo la edad; esto refleja que más del 50 % del total de estudiadas no contaron con este dato. Cabe mencionar, que el 48 % de las que sí se conoce este dato están en el rango de 19-25 años, mismo rango en el que están las mujeres embarazadas seropositivas. No obstante que la mayoría de casos caen en el rango de 19-25 años, hubieron 2 pacientes seropositivas menores de 18 años y 3 en el rango de 33-39 años **(Tabla 3)**.

El empleo de papel filtro como instrumento de colecta de muestras sanguíneas resuelve una serie de dificultades, como el muestrear un sin número de personas, pues tan solo se requiere de algunas gotas que impregnen el papel, esperar el secado y su protección envolviendo con papel secante, además, no requiere de red fría para su conservación y la temperatura ambiente no afecta al producto biológico en el papel. Es un procedimiento sencillo, costeable, práctico y rápido que permite obtener a partir de una muestra seca, un eluido para realizar la técnica de ELISA indirecta.

En la **Tabla 5** se aprecian los resultados tanto del tamizaje como de las pruebas confirmatorias. Es interesante observar que los sueros obtenidos de las 18 mujeres embarazadas detectadas en el tamizaje, al ser estudiados con las dos pruebas confirmatorias resultaron positivas en ambas pruebas. De hecho, las autoridades de Salud en Tuxpan, al reporte de mujeres reactivas en tamizaje, establecieron un cerco epidemiológico entre la embarazada y la familia que compartieran el mismo domicilio.

Otro de los resultados que han determinado realizar el seguimiento de las pacientes de este estudio, son los trazos electrocardiográficos de 7 mujeres, compatibles con aquellos que se presentan en la Enfermedad de Chagas, estos son: bloqueo de rama derecha del Haz de His, hipertrofia ventricular y crecimiento auricular izquierdo (**Tabla 6**). A estas mujeres se les deben efectuar estudios más profundos para determinar el tipo de daño que presentan y posteriormente al tratamiento al que podrían ser candidatas.

En México existe una Norma Oficial Mexicana NOM-003 SSA2-1993 “Para la disposición de Sangre Humana y sus componentes con fines terapéuticos”, para el Control y Vigilancia en lo que se refiere a la transmisión por transfusión sanguínea, lo que permite el adecuado uso, manejo y control en el plasma y sus componentes en los laboratorios de Bancos de Sangre. Para la transmisión vectorial en las zonas endémicas se aplica como medida de prevención insecticidas, esto con la finalidad de irrumpir el acercamiento del agente transmisor en los hogares; de lo que se carece es de un programa de tamiz prenatal para enfermedad de Chagas.

Otro aspecto que debe considerarse y que no debe dejarse a un lado es el hecho, que a medida en la que en México se logre de manera efectiva establecer un control de la transmisión vectorial y la transfusional, la vía CONNATAL podría emerger como la principal fuente de infección, situación que hoy en día se vive en países como Argentina y Chile.

El fenómeno de migración parece estar tomando importancia en países en los que la enfermedad de Chagas no es endémica, tal es el caso de transmisión congénita descrito en Rumania, de una mujer procedente de Latinoamérica⁽⁷⁾ y en Estados Unidos no deja de ser un problema que preocupe, considerando que es el país con el mayor número de inmigrantes sobre todo de origen Latino.

En México el problema de enfermedad de Chagas probablemente sería mayor al parecer, puesto que a comparación en lo que al vector se refiere, en Sudamérica la transmisión sólo se da a partir de una o dos especies de vectores, esto dependiendo la zona; situación que no ocurre aquí, pues para el país se reportan 7 Géneros, uno de ellos el género *Triatoma* con 24 especies y de estas 12 se han encontrado como responsables de la transmisión intradomiciliada^(11,40).

CONCLUSIONES

1. Se detectó el 0.46% de seropositividad a *T. cruzi* en mujeres embarazadas de la Jurisdicción Sanitaria No. 2 de Tuxpan, Veracruz.
2. El Centro de Salud de Tuxpan tiene el porcentaje de seropositividad más alto, con 0.28%.
3. De las 18 mujeres seropositivas, 7 presentan alteraciones electrocardiográficas compatibles con la enfermedad de Chagas por lo que deben ser atendidas y llevar un control más estricto.
4. Es el primer estudio de tipo epidemiológico que se realiza en México sobre enfermedad de Chagas de transmisión vertical (CONNATAL), con la finalidad de obtener un dato que refleje cuál es la situación que prevalece en una zona anteriormente establecida como endémica

PROPUESTAS

- Por estas razones es de suma importancia proponer que se incorpore en el Programa de Salud de la Mujer, la recomendación de aplicar además de los exámenes de rutina que se les realizan a las mujeres gestantes, la prueba de tamizaje para *T. cruzi*. Tal como se efectúa en otros países como Argentina y Chile que tienen una norma establecida desde 1997, el de efectuar un examen serológico sobre todo en aquellas mujeres que viven en zonas endémicas.
- Este estudio pretende ser el inicio de futuras investigaciones dirigidas a generar el conocimiento que hasta el día de hoy se carece sobre esta enfermedad en particular en la transmisión CONNATAL, ya que para poder tomar las medidas necesarias sobre este mecanismo, es prioritario determinar la condición de seroprevalencia en la que se encuentra no únicamente la Jurisdicción Sanitaria Tuxpan, sino el resto del territorio Nacional.

Anexo 1
Carta consentimiento

SECRETARIA DE SALUD DE VERACRUZ
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Al firmar este documento, el suscrito: _____ confirmo que he sido informado del proyecto "ESTUDIO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN MÉXICO" y doy mi consentimiento voluntario para que participe en este estudio de investigación de la Universidad Nacional Autónoma de México y el grupo de la Secretaría de Salud. Se me ha brindado información sobre la enfermedad de Chagas, sus efectos y consecuencias, por lo que estoy dispuesto a proporcionar la información solicitada a través de un cuestionario y que me tomen muestras de sangre.

He sido informado que este estudio será en beneficio de la comunidad en que vivo.

Firma _____

Nombre Completo del Encuestador _____

Firma: _____

Fecha: _____

BIBLIOGRAFÍA

1. Chagas, C. 1909. Nova tripanozomíaze humana. Estudos sobre a morfologia eo ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n, gen; n. sp; agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **1**: 159-218.
2. Beaver, P. C. 2003. *Beaver Parasitología Clínica de Craig Faust.* 3ª ed. Masson Doyma México, S. A. México, D. F. 823 pp.
3. OPS. 2003. *Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al hombre y a los animales. Vol III. Parasitosis.* 3ª Ed. Publicación Científica y Técnica No. 580. Washington, D. C. 413 pp.
4. Moncayo, A. 1987. Chagas Disease. Tropical Disease Research: A Global Partnership. Eighth Programme Report of the INDP/ World Bank / WHO. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. 89-98.
5. Contreras, S; Fernández, M. R; Agüero, F; Desse, J; Orduna, T; Martino, O. 1999. Enfermedad de Chagas-Mazza congénita en Salta. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **32**(6): 633-636.
6. Schofield, C. J. 2000. Challenges of Chagas Disease Vector Control in Central America. WHO/WHOPES. 36 pp.
7. Schenone, H; Rojas, A. 1989. Algunos datos y observaciones pragmáticas en relación a la epidemiología de la enfermedad de Chagas. *Bol. Chil. Parasitol.* **44**: 66-86.
8. WHO. World Health Organization. 1991. Chapter 7. Chagas Disease In: Special Programme for Research and Training in Tropical diseases. Tenth programme report.
9. Dumonteil, E. 1999. Update on Chagas' disease in Mexico. *Salud Pública Méx.* **41**: 322-327.
10. Mazzotti, L. 1940. Dos casos de Enfermedad de Chagas en el estado de Oaxaca. *Gac. Med. México.* **70**: 499-502.
11. Salazar, P. M; Bucio, M. I; Cabrera, M; Guevara, Y; Rojas, G; Ruiz, A; Marín, A; Romero, S. 2002. Manual de Laboratorio para el Diagnóstico de la Infección por *Trypanosoma cruzi*. UNAM, SSA, OPSS/ OMS. México. 49 pp.
12. Salazar, P. M; Tay, J; Bucio, M. I; Haro, I; Anzures, M. E; Flores, S. 1984. Primer caso de megaesófago con serología positiva a *Trypanosoma cruzi*. *Salud Pública Méx.* **26**: 452-55.
13. Tay, J; Salazar, P. M; Ontiveros, A; Jiménez, J; Haro, I; García, Y; Gutiérrez, M. 1986. Epidemiologic study of Chagas disease in a town in Oaxaca, Mexico. *PAHO Bulletin.* **20**(4): 358-65.
14. Salazar, P. M; Barrera, M; Bucio, M. I. 1989. Transmisión por *Trypanosoma cruzi* por transfusión sanguínea. Primer caso humano en México. *Rev. Med. Patol. Clin.* **36**: 57-59
15. Schofield C. J. 1985. Control of Chagas disease vectors. *Br. Med. Bull.* **41**: 187-194.
16. Guzmán, C; Lahuerta, S; Velasco, O. 1998. Chagas Disease. First Case Report. *Archives of Medical Research.* **29**(2): 195-196.
17. Vidal, V. et al., 2000. Infección Natural de chinches Triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud Pública México.* **42**(6): 496 – 503.

17. Enger, K. S; Ordoñez, M. L; Wilson J; Ramsey, M. 2004. Evaluation of Risk Factors for Rural Infestation by *T. Pallidipennis* (Hemiptera: Triatominae), a Mexican Vector of Chagas Disease. *Journal of Medical Entomology*. **41**(4): 760-767.
18. Aluizio, P. 1994. Chagas disease. *Infections Disease Clinics of North America*. **8**(1): 61-76.
19. Wendel, S; Brener, M. E; Rassi, A. 1992. *Chagas Disease (American Trypanosomiasis): It's impact on transfusion and clinical medicine*. ISBT. Brazil. 271 pp.
20. Lent, H; Wygodzinsky, P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) and their significance as vector of Chagas disease. *Bull. Amer. Mus. Nat. History*. **163**: 125-520.
21. Azogue, E; La Fuente, C; Darras, Ch. 1985. Congenital Chagas Disease in Bolivia: epidemiological aspects and pathological findings. *Transactions of the Royal Society of Trop. Med. Hyg.* **79**: 176-180.
22. Mansilla M; Rocha M; Sarubbi, M. A. 1999. Chagas Congénito. Presentación de un caso clínico y revisión bibliográfica. *Rev. Hosp. Mat. Inf. Ramón Sardá*. **18** (1): 29-35.
23. Bittencourt, A. L. 1976. Congenital Chagas Disease. *Am. J. Dis. Child*. **130**:97-103.
24. Apt, W; Náquira, C; Tejada, A; Struzzi, L. 1967. Transmisión Congénita del *Trypanosoma cruzi*. II. En ratas con infección aguda y crónica. *Bol. Chil. Parasitol.* **23**: 9-15.
25. www.fac.org.ar/fec/chagas2/llave/md3/md301/freilij.htm Freilij, H; Biancardi M; Lapeña, A; Ballering, G; Altcheh, J. Enfermedad de Chagas Congénito. 2002.
26. Bittencourt, A. L; Barbosa, H. S. 1972. Incidencia Da Transmissao Congenita Da Doenca de Chagas Em Abortos. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*.**14**(4):257-559.
27. Zaidenberg, M. 1999. La enfermedad de Chagas congénita en la Provincia de Salta, Argentina, años 1980- 1997. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop* . **32**(6): 689-695.
28. Blanco, S. B; Segura, E; Gurtler, R. E. 1999. El control de la transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi* en la Argentina. *Medicina*. **59** (Supl.II): 138-142.
29. Blanco, S. B; Segura, E; Cura, E; Chuit, R; Tulián, L, Flores, I; Garbarino, G; Villalonga, J. F; Gurtler, R. E. 2000. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: an operational outline for detecting and treating infected infants in north- western Argentina. *Trop. Med. Inter. Health*. **5**(4): 293-301.
30. Mendoza, C. A. y cols.2005. Prevalencia de la enfermedad de Chagas en púerperas y transmisión congénita en una zona endémica del Perú. *Rev. Panam. Salud Publica*. **17**(3): 147-53.
31. El control de la enfermedad de Chagas en los países del Cono Sur de América. Historia de una iniciativa internacional.1991/2001. Ed. OPS. 2002.
32. Di Pentima, M. C; Hwang, L; Skeeter, C. M; Edwards, M. S. 1999. Prevalence of Antibody to *Trypanosoma cruzi* in Pregnant Hispanic Women in Houston. *Clinical Infectious Diseases*. **28**: 1281-5.
33. Mallimaci, M. C; Sijvarger ,C; Dates, A; Alvarez, M; Sosa, E. S. 2001. Seroprevelence of Chagas disease in Ushuaia, Argentina, an area without Triatominae. *Pan. Am. J. Public. Health*. **9**(3): 169-71.

34. Barbieri, G; Ramírez, E; Manzur, R; Moran, L; Loza, L; Iglesias, M; Alcorta, M.; Yachelini, P. Incidencia d transmisión de enfermedad de Chagas congénito en Santiago del Estero. Reporte 4 años. Congreso Nacional de Cardiología Mar de Plata 2002.
35. Barbieri, G; Loza, L; R; Moran, L; M; Alcorta, M; Manssur, R; Yachelini, P. Prevalencia de serología positiva en embarazadas de Santiago del Estero. Reporte de 4 años. Congreso Nacional de Cardiología Mar de Plata 2002.
36. Levine, N. D, Corlis, J. O; Deroux, F. E; Grain, J; Merinfeld, E. C; Page, E. C; Poljanskiy, G; Sragu, V; Vavray, J; Wallace, F. G. 1989. A newly revised classification of the protozoa. *Journal of Protozoology*. **27**(1): 37-58.
37. Flores, B. 2004. *Parasitología Médica de las Moléculas a la Enfermedad*. MC Graw Hill. México. 301 pp.
38. Tay.7ª Ed. 2002. *Parasitología Médica*. Méndez Editores. México. 504 pp.
39. Botero, D. 3ª Ed. 1998. *Parasitosis humanas*. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia. 457 pp.
40. Carcavallo, R., J. Galíndez-Girón; Jurberg, J; Galvao, C. and Lent, H. 1999. *Geographical distribution and alti-latitudinal dispersion*. In: Carcavallo, R. U., I. Galíndez-Girón, J. Jurberg, H. Lent (Eds). Atlas of Chagas Disease vectors in the Americas Vol. III. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro. 747-792 pp.
41. Tay, J; y cols.1992. Estado actual de los conocimientos de la enfermedad de Chagas en la República Mexicana. *Bol. Chil. Parasitol.* **47**:43-53.
42. Hoffmann, C. C. 1928. Nota acerca de un probable transmisor de la Trypanosomiasis Humana, en el estado de Veracruz. *Revista Mex. Biol.* **8**: 12-18.
43. Mazzotti, L. 1936. Investigación Sobre La Existencia de La Enfermedad de Chagas en el País. Demostración de tripanosomas en los reduvidos transmisores. *Revista Medicina México*. **16**: 584-585).
44. Salazar, P. M; Rojas, G. E; Cabrera, M; Bucio, M. I; Guevara, Y; García de la Torre, G; Segura, E. L; Escobar, A. 2005. Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz. *Salud Pública de México*. **47**(3): 201-208.
45. Memorias. Primer Encuentro Internacional sobre Enfermedad de Chagas en México. Reunión Conmemorativa del Nonagésimo Aniversario de la Primera Publicación del Dr. Carlos Chagas. 1999. Universidad Simón Bolívar. México, D. F. 158pp.
46. Lane, R. P. 1996. *Medical Insects and Arachnids*. British Museum (Natural History) Chapman Hall. Great Britain. 723 pp.
47. Salazar, P. M; Bucio, M. I; Cabrera, M; Bautista, J. 1997. First Case Natural infection in Pigs. Review of *Trypanosoma cruzi*. Reservoirs in Mexico. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **92**(4): 499-502.
48. Ruiz, B. H. 1999. Enfermedad de Chagas en la población que se asiste en un hospital perinatólogico de la Ciudad de Buenos Aires. *Rev. Hosp. Mat. Inf. Ramón Sarda*. **18**(2): 57-60.
49. Guevara, Y. 2005. *Seroprevalencia de Tripanosomiasis Americana en 11 Jurisdicciones del estado de Veracruz, utilizando antígenos de origen mexicano*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F. 109 pp.

50. Salazar, P. M; Castrejon, J; Rodríguez, H. M; Tay, J. 1979. Miocarditis Chagásica Crónica en México. Tercer caso comprobado por exámenes parasitológicos. *Prensa Méd. Mex.* (5-6): 115-120.
51. Abbas, A. K; Lichtman, A. H; Pober, J. S. 2000. *Inmunología Celular y Molecular*. Mc Graw Hill. España. 552 pp.
52. Arrieta R; Daquino B; Rosso N; Ferreras M.G; Juárez N. 2004. Evaluación de una metodología de tamizaje en la enfermedad de Chagas, en San Luis Argentina. *Salud Pública de México.* **46**(5): 430-437.
53. Rosa, R. y cols. 2001. Actualización clínico epidemiológica y terapéutica de la enfermedad de Chagas en Uruguay. *Rev. Med. Uruguay.***17**: 125-132.
54. Lorca, M. 1991. Diagnóstico serológico de las infecciones congénitas por *Trypanosoma cruzi*. *Rev.Chil. Pediatr.* **62**: 337-344.
55. Sosa, S. La seroepidemiología en la investigación de la infección con *Trypanosoma cruzi*. Grupo de Trabajo OPS en Enfermedad de Chagas Montevideo Uruguay. 2001.
56. OPS. Curso Virtual de capacitación Médica en el diagnóstico, manejo y tratamiento de la enfermedad de Chagas.
57. Aldir, M. C. 2001. *Seropositividad a Trypanosoma cruzi en tres localidades del estado de Veracruz*. Tesis de Licenciatura. USB. México, D. F. 64 pp.
58. Anuario de Estadísticas por entidad Federativa. Ed. 2005. INEGI. México. 295 pp.
59. www.inegi.gob.mx