

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA

**DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Trypanosoma cruzi* EN
NIÑOS DE LA ALDEA “PIE DE LA CUESTA”, SAN PEDRO PINULA, JALAPA**

MARIA EDELMIRA CONCEPCIÓN AGUILAR SANDOVAL

QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2005

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA

**DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Trypanosoma cruzi* EN
NIÑOS DE LA ALDEA “PIE DE LA CUESTA”, SAN PEDRO PINULA, JALAPA**

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

MARÍA EDELMIRA CONCEPCIÓN AGUILAR SANDOVAL

PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2005

ÍNDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCIÓN	2
III.	ANTECEDENTES	3
	A. Historia	4
	B. Agente Causal y ciclo de vida	4
	C. Vector	5
	D. Transmisión	6
	E. Patología	8
	F. Diagnóstico	10
	1. Examen microscópico	10
	2. Métodos de concentración	10
	3. Serología	12
	G. Tratamiento	13
	H. Prevención y Control	14
	I. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en Guatemala	15
	J. Descripción de la aldea “Pie de la Cuesta”	17
IV.	JUSTIFICACIÓN	19
V.	OBJETIVOS	20
VI.	MATERIALES Y MÉTODOS	21
	A. Universo	21
	B. Recursos	21
	C. Procedimiento	23
	D. Diseño metodológico	27
VII.	RESULTADOS	29
VIII.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	34
IX.	CONCLUSIONES	38
X.	RECOMENDACIONES	39
XI.	BIBLIOGRAFÍA	40
XII.	ANEXOS	46

MIEMBROS DE JUNTA DIRECTIVA

M.Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán	Decano
Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona	Secretaria
Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Juan Francisco Carrascoza Mayen	Vocal IV
Br. Susana Elizabeth Aguilar Castro	Vocal V

María Edelmira Concepción Aguilar Sandoval
Autor

M.Sc. Vivian Lucrecia Matta Ríos
Asesor

Licda. María Paula De León Granados
Asesor

Licda. Ana Margarita Paz Morales
Revisor

M.Sc. Blanca Elizabeth Samayoa Herrera
Revisor

Licda. Alba Marina Valdés de García
Directora de Escuela

M.Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Decano

I. RESUMEN

La enfermedad de Chagas que inicialmente fue una zoonosis, es transmitida por el parásito hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, que fuera descrito en Minas Gerais por el médico Carlos Chagas. La enfermedad se encuentra distribuida en toda América Latina, afectando principalmente a personas que habitan en áreas rurales.

La enfermedad de Chagas tiene una alta incidencia en Guatemala, afectando a poblaciones económicamente activas. Castillo, Matta y Cáceres, reportan una incidencia de 2.9% en el año de 1986 para el departamento de Jalapa. Sin embargo en la actualidad los reportes para el Programa Nacional de Bancos de Sangre indican ausencia total de anticuerpos en los donadores analizados que asistieron al banco de sangre del hospital nacional de este departamento, durante el período comprendido entre enero del 2001 a diciembre de 2002 (37, 37).

En el año 2,000 como parte de los trabajos realizados en el curso de Investigación de la carrera de Química Biológica, se llevó a cabo un estudio en niños que asistían a la escuela de la aldea Pie de la Cuesta, del municipio de San Pedro Pinula, del departamento de Jalapa, determinándose una incidencia de anticuerpos contra *T. cruzi* del 14.29%. Dicha localidad fue escogida por encontrarse en el área catalogada como endémica y previamente no se habían realizado estudios.

Las condiciones epidemiológicas así como la alta incidencia apoyaron la necesidad de continuar con la evaluación de la población, para poder establecer campañas de orientación y de fumigación de las casas de la comunidad.

En este estudio se evaluó a los niños comprendidos entre los 0 y 14 años de edad que habitan en la aldea Pie de la Cuesta y que no participaron en el estudio anterior. A los niños se les extrajo una muestra sanguínea para evaluar la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi*; así mismo se realizó una encuesta epidemiológica para evaluar la asociación entre factores de riesgo y presencia de la infección.

La muestra evaluada estuvo conformada por 190 niños de los cuales 89 (46%) eran niñas y 101 (54%) niños.

El plasma de cada paciente fue analizado por tres métodos serológicos diferentes: aglutinación con partículas de gelatina (GPAT), inmunoensayo enzimático (ELISA) e inmunofluorescencia (IFI), encontrándose una prevalencia del 10%

El género más afectado fue el femenino y la edad más afectada fue la de 12-15 años.

Los niños que presentaron anticuerpos contra el *T. cruzi* fueron referidos al centro de salud de la comunidad para la administración del tratamiento por medio del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

Los factores asociados a la transmisión de la enfermedad son: materiales de construcción de la vivienda, antecedentes de exposiciones anteriores al vector de la enfermedad, migración de las personas afectadas y las condiciones habitacionales.

II. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una patología de alta incidencia, que fue detectada por primera vez en el ámbito brasileño, en Minas Gerais por el médico Carlos Chagas. El Dr. Chagas observó la presencia de unas chinches que picaban durante la noche a las personas y que en su interior poseían unos parásitos flagelados, los que producían una enfermedad con cardiopatía y que podían en su fase crónica producir la muerte de la persona infectada (1, 2).

Desde ese tiempo la enfermedad ha sido altamente estudiada ya que afecta a personas económicamente activas que habitan en las áreas rurales cuyas viviendas favorecen la transmisión del vector, por lo que su capacidad para trabajar y sus expectativas económicas se ven disminuidas. El vector succiona sangre en las áreas expuestas del paciente mientras duerme, defecando en el lugar de la succión, lo que permite que el parásito penetre por las excoriaciones presentes en la piel (3, 4).

Actualmente la incidencia va en aumento en las poblaciones urbanas debido a que por factores económicos, las personas infectadas deben migrar hacia las ciudades originando a través de las transfusiones sanguíneas otro ciclo de transmisión. Además de las transmisiones ya descritas existe la forma congénita de transmisión (5).

La enfermedad de Chagas se encuentra desde Norteamérica hasta Suramérica, afectando un alto porcentaje de la población. En Guatemala desde el primer reporte por Peñalver en el año de 1,953, la enfermedad se ha descrito en los departamentos de Chiquimula, Jalapa, El Progreso, Santa Rosa y Zacapa entre otros. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en Guatemala existe una infestación del 31% de *Triatoma dimidiata* y una seropositividad del 13% en donadores de bancos de sangre (6,7).

En el año 2,000, Matta y colaboradores realizaron un estudio en la Aldea “Pie de la Cuesta” del municipio de San Pedro Pinula (Jalapa), en el cual se detectó una incidencia de anticuerpos en el 14.29% en los niños en edad escolar de dicha comunidad. En el estudio se analizó la presencia de los factores de riesgo entre los cuales se detectó el material de construcción de las viviendas y la presencia de vectores (8).

Estos datos sugieren que es necesario determinar la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en niños comprendidos entre 0 y 14 años de edad que no asisten a la escuela de la comunidad.

III. ANTECEDENTES

A. Historia

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es una parasitosis causada por el flagelado *Trypanosoma cruzi*, que en zonas endémicas se transmite especialmente por la vía vectorial a través de deyecciones de artrópodos hematófagos triatominos (*Hemiptera: Reduviidae: Triatominae*) (1).

Esta enfermedad fue descubierta en el año 1909, en el estado brasileño de Minas Gerais por el Doctor Carlos Chagas, quien fue informado de la presencia de insectos hematófagos que habitaban dentro de las viviendas y que picaban durante la noche a las personas, posteriormente observó la presencia del parásito en las heces de estos artrópodos y estudió la enfermedad en sus aspectos parasitológicos, epidemiológicos y clínicos (2).

Según la OMS cerca de 90 millones de personas están en riesgo de contraer la enfermedad (25% de la población) y de 16 a 18 millones de personas están infectadas, ocurriendo 500,000 nuevas infecciones cada año. Esta enfermedad se considera uno de los principales problemas de salud tanto en Guatemala, como en Latinoamérica, debido al número de enfermos, a la amplitud del área que abarca, a la gravedad de las alteraciones del corazón y de otros órganos así como por su carácter endémico (3, 4).

B. Agente causal y ciclo de vida

El agente causal de la enfermedad de Chagas es un protozoo flagelado, que por sus características morfológicas recibe la siguiente clasificación taxonómica:

Subreino:	<i>Protozoa</i>
Filo	<i>Sarcomastigophora</i>
Orden	<i>Kinetoplastida</i>
Familia	<i>Trypanosomatidae</i>
Género	<i>Trypanosoma</i>
Subgénero	<i>Schizotrypanum</i>
Especie	<i>Trypanosoma cruzi</i> (3).

Los parásitos infectantes pueden introducirse al organismo a través del orificio de

la picadura, heridas o excoiaciones de la piel o atravesando directamente la mucosa ocular, nasal o bucal. Existen formas flageladas en la sangre denominadas tripomastigotes y formas sin flagelos dentro de las células de ciertos tejidos, denominadas amastigotes (2).

El ciclo de vida del parásito incluye dos huéspedes, en el invertebrado se presentan las siguientes fases: epimastigote/tripomastigote metacíclico. Estas formas sufren transformaciones a lo largo del tubo digestivo del vector, el cual se infecta al succionar sangre del hombre u otros mamíferos con tripomastigotes sanguíneos circulantes. El *T. cruzi* se encuentra localizado en el órgano rectal de los vectores. La evolución del parásito se divide en tres fases. En el vector: formas redondeadas en el estómago denominadas esferoamastigotes; epimastigotes en el intestino medio las que se multiplican intensamente por división binaria y, tripomastigotes metacíclicos que son infectantes para el huésped vertebrado. Los artrópodos se vuelven infectantes después de 20 días de una comida de sangre contaminada y permanecen así por el resto de su vida (aproximadamente 1 año) (2).

En el huésped vertebrado existen dos formas amastigote/tripomastigote sanguíneo, cuando los tripomastigotes metacíclicos infectantes entran al organismo del hombre, son fagocitados por los macrófagos de la región y englobados en el fagosoma. Del fagosoma se escapan y se dirigen al citoplasma, allí se transforman en amastigotes y se multiplican activamente por división binaria. Más tarde se convierten nuevamente en tripomastigotes, que rompen las células y llegan a la circulación sanguínea o linfática, para luego invadir diversos órganos, en cuyas células penetran y se transforman en amastigotes (Anexo 1) (2, 9).

El tripomastigote metacíclico (la forma infectante para el huésped vertebrado) es capaz de infectar células de mamíferos de distinta especie, pero muestra un claro tropismo por células fagocíticas, musculares y nerviosas (4 - 10).

C. Vector

Inicialmente la tripanosomiasis fue una enzootia (infección propia de animales), en la actualidad no sólo existen ciclos de transmisión silvestres, sino también ciclos peridomésticos y domésticos, con características propias de cada lugar. Según el reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 1,991 se reconocen 6 especies

principales relacionadas con la transmisión de la enfermedad de Chagas en Latinoamérica, las cuales son: *T. dimidiata*, *T. infestans*, *T. sordida*, *T. brasiliensis*, *Rhodnius prolixus* y *Pastrongilus megistus*. De acuerdo al último censo realizado en el año de 1,994, las especies que se encuentran en Guatemala son en su orden de incidencia *T. dimidiata*, *R. prolixus* y *T. nitida*. El primero de estos tiene una mayor afinidad por casas embarradas; mientras que el segundo tiene una mayor afinidad por casas con techos de paja, disminuyendo su frecuencia en casas de concreto o block (11 – 13, 15).

Los animales domésticos son considerados un recurso importante para la alimentación de los artrópodos vectores, quienes se infectan al ingerir sangre de los hospederos vertebrados infectados (13, 14).

D. Transmisión

Existen diversas formas de adquirir la infección con *T. cruzi*: por vía congénita, por transfusiones sanguíneas y por contacto con heces de vectores infectados. El tripanosoma inicia la infección al invadir las membranas mucosas u otros epitelios expuestos (10).

1. **Vectorial:** Este mecanismo es el más común; el vector succiona la sangre del paciente y en ese momento defeca muy cerca del lugar de punción, como consecuencia de la picadura se produce prurito lo que hace que el paciente se rasque e introduzca al parásito por las abrasiones que se ocasionó en la piel. El parásito posteriormente viaja por vía hemática y se aloja en los órganos por los cuales tiene avidez. En la transmisión por contaminación fecal de triatominos la incubación se produce en un lapso de 7 a 14 días, luego de lo cual se presentan las manifestaciones de la fase aguda. La forma infectante del *T. cruzi* por esta vía de transmisión es el tripomastigote metacíclico (5).
2. **Transfusional:** Esta forma se presenta principalmente en las urbes, debido a que las personas del área rural endémica migran hacia estos lugares y donan sangre. Al poseer parásitos circulantes en la sangre pueden fácilmente contaminar a los receptores, por lo que de rutina se debe realizar un estudio

serológico para prevenir esta forma de transmisión. La sintomatología de la infección aparece de 3 semanas a 3 meses post-transfusión; las manifestaciones clínicas son agudas y/u oligosintomáticas. Cabe mencionar que el parásito puede conservar su vitalidad en la sangre almacenada en refrigeración hasta 2 meses (5).

3. **Congénita:** Esta forma de transmisión se ha observado en las áreas endémicas, siendo la responsable de un alto número de abortos, por lo que se debe analizar a las madres y a los recién nacidos. La transmisión transplacentaria condiciona la aparición de formas congénitas de la enfermedad en un 30% de las gestantes infectadas (5).
4. **Transplante de órganos:** Al igual que la transfusión sanguínea, los trasplantes de órganos de donantes procedentes de áreas endémicas, puede ocasionar una transmisión de la enfermedad. En pacientes inmunosuprimidos puede ocasionar una parasitosis (5).
5. **Accidental:** Se circunscribe al personal que trabaja con parásitos vivos, quienes están bajo el riesgo potencial de una inoculación accidental; ésta es poco frecuente y causa la forma aguda de la enfermedad (2, 10, 12, 16).
6. **Digestiva:** La ingestión de carne cruda o sangre de animales infectados también favorece la entrada del parásito por las mucosas (2, 10, 12, 16).
7. **Leche materna:** La posibilidad de adquirir la infección por lactancia materna ha sido verificada clínica y experimentalmente, no obstante su frecuencia es baja y se considera como un riesgo remoto. Sin embargo se recomienda que el hijo de una madre con enfermedad de Chagas no sea alimentado con leche materna (2, 10, 12, 16).
8. **Por manejo de animales contaminados:** Se han relatado casos contraídos al desollar animales silvestres o semidomésticos enfermos (entre ellos los cuyos, criados para alimentación familiar en ciertas regiones de Perú y

Bolivia). Se ha encontrado el tripanosoma en la saliva de perros infectados con alta parasitemia por lo que el manejo inadecuado de canes y gatos con infección natural acentuada puede ser medio de contagio (2, 10, 12, 16).

Los niños que se encuentran en un grupo étnico menor a los 15 años de edad y que habitan en casas infestadas con vectores constituyen un grupo con alta susceptibilidad a la infección por *T. cruzi* y son indicadores de riesgo de transmisión de *T. cruzi* (TcTRI), lo mismo que la presencia de casas infestadas con el vector (17).

E. Patología

La enfermedad se caracteriza por presentar tres fases: la **fase aguda** en la cual la parasitemia es alta; la lesión inflamatoria localizada en la puerta de entrada es visible como un chancro de inoculación y se le conoce como chagoma. La inflamación se extiende a los ganglios regionales, se bloquean los canales linfáticos y se produce edema local. Cuando compromete el párpado se conoce como signo de Mazza-Romaña, que en algunos casos puede estar acompañado de conjuntivitis, queratitis y dacriocistitis. Durante esta fase la mortalidad es baja, cerca del 10%, las muertes ocurren principalmente por miocarditis, meningoencefalitis u otras complicaciones como bronconeumonía (12).

La fase aguda puede llegar a ser letal, sin embargo, en la mayoría de los casos el parasitismo decae, eventualmente por la respuesta inmune del huésped y gradualmente la evidente parasitemia se transforma en inaparente con escaso parasitismo tisular, característica propia de la fase crónica (18, 19).

La población más afectada en esta etapa son los infantes, no por ser más susceptibles, sino por la probabilidad de haber estado en contacto con los vectores (20).

El período comprendido desde el final de la fase aguda hasta la aparición de la fase crónica es llamado **latente o indeterminado**, con una duración aproximada de 10 años, durante la cual el paciente es asintomático, con disminución de la parasitemia aunque se mantienen algunos focos selectivos de parásitos, el diagnóstico se debe basar en la presencia de anticuerpos contra el parásito (18 - 20).

La **fase crónica** se caracteriza por un bajo nivel de parasitemia y lesiones típicas en el corazón o en el tubo digestivo; durante esta fase la patología más importante es la cardiopatía chagásica, En esta fase la parasitemia se minimiza hasta alcanzar niveles

indetectables, pero los niveles de anticuerpos contra el parásito son elevados, por lo que el diagnóstico se basa en su detección (19).

El diagnóstico se basa primordialmente en la detección de anticuerpos específicos contra antígenos del parásito. En lo que se refiere a la presentación clínica, el 62% de los individuos no presenta síntomas, un 3% presentan megaesófago o megacolon, un 8% presenta ambos cuadros y un 27% miocardiopatías (19).

Durante esta fase puede ocurrir muerte súbita sin haber desarrollado insuficiencia cardíaca congestiva y en otros casos la miocarditis progresa hasta producir insuficiencia. El compromiso cardíaco puede aparecer muchos años después de haber tenido la infección primaria (2).

Se han establecido 4 períodos en la cardiopatía chagásica:

1. Inicial: sin evidencias clínicas, radiográficas o electrocardiográficas (ECG).
2. Con sintomatología discreta y alteraciones del ECG.
3. Con sintomatología marcada, cardiomegalia moderada y signos electrocardiográficos como bloqueo de rama derecha, hemibloqueo, extrasístoles de más de 5 por minuto y zonas inactivas.
4. Con sintomatología acentuada, caracterizada por insuficiencia cardíaca, cardiomegalia, arritmias y severas alteraciones del ECG (2, 19).

El megaesófago es una visceromegalia que se caracteriza por un ensanchamiento progresivo del esófago, generalmente acompañada de hipersalivación, disfagia, dolor y regurgitación. El megacolon se caracteriza por una constipación y posteriormente se palpa una gran masa abdominal, correspondiente a la enorme dilatación del colon. También se han encontrado dilataciones del duodeno, estómago y uréteres (2).

La forma congénita de la enfermedad es poco frecuente, puede ser asintomática y es la causante de cerca del 10% de los abortos espontáneos (en Chile y Brasil). El cuadro clínico se caracteriza por hepato y esplenomegalia sin fiebre. En muchos niños existen manifestaciones neurológicas de meningoencefalitis, semejantes a la neurosífilis del recién nacido. La anemia es constante y pueden observarse lesiones cutáneas y alteraciones cardiovasculares, principalmente miocarditis. Ocasionalmente hay

complicaciones oculares, esofágicas, cardíacas y genitales, el pronóstico es de gravedad con elevada letalidad, en estos casos el diagnóstico se basa en gota gruesa, microhematocrito, xenodiagnóstico y serología, la que adquiere valor después del sexto mes en el cual la parasitemia decae y se puede valorar IgM específica (2, 5).

F. Diagnóstico

La localización y diagnóstico precoz de casos agudos de la enfermedad de Chagas, previene la aparición de complicaciones y secuelas crónicas, coadyuva a desarrollar la vigilancia epidemiológica y facilita la ubicación de probables focos de transmisión para implementar medidas permanentes para el control de la enfermedad (5).

Dependiendo del estadio en el que se encuentre la enfermedad así se orientará el diagnóstico. Debido a que durante la fase inicial de la enfermedad la parasitemia es elevada los métodos directos son los más utilizados:

1. Examen microscópico:

La sangre fresca (o los tejidos extraídos en solución salina) se debe examinar inmediatamente para observar a los tripanosomas moviéndose activamente. También se pueden teñir frotos delgados con Giemsa donde se observarán las formas tripanosómicas y la más común en forma de "C".

En la fase intermedia y crónica de la enfermedad, la parasitemia es generalmente baja, en rangos de 10^2 a 10^7 parásitos por mililitro en las diferentes especies de hospederos, por lo mismo la cuantificación de parásitos es muy difícil. En animales pequeños tales como ratones o conejos usualmente la parasitemia es cuantificada en sangre, estos métodos son insatisfactorios para humanos o animales grandes como perros o primates, particularmente en el inicio y final de la fase aguda (21, 22).

2. Métodos indirectos o de concentración:

a. Xenodiagnóstico: En el presente es el mejor método parasitológico para el diagnóstico de la enfermedad en la fase crónica; este método fue desarrollado por Brumpt, quien demostró el ciclo de vida del tripanosoma en el tracto digestivo del insecto.

El método consiste en la utilización de los vectores cultivados en el laboratorio de la tripanosomiasis americana, quienes succionan sangre del paciente, después de un período de incubación las heces son obtenidas y observadas en el microscopio en busca de tripanosomas. La proporción de pacientes serológicamente positivos y detectados por xenodiagnóstico varía entre un 17 a 70% (22).

b. Hemocultivo: Las muestras pueden ser sembradas en medios como los de Tobie, el semisólido de Wenyon, LIT, NNN y otros medios de cultivo. Los microorganismos crecen a temperatura entre 22 y 24°C y se hacen resiembras cada 1 a 2 semanas; el material centrifugado se examina microscópicamente para obtener tripanosomas (21, 22).

En un estudio realizado por Minter en 35 pacientes seropositivos para *T. cruzi* en estadio crónico de la enfermedad, 26% de los mismos fueron confirmados por hemocultivo positivo y el 31% por xenodiagnóstico. Estos resultados son comparativos a los obtenidos en otros estudios lo que demuestra que el xenodiagnóstico es más sensible que el hemocultivo (23).

c. Micrométodo de concentración: Ha dado buenos resultados en el diagnóstico de la tripanosomiasis africana, por ello se ha adaptado para el diagnóstico congénito o de la fase aguda de la enfermedad de Chagas. La técnica de Freilij es un método cuantitativo al medir el volumen de muestra sanguínea depositado en el capilar y el número de parásitos sanguíneos cuantificado. El primer paso consiste en plotear una curva de calibración de volúmenes sanguíneos contra volúmenes definidos de sangre en tubos capilares (5, 10, 15 y 20 μ L). Posteriormente los tubos son sellados y el volumen de sangre se mide con una regla.

Los tubos sellados son centrifugados a 3000 g por 40 segundos usando una centrífuga para microhematocrito. Después de centrifugar los tubos, éstos se mantienen en posición vertical y se cortan entre la capa de glóbulos blancos y la red de células rojas. La capa de glóbulos blancos se deposita sobre un portaobjetos y se coloca un cubreobjetos de 22 x 22 mm, la preparación se examina microscópicamente en un aumento de 400 veces. Si se observan 100 o más parásitos aleatoriamente en los campos observados, se cuentan los parásitos que se encuentran en la línea diagonal del

cubreobjetos y el resultado se multiplica por 16, que es el recíproco de la fracción de los campos totales del cubreobjetos y se divide dentro del volumen estimado de la curva de calibración. Si los parásitos contados son menos de 100, se deben examinar todos los campos y simplemente dividir por el volumen de muestra (22).

3. **Serología:**

Estas pruebas proporcionan un apoyo confirmatorio en la infección por *T. cruzi*, dentro de las cuales cabe mencionar:

a. **Aglutinación con partículas de látex o con partículas de gelatina (GPAT):**

Las partículas de polietileno ó gelatina se unen a diferentes tipos de antígenos obtenidos por lisis de parásitos. Estas pruebas muestran una alta sensibilidad para el diagnóstico en las tres fases de la enfermedad. Poseen alto grado de sensibilidad y detecta anticuerpos IgG e IgM.

b. Hemoaglutinación indirecta (HAI): Esta reacción es más sensible que la fijación del complemento, se utilizan glóbulos rojos a los cuales se les adhiere un antígeno de tipo proteico o una fracción de polisacárido. Para grandes poblaciones puede emplearse el micrométodo. La sensibilidad es mayor en las formas crónicas que en las agudas, su especificidad se considera buena, este ensayo detecta anticuerpos IgG.

c. Ensayo inmunoenzimático (ELISA): El antígeno soluble es adherido a la superficie sólida, el anticuerpo a detectar se une a este antígeno y entonces se agrega un segundo anticuerpo (anti IgM ó IgG humana) marcado con peroxidasa. La reacción se revela con un sustrato específico y se lee la absorbancia espectrofotométricamente a 490 nm. Las pruebas de ELISA desarrolladas recientemente que usan antígenos recombinantes, proporcionan un instrumento serodiagnóstico muy específico y sensible para la detección de este parásito (21, 24).

d. Inmunofluorescencia indirecta (IFI): Es una prueba que proporciona resultados positivos precozmente y permanece en títulos bajos por tiempo prolongado, el antígeno empleado es epimastigotes o tripomastigotes de *T. cruzi* fijados en las láminas. En algunas ocasiones se pueden tener reacciones cruzadas por infecciones con otros

protozoarios; es posible detectar anticuerpos IgG e IgM dependiendo de la inmunoglobulina con la que se marque el conjugado (2, 22).

Esta técnica se basa en la capacidad de los anticuerpos de unirse a ciertos colorantes fluorescentes sin alterar sus propiedades inmunológicas; el procedimiento se basa en dos reacciones, en el primer caso el suero del paciente (1er. anticuerpo) se pone en contacto con el antígeno parasitario, si los anticuerpos están presentes en el suero del paciente, se unen al antígeno formando un complejo antígeno-anticuerpo. Si el suero no contiene anticuerpos contra el parásito, no se formará el complejo y los componentes del suero serán eliminados. En la siguiente etapa se agrega una antiglobulina humana marcada con isotiocianato de fluoresceína (2do. anticuerpo); si el complejo se formó en la primera reacción la fluoresceína se adherirá a este y se observará una reacción positiva como una fluorescencia verde manzana brillante.

Aproximadamente 70-90% en la fase aguda y el 100% en la fase crónica son diagnosticados por esta técnica; se han observado reacciones cruzadas con leishmania y malaria (25).

Es frecuente que los vectores sufran una infección mixta con *T. rangeli* ya que ambos comparten los mismos huéspedes vertebrados e invertebrados, esto en muchas ocasiones da lugar a que el serodiagnóstico de resultados falsos positivos por las reacciones cruzadas entre las dos especies de tripanosomas (26).

G. Tratamiento:

En la patogénesis de las complicaciones crónicas de la enfermedad de Chagas el parásito juega un rol importante; se han ensayado una gran cantidad de compuestos en diversas formas de aplicación, sin embargo, el número de drogas permitidas para uso clínico son restringidas. Entre ellas se encuentra Nifurtimox® (Bayer 2502) y el Benznidazole® (Rochagan), ambas drogas nitroheterocíclicas son avaladas para el tratamiento de la infección con *T. cruzi*, ya que reducen la parasitemia (27, 28).

El benznidazole es administrado en dosis de 5 a 8 mg/kg/día durante 30 a 60 días, el tratamiento se discontinúa en presencia de rash o evidencia de neuropatía periférica. Sus efectos secundarios son muy frecuentes y molestos entre los que se encuentra la dermatitis y menos frecuentemente anorexia, diarrea, fotosensibilidad, náusea, prurito, urticaria y vómitos. El Nifurtimox se aplica en dosis de 5 a 7 hasta un máximo de 15 a 17

mg/Kg/día durante 120 días, sus efectos colaterales son: anorexia, náuseas, vómitos, dolor abdominal, irritabilidad y excitabilidad muy frecuentemente; cefalea, insomnio, polineuropatías y parestesias con moderada frecuencia; temblor en el cuerpo, debilidad, pérdida de peso, fotosensibilidad, prurito, mialgias, dermatitis, artralgias y astenias con menor frecuencia (27, 29).

Una variante es la combinación del nifurtimox más interferón gamma, la que permite acortar la fase aguda y aliviar por una temporada a algunos pacientes con tripomastigotes aún presente en la sangre.

H. Prevención y control:

La determinación de la densidad poblacional de los vectores intradomiciliares triatominos de la transmisión de la enfermedad de Chagas es una estrategia importante para los estudios entomológicos y para el establecimiento de métodos de control que permitan evitar la transmisión vectorial, así como para evaluar la efectividad de los métodos de fumigación (2, 21).

Es importante controlar los transmisores con insecticidas residuales, destruir su hábitat y evitar el contacto con reservorios de animales (2, 21).

La aplicación de insecticidas en las casas ha dado buenos resultados ya que luego de la aplicación de los químicos se interrumpe la transmisión de la enfermedad.

Los insecticidas más empleados son órgano fosforado, piretroides o compuestos carbonados. Se han observado buenos resultados en la disminución de *T. dimidiata* después de la aplicación de insecticidas; sin embargo no es una práctica muy común debido a los efectos adversos observados en los animales domésticos (2, 30, 31).

Los programas de rociamiento convencional o por participación comunitaria tienen efectos temporales; los resultados se ven mitigados por la interrupción del rociamiento o el escaso efecto residual de los insecticidas empleados, particularmente los piretroides, que mantienen las viviendas libres de triatóminos durante apenas un año. Aunque las tasas de infestación domésticas disminuyen drásticamente, las tasas peridomésticas muestran niveles elevados de infestación después de un año (31, 32).

En la fase aguda de la enfermedad de Chagas, el pronóstico depende de una serie de factores, tales como la edad, el estado de nutrición, el tipo y la intensidad de las manifestaciones presentadas por el paciente (33).

Casi siempre la enfermedad tiene carácter más grave en los lactantes, sobre todo en los de corta edad, a los que les puede ocasionar la muerte. En las zonas endémicas donde la enfermedad es muy frecuente, es un importante factor de mortalidad infantil, por lo cual es necesario prevenir la transmisión de esta enfermedad (33).

El pronóstico de la cardiopatía chagásica crónica es variable y depende, principalmente del grado de aumento del corazón, del tipo de trastorno de ritmo cardíaco, del grado de insuficiencia cardíaca y de la tendencia evolutiva de la infección. La muerte puede sobrevenir súbitamente o bien luego de un tiempo de padecimiento (18).

I. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en Guatemala:

Diversos estudios realizados en Guatemala han demostrado la existencia de la enfermedad, se estima que la prevalencia general es del 8%, existiendo áreas donde ésta llega hasta el 46% (13).

En el año de 1,932 el estudio realizado por Reichenow reportó los primeros casos de tripanosomiasis americana en Guatemala. Desde esa época se han continuado los estudios; así en los años de 1935 a 1,954 Peñalver y colaboradores describieron la zona endémica en el sur-oriente del país: Santa Rosa, Jalapa, El Progreso, Chiquimula, Zacapa, estableciéndose que la composición vectorial para esos departamentos era de *R. Prolixus*, *T. dimidiata* y *T. nitida* (6).

En el año de 1943 Montenegro en los primeros estudios realizados sobre los triatominos reporta su presencia en las aldeas El Platanarcito y Santo Domingo, pertenecientes al municipio de San Pedro Pinula, departamento de Jalapa, obteniendo un índice de infección del 67.7% en el total de triatominos capturados (6).

En ese mismo año Blanco reporta el hallazgo de *T. dimidiata*, en Ipala, Olopa, La Tuna y El Orégano en el departamento de Chiquimula; Chiquimulilla, Las Viñas, Los Esclavos y Casillas del departamento de Santa Rosa, y de *R. Prolixus* en San Pedro Pinula y San Luis Jilotepeque, Jalapa, así como en el Progreso y Zacapa (35).

En el período comprendido entre 1,954 a 1,957 en autopsias realizadas a pacientes originarios de la zona endémica, específicamente los departamentos de Santa Rosa, El Progreso, Jalapa, Chiquimula, Baja Verapaz y Escuintla, se caracterizaron 44 casos de miocarditis crónica (35).

Castillo, Matta y Cáceres, determinaron la frecuencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en los departamentos de Jutiapa, Jalapa, Santa Rosa y Escuintla del área endémica y del área no endémica Chimaltenango y Guatemala, obteniéndose los siguientes porcentajes: Escuintla 13.6, Jutiapa 12.7, Santa Rosa 7.6, Jalapa 2.9 y las muestras del área no endémica 3.9 (35).

En el estudio realizado por Monroy y cols. en los 22 departamentos de la república, se recolectó un total de 4,128 triatomos, de los cuales 2,344 fueron *R. prolixus*, 1,675 *Triatoma dimidiata* y únicamente 109 *Triatoma nitida*. Las dos primeras especies muestran un porcentaje de infección natural similar con un 19 y 21 respectivamente, mientras que la última posee niveles más bajos 13.8% (36).

La composición vectorial en Guatemala es *T. dimidiata*, *R. prolixus* y *T. nitida* en un 64.6%, 30.7% y 4.7% respectivamente. Según el reporte técnico de la OMS del año de 1,991 en Jalapa es donde se encuentra el mayor porcentaje de *T. nitida* con un 63.8%. En este estudio, Jalapa ocupa un sexto lugar en el índice de densidad de infestación con triatomos con un 0.63, un tercer lugar en el índice de población y dispersión respectivamente (11.4 y 45.5); sin embargo presenta un índice de infección natural de 0%. El riesgo de adquirir la enfermedad es de un 5.6% (7,524 personas) en la población jalapaneca. Los departamentos de Zacapa (38.9%), Guatemala (37.5%), Santa Rosa (25.1%) y Chiquimula (22.7%) clasificados como endémicos (15).

En el censo realizado en 1,994 se determinó que el 65% de la población habita en el área rural y que el 60% de estas personas viven en casas con paredes embarradas, factor que estimula el desarrollo intradomiciliar del vector (13).

En el año de 1995 Kaneko, Iraheta y Argueta realizaron estudios en donadores de 27 bancos de sangre de hospitales nacionales, un 0.97% (172) se encuentran infectados de un total de 17,775 donadores. El hospital Nacional Nicolasa Cruz de Jalapa tiene 4 casos positivos de los 301 donadores del banco de sangre muestreados en el año de 1,995, lo cual corresponde a 1.33% (7).

En un estudio realizado por el departamento de Citohistología, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia en la aldea "Pie de la Cuesta" del Municipio de San Pedro Pinula, Jalapa en el año 2,000, se detectó una incidencia de anticuerpos IgG en niños en edad escolar superior al 14.29%, en dicho estudio se estableció una relación entre la presencia de la infección y la de los factores de riesgo en las viviendas de los niños seropositivos (8).

El reporte del programa Nacional de Bancos de Sangre para el período comprendido de enero a diciembre de 2001 indica una presencia de anticuerpos en 645 donadores para un 1.48% del total de los donadores analizados. Para el período de enero a diciembre de 2002 se reporta presencia de anticuerpos en 683 donadores para un 0.89% de la población nacional; sin embargo para ambos períodos no se reportó presencia de anticuerpos en los donadores que asistieron al hospital nacional de Jalapa (37).

J. Descripción del área de estudio:

La aldea "Pie de la Cuesta" se encuentra ubicada a 3.5 kilómetros de distancia al nororiente de la cabecera municipal de San Pedro Pinula. Su altitud sobre el nivel del mar es de aproximadamente 2,050 metros (38).

El acceso a dicha comunidad es por carretera de terracería, la cual se encuentra en regulares condiciones. Esta misma carretera comunica a la aldea y al municipio con el municipio de San Luis Jilotepeque que dista 18 kilómetros de la misma. Otras vías de acceso son carreteras menores que permiten la comunicación con otras aldeas limítrofes (Anexo 2) (38).

En el año 2,000 en el censo realizado por las autoridades educativas, se reportaron 700 personas y 136 viviendas. La comunidad cuenta con una escuela primaria, con jornada matutina (de párvulos a 6to. grado), y telesecundaria con jornada vespertina. Los servicios de salud, los presta el centro de salud ubicado en la cabecera municipal (Anexo 3) (38).

La mayoría de viviendas cuentan con servicio de luz eléctrica, agua transportada en cañerías (no se le administra ningún tipo de tratamiento para hacerla potable) y

sistema de letrinas para deposición de excretas. La mayoría de las viviendas son de adobe con techo de teja o embarradas aunque se observan algunas de paja (38).

El grado de escolaridad es bajo y la mayoría de habitantes se dedican a la agricultura. Los hombres del lugar acostumbran emigrar a las fincas ubicadas en la costa, durante el mes de diciembre para regresar en enero y en el mes de febrero para regresar en mayo, y poder estar en el municipio antes de la época de siembra (38).

IV. JUSTIFICACIÓN

La aldea "Pie de la Cuesta", del municipio de San Pedro Pinula del departamento de Jalapa, está ubicada en el área, que de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud y al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social es endémica para la enfermedad de Chagas. Esta enfermedad es de alta incidencia en la población latinoamericana, afecta principalmente a poblaciones económicamente activas y puede ocasionar problemas cardíacos severos, incluyendo la muerte súbita. Además, presenta el agravante de que no existe un tratamiento eficaz en la fase crónica de la misma.

En el año 2000 en un estudio realizado por Matta y colaboradores en el departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, se detectó una incidencia de anticuerpos anti *T. cruzi* de 14.29 % en niños en edad escolar de esta comunidad, lo que es indicativo de la presencia de transmisión activa en esa área. Por ello es de suma importancia investigar a los niños que no asisten a la escuela para establecer el porcentaje de positividad de la población infantil en general.

Esto en un futuro próximo permitirá que se establezcan medidas de control como lo son la aplicación de químicos que erradiquen los vectores y las modificaciones de las viviendas, para impedir un incremento en la población que padece esta enfermedad.

V. OBJETIVOS

A. GENERAL

Determinar la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en niños comprendidos entre 0 y 14 años de edad que no asisten a la escuela de la comunidad.

B. ESPECÍFICOS

1. Comprobar si la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en el mismo grupo etáreo que asiste a la escuela, es igual para toda la población infantil de la comunidad.
2. Identificar a través del cuestionario epidemiológico, los factores de riesgo de transmisión de la enfermedad presentes en la comunidad.
3. Promover la administración de tratamiento contra el *T. cruzi* a través de las autoridades de salud para aquellos niños que presenten infección por el parásito.
4. Referir a los pacientes seropositivos al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social para que se les brinde asistencia clínica y se les administre el tratamiento según el daño que presenten.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo:

Niños comprendidos entre los 0 - 14 años de edad que viven en la aldea "Pie de la Cuesta".

1. Muestra:

190 niños comprendidos entre los 0 y 14 años de edad que viven en la aldea "Pie de la Cuesta" que no fueron encuestados en el estudio anterior.

B. Recursos:

1. Humanos

Investigadora: María Edelmira Concepción Aguilar Sandoval.

Asesoras: Vivian Matta, Q.B., MSc.

María Paula De León, Q.B.

2. Institucionales

- a. Laboratorio Microbiológico de Referencia (Unidad de Inmunodiagnóstico), LAMIR.
- b. Unidad de Informática del Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB)
- c. Escuela rural "Pie de la Cuesta"

3. Materiales

a. Equipo

- ◇ computadora
- ◇ impresora
- ◇ proyector de acetatos
- ◇ proyector de diapositivas
- ◇ incubadora a 37°C
- ◇ centrífuga
- ◇ refrigeradora a 4°C

- ◇ congelador a -20°C
- ◇ agitador tipo vortex
- ◇ mezclador de reactivos
- ◇ microscopio para inmunofluorescencia
- ◇ agitador de placas para látex
- ◇ lámpara de luz

b. Materiales de laboratorio

- ◇ tubos vacutainer con anticoagulante edta, para extracción al vacío
- ◇ agujas multimuestra para punción venosa
- ◇ adaptadores para agujas multimuestra
- ◇ algodón
- ◇ alcohol
- ◇ recipiente descartador de agujas y punzocortantes
- ◇ guantes
- ◇ micropipetas multivolumen
- ◇ puntas para micropipetas multivolumen
- ◇ descartador de puntas para micropipeta
- ◇ gradillas
- ◇ microplacas con fondo en u
- ◇ papel absorbente
- ◇ cloro

c. Reactivos:

- ◇ Kit de prueba para aglutinación con partículas de gelatina (TC-PA) FUJIREBIO INC.
- ◇ Kit Pathozyme Chagas (Omega Diagnostics) para prueba de Inmunoensayo enzimático
- ◇ Kit de reactivos para Inmunofluorescencia (preparado en el Laboratorio Microbiológico de Referencia, Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia).

C. Procedimiento

1. **Recolección de la muestra:**

- a. Se visitó las casas que se encontraban dentro del perímetro de la aldea y se determinó si en las mismas habitaban niños comprendidos entre los 0 y los 14 años de edad, que no hubieran participado en el estudio realizado en el año 2,000 por el Departamento Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- b. Se explicó a los padres de familia el motivo del estudio y se obtuvo el consentimiento verbal de los padres de familia para que sus hijos participaran en el estudio.
- c. Se llenó la boleta epidemiológica de los niños que tenían el consentimiento de sus padres para participar en el estudio (Anexo 4).
- d. Se limpió asépticamente el área en la cual se iba a extraer la sangre.
- e. Se extrajo por medio de punción venosa 5 mL. de sangre en tubos con anticoagulante para todas las personas anotadas con anterioridad.
- f. El encuestador llenó un cuestionario epidemiológico por cada casa que se visitó en la comunidad.

2. **Procesamiento de la muestra:**

- a. Se transportaron las muestras al Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- b. Se centrifugaron los tubos con sangre a 10,000 rpm por 5 minutos.
- c. Se congelaron los plasmas colocándolos en viales eppendorf a -20° Celsius, hasta el momento de su utilización.





3. **Prueba de aglutinación con partículas de gelatina (GPAT):**

- a. Se identificaron las microplacas, dos controles positivos, dos controles negativos y la identificación de las muestras a analizar.
- b. Se rotuló la microplaca con el número de muestra y de dilución.
- c. Se reconstituyeron las partículas sensibilizadas y los reactivos a utilizar.
- d. Se agitaron los reactivos antes de emplearlos.

- e. Se prepararon diluciones 1:32 de los plasmas con solución diluyente, mezclando en el primer pozo 175 μ l de buffer de fosfatos y 25 μ l de plasma (dilución 1:8); se tomó 25 μ l de esta solución y se mezcló con 25 μ l de buffer de fosfatos (dilución 1:16) en el segundo pozo, se repitió este procedimiento una vez más para obtener la dilución final de 1:32.

Dilución	1:8	1:16	1:32
Solución bufferada	175 μ l	25 μ l	25 μ l
Suero, control positivo o control negativo	25 μ l	25 μ l	25 μ l
Partículas control		25 μ l	
Partículas sensibilizadas			25 μ l

- f. Se prepararon diluciones 1:32 de los controles positivo y negativo.
 g. Al pozo con dilución 1:16 se le agregó 25 μ l de partículas control y al pozo con dilución 1:32 se le agregó 25 μ l de partículas sensibilizadas.
 h. Con suaves golpes en los bordes de la placa, se homogenizó la solución.
 i. Se incubaron las placas sin agitación, por dos horas a temperatura ambiente.
 j. Se evaluó la positividad de las muestras de la siguiente forma:

Formación de un botón compacto bien definido	Negativo	
Formación de un botón +/- compacto	Indefinido	
Formación de un red o tamiz difusa y amplia	Positivo +	
Formación de una red o tamiz que abarca todo el diámetro del pozo	Positivo ++	

- k. Las muestras que dieron el tamizaje 1:32 positivo se titularon hasta 1:1024 para establecer la dilución final a la cual se presentaban anticuerpos contra *T. cruzi* (40).

4. Prueba de inmunoensayo enzimático (ELISA):

- a. Se preparó la hoja de identificación de las muestras y controles por cada pozo.

- b. Se incluyeron controles positivo y negativo para cada ensayo.
- c. Se realizó una dilución 1:25 de las muestras con el diluyente provisto en el reactivo.
- d. Se mezclaron las diluciones y los controles con el diluyente incluido en el kit de reactivos.
- e. Se dispensó 100µl de muestras diluidas y los controles sin diluir a los pozos asignados de acuerdo a la hoja de identificación.
- f. Se agitó la placa que contenía las muestras, se cubrió e incubó a 37°C por 60 minutos.
- g. Al finalizar el período de incubación se sacó la placa de la incubadora, se descartó el contenido de los pozos, invirtiendo la placa rápidamente sobre un contenedor seguro.
- h. Se golpeó la placa sobre un papel absorbente para eliminar los líquidos remanentes.
- i. Se dispensó en cada pozo 100µl del conjugado anti IgG humana marcado con peroxidasa y se mezcló por 5 segundos.
- j. Se incubó por 30 minutos a 37°C
- k. Se descartó por inversión el contenido de los pozos en un contenedor seguro.
- l. Se lavó los pozos tres veces.
- m. Se dispensó en cada pozo 100 µl de solución substrato y se mezcló la placa vigorosamente por 5 segundos.
- n. Se incubó la placa en oscuridad por 15 minutos a 37°C.
- o. Se agregó a cada pozo 100µl de solución de parada.
- p. Se mezcló la placa y se verificó el cambio del color azul al color amarillo.
- q. Se leyó la densidad óptica con un filtro primario a 405 nm y con filtro diferencial a 630 nm; con un lector de microplacas, inmediatamente después de realizada la reacción de parada (39).

5. **Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI):**

- a. Se preparó la solución salina de fosfatos (PBS de Dulbecco's).
- b. Se realizaron diluciones 1:20, 1:40 y 1:80 de los plasmas en las placas de microtitulación, con volumen final de 200µl.

- c. Se esperó que las láminas para IFI con epimastigotes alcanzaran temperatura ambiente.
- d. Se empleó doble control positivo y doble control negativo cada día que se prepararon las muestras.
- e. Se agregó a cada pozo 10 μ l de las diluciones de la muestra.
- f. Se incubaron en cámara húmeda a 37 °C por media hora.
- g. Se realizaron tres lavados con PBS de Dulbecco's de 10 minutos cada uno.
- h. Se preparó una dilución de 1:32 del conjugado (anti IgG-humana, marcada con tiocianato de fluoresceína) utilizando PBS Dulbecco's con azul de Evans al 1% (colorante de contraste).
- i. Se depositó 10 μ l. de conjugado en cada pozo de la placa para inmunofluorescencia que con anterioridad había sido lavada con PBS de Dulbecco's.
- j. Se incubó nuevamente las placas por media hora a 37 °C.
- k. Se realizaron tres lavados con PBS de Dulbecco's de 10 minutos cada uno.
- l. Se secaron las láminas a temperatura ambiente.
- m. Se aplicó a las láminas glicerina bufferada y se cubrieron con cubreobjetos para IFI, evitando la formación de burbujas de aire
- n. Se comparó los resultados con los controles positivo y negativo (41).

POSITIVO: Fluorescencia color verde manzana (particularmente intensa en la membrana y el flagelo del parásito)

NEGATIVO:

Ausencia total de fluorescencia.

Parásitos coloreados difusamente sin fluorescencia de membrana.

Parásitos mostrando fluorescencia de citoplasma y estructuras intracitoplasmática en forma no homogénea.

Predominio de la coloración de contracolor (fondo y antígeno rojizo) (25).

6. **Interpretación de resultados:**

Las muestras que presentaron al menos dos pruebas positivas de las empleadas para *T. cruzi* fueron consideradas de serología positiva (Criterio establecido por la OMS)

D. Diseño metodológico:

a. **Muestreo:**

Inicialmente se programó una muestra poblacional de 113 niños, sin embargo dicho número se incrementó a 190 niños con el fin de evaluar de una mejor forma la presencia de anticuerpos en esta población.

La muestra estuvo comprendida por niños entre los 0 y 14 años de edad, que habitaban en la aldea "Pie de la Cuesta" y no habían participado en el estudio del año 2000.

Dicho número se obtuvo del cálculo:

Número de niños censados en el año 2000 - Número de niños que participaron en el estudio previo = $420 - 154 = 266$.

$$n = \frac{Nz^2 pq}{d^2(N-1) + z^2 pq}$$

$z^2 = (1.96)^2$ Valor para un intervalo de confianza del 95%

$p = 0.15$ Proporción de la población que posee característica de interés (basado en el resultado del estudio del año 2000).

$q = 0.85$ $1 - p$.

$d^2 = (0.05)^2$ Error estándar

$N = 266$ Población total

$$n = \frac{266(1.96)^2(0.15)(0.85)}{(0.05)^2(266-1) + (1.96)^2(0.15)(0.85)}$$

$130.29 / 1.152 = 113.1$ niños

b. **Análisis de resultados:**

Los resultados obtenidos se expresaron utilizando una estadística descriptiva, de la siguiente forma:

1. Porcentaje de pacientes que presentaron anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*.
2. Porcentaje de viviendas en las cuales habitaban niños que presentaban infección activa y que tenían factores de riesgo.
3. Grupo etáreo más afectado.
4. Género más afectado.
5. Tablas de contingencia para entrecruzamiento de variables, el cálculo de X^2 y del valor p.
6. Material de construcción de las paredes vrs. infección
7. Material de construcción del techo vrs. infección
8. Presencia de repello en las paredes vrs. infección
9. Deyecciones en las paredes que sugieran presencia del vector vrs. infección
10. Presencia de animales domésticos dentro de la casa vrs. infección
11. Lugar de procedencia vrs. infección
12. Migración a otras partes del país vrs. infección
13. Presencia de leña apilada vrs. infección
14. Presencia de la chinche dentro de la casa vrs. infección

VII. RESULTADOS

La población estudiada estuvo conformada por 190 niños comprendidos entre 0 y 14 años de edad, de los cuales 101 (53%) pertenecían al género masculino y 89 (47%) eran del género femenino (Tabla 1).

En las muestras obtenidas se determinó la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* por medio de las pruebas de Aglutinación con Partículas de Gelatina (GPAT), Inmunoensayo absorbente ligado a enzimas (ELISA) e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). De las 190 muestras, 19 (10%) presentaron resultado positivo en dos de los tres métodos evaluados, por lo que fueron consideradas positivas (Tabla 1 y anexo 5).

Tabla 1. Resultados serológicos positivos en las muestras del estudio según grupo etareo

Edad	Muestras positivas		Muestras negativas		Total de muestras	
	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino
00-03	1	0	15	15	16	15
04-07	2	2	32	26	34	28
08-11	3	4	29	26	32	30
12-14	4	3	15	13	19	16
Sub-total	10	9	91	80	101	89
Total	19 (10%)		171 (90%)		190 (100%)	

En el anexo 6 se puede observar que la mayor densidad poblacional se encontró en el grupo de 4 a 7 años y el género con mayor representatividad es el masculino. En el anexo 7 se puede observar que los grupos etáreos más afectados son los de 8 a 11 años y de 12 a 14 años de edad.

La primera prueba realizada como tamizaje fue la GPAT en la cual se obtuvo 20 (20.5%) muestras positivas; posteriormente se procedió a realizar las pruebas confirmatorias, obteniéndose 18 (9.5%) muestras positivas para ELISA y 19 (10%) para IFI, tal como se observa en la Tabla 2.

Tabla 2. Distribución etárea de la población evaluada y resultados de serología para *T. cruzi*

Grupo etáreo	GPAT		ELISA		IFI	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
00-03	1	30	1	30	1	30
04-07	5	57	4	58	4	58
08-11	7	55	6	56	7	55
12-14	7	28	7	28	7	28
Sub-total	20 (10.5%)	170 (89.5%)	18 (9.5%)	172 (91.5%)	19 (10%)	171 (90%)
Total	190		190		190	

La Tabla 3 muestra la distribución de las muestras positivas por GPAT de acuerdo al género y edad del paciente.

Tabla 3. Resultados de GPAT en relación a grupo etáreo y género

Grupo etáreo	Muestras positivas		Muestras negativas		Total de muestras	
	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino
00-03	1	0	15	15	16	15
04-07	2	3	31	26	34	28
08-11	3	4	29	26	32	30
12-14	4	3	15	13	19	16
Sub-total	10	10	90	80	101	89
Total	20 (10.5%)		170 (89.5%)		190 (100%)	

Las muestras positivas por GPAT para la dilución 1:32 se titularon hasta una dilución de 1:1024, reportándose como título positivo el último en el cual se evidenció la reacción; los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Titulación de las muestras positivas por GPAT

Grupo etéreo	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	≥1:1024	Total
00-03	0	0	0	1	0	0	1
04-07	1	1	1	1	0	1	5
08-11	0	1	2	0	2	2	7
12-14	0	1	1	1	2	2	7
Total	1 (5%)	3 (15%)	4(20%)	3(15%)	4(20%)	5(25%)	20 (100%)

Como se puede observar en la tabla 5, se obtuvo 18 (9.5%) muestras positivas, registrándose el mayor porcentaje de positividad en el grupo etéreo comprendido entre 12 y 14 años.

Tabla 5. Resultados de ELISA en relación a grupo etéreo y género

Grupo etéreo	Muestras positivas		Muestras negativas		Total de muestras	
	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino
00-03	1	0	15	15	16	15
04-07	1	3	33	25	34	28
08-11	3	3	29	27	32	30
12-14	4	3	15	13	19	16
Sub-total	9	9	92	80	101	89
Total	18 (9.5%)		172 (90.5. %)		190 (100%)	

El tercer método utilizado para evaluar la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* fue IFI, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados de IFI en relación a grupo etáreo y género

Grupo etáreo	Muestras positivas		Muestras negativas		Total de muestras	
	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino
00-03	1	0	15	15	16	15
04-07	2	2	32	26	34	28
08-11	3	4	29	26	32	30
12-14	4	3	15	13	19	16
Sub-total	10	9	91	80	101	89
Total	19 (10%)		171 (90%)		190 (100%)	

Las muestras positivas a IFI se titularon hasta 1:80, 7 (36.8%) de las 19 muestras persistieron positivas a un título \geq a 1:80 (Tabla 7).

Tabla 7. Titulación de anticuerpos contra *T. cruzi* por IFI-IgG

EDAD	Título de IFI			Total
	1:20	1:40	\geq 1:80	
00-03	1	0	0	1
04-07	0	4	0	4
08-11	1	1	5	7
12-14	1	4	2	7
Total	3 (16%)	9 (47%)	7 (37%)	19 (100%)

El análisis epidemiológico de los factores evaluados en la encuesta, permitió asociar la presencia de los anticuerpos y los factores de riesgo. Se realizó un análisis estratificado en el programa epidemiológico EPIINFO 6, evaluando los límites de confianza en un 95% y la razón de riesgo para cada variable (Tabla 8).

Tabla 8. Factores de riesgo relacionados con la presencia de la infección

Factor	Razón de Riesgo	Límite de la Razón de riesgo
Material de construcción de la vivienda		
Bajareque	2.31	0.81 – 6.57
Embarrado	3.00	1.07 – 8.38
Adobe	0.47	0.18 – 1.23
Material de construcción del techo		
Teja	0.60	0.23 – 1.55
Material del suelo		
Tierra	0.64	0.24 – 1.75
Condiciones habitacionales		
Repello en las paredes	2.69	0.86 – 8.41
Presencia de animales en la vivienda	1.18	0.46 – 3.02
Leña apilada	0.53	0.20 – 1.44
Antecedentes de exposición al vector		
Número de Abortos de la madre	2.15	0.84 – 5.53
Presencia intradomiciliar del vector	1.90	0.69 – 5.25
Historia de contacto con el vector	2.45	0.97 – 6.21

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La entrevista con los padres de familia en sus respectivas viviendas, permitió visualizar las condiciones habitacionales y de higiene de la familia. El proceso de obtención de las muestras sanguíneas fue un poco difícil debido a la renuencia de los padres que piensan que las muestras sanguíneas son utilizadas para comercializarlas y que los niños se pueden enfermar o morir debido al proceso de extracción sanguínea. Después de lograr la concientización en los padres de familia y su autorización, se procedió a extraer las muestras sanguíneas bajo condiciones asépticas y a realizar la encuesta epidemiológica.

La muestra estuvo conformada por 190 niños comprendidos entre 0 y 14 años de edad, de los cuales 101 (53%) pertenecían al género masculino y 89 (47%) eran del género femenino, esta diferencia en la distribución poblacional posiblemente se debe a que las niñas colaboran con los oficios que se realizan fuera del hogar, como lavar en el río o llevando alimento a los hombres mayores que se encuentran laborando en el campo, mientras que los niños colaboran con cuidar los animales en la casa y los cultivos que se realizan en los terrenos aledaños a la casa.

La determinación de anticuerpos contra *T. cruzi* se realizó por el método de Aglutinación con Partículas de gelatina (GPAT), utilizando como criterio de positividad el título mayor o igual a 1:32. Por este método se obtuvo 20 (10.5%) muestras positivas. El título más frecuente de positividad fue $\geq 1:1024$ (Tabla 4). El mayor porcentaje de individuos con títulos de anticuerpos más altos se encontró en los grupos etáreos de mayor edad, de 8 a 14 años, posiblemente debido a que estos niños han tenido mayor tiempo de contacto con el vector y expuestos a mayor riesgo de infectarse con el parásito, motivo por el cual se asume que su cuerpo ha generado mayor cantidad de anticuerpos.

De las 20 muestras positivas por GPAT 18 (90%) lo fueron por el método de ELISA, obteniéndose una correlación entre ambos ensayos por el método de los mínimos cuadrados de $r=0.90$, lo que indica una buena correlación. La diferencia de resultados podría atribuirse a que existe diferencia en el tipo de antígeno utilizado entre ambas pruebas.

Estos resultados correlacionan con la literatura, ya que la misma reporta una relación entre Hemoaglutinación Indirecta (HAI) y ELISA de un 95% a un 100%, a pesar que la prueba empleada no es HAI sino GPAT, pero tiene un principio similar que la HAI, por lo tanto cabe esperar que los resultados mostraran un comportamiento igual al descrito con esta prueba. (42, 43).

Las muestras positivas por cualesquiera de los dos métodos anteriores se corroboraron por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta IFI para detectar anticuerpos IgG contra *T. cruzi* confirmándose 19 muestras.

La relación obtenida entre el método de GPAT e IFI es de $r = 0.95$ y de ELISA con IFI es de 0.94, en ambos métodos la correlación entre ensayos es muy buena. El tipo de antígeno presente en las pruebas empleadas podría ser la causa de esa variación entre las metodologías.

La relación reportada para los métodos de ELISA e IFI, correlaciona con el comportamiento observado en el estudio actual; se observa un comportamiento similar para la prueba de HAI con IFI, no encontrándose resultados comparativos para la prueba de GPAT e IFI (44, 45, 46).

El método de GPAT es de fácil utilización y es un buen método de tamizaje ya que posee una gran sensibilidad y buena especificidad.

La técnica de ELISA es un excelente ensayo para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* por tener una alta sensibilidad y especificada.

A pesar de que la técnica de IFI es laboriosa y requiere muchas precauciones en su procesamiento para obtener resultados reproducibles, es muy sensible y específica para la determinación de anticuerpos contra este parásito. El título significativo para dicha prueba fue de 1:20, obteniéndose un 10% de positividad.

De 190 niños comprendidos entre los 0 y 14 años de edad, 19 (10%) presentaron anticuerpos contra *T. cruzi*. Se observó una mayor prevalencia de anticuerpos en grupos de mayor edad, siendo los grupos etáreos más afectados el de 12 a 14 y de 8 a 11 años con 7 y 5 casos respectivamente (Tabla 6). Como se puede observar en los resultados anteriores el riesgo de adquirir la enfermedad aumenta en forma proporcional a la edad del paciente, lo que se debe posiblemente a que han sufrido una mayor exposición al vector de la enfermedad. Se observa un menor porcentaje de positividad que en la población similar previamente estudiada por Matta y cols. en el 2000, ya que

las viviendas de la comunidad han sido mejoradas en su construcción lo que disminuye el hábitat del vector, por lo que las nuevas generaciones tienen menor exposición al vector y por lo tanto menos riesgo de adquirir la infección por *T. cruzi*.

La encuesta realizada se analizó por medio del programa EPI INFO 6. Este análisis nos permitió observar que el material de construcción que se emplea en la mayoría de viviendas de la comunidad es el adobe (77.9%), mientras que el material utilizado en el techo es de lámina (43.7%) o de teja (43.2%) y una combinación de teja y lámina con un (13.2%). Entre otros factores asociados a la transmisión de la enfermedad están: el material de construcción de la vivienda y el techo, la ausencia de repello en las paredes, que los miembros de la familia viajan frecuentemente, la presencia del vector dentro de las viviendas y antecedentes de picadura del vector.

Este estudio permitió comprobar que la prevalencia de la enfermedad de Chagas ha disminuido en la población infantil de la aldea "Pie de la Cuesta" reduciéndose de un 14.3% de positividad en el estudio realizado por Matta y colaboradores, hasta un 10% en el presente estudio. La razón de este hallazgo posiblemente se deba a que la población estudiada comprende grupos etáreos de menor edad que el estudio anterior, donde se incluyó a niños en edad escolar, mientras que en el presente estudio se amplió el rango de edad de 0 a 14 años. De los 190 niños muestreados, 93 (48.9%) se encuentran en el grupo etáreo entre 0 y 7 años de edad. Por otro lado, estos niños están viviendo en casas que han sufridos cambios significativos en su estructura, lo cual reduce su exposición al vector. Sin embargo, hay algunas casas que aun continúan utilizando de forma predominante en su construcción, bajareque, adobe, techo de teja y no utilizan ningún tipo de revestimiento en las paredes. Los conocimientos que ha adquirido la población acerca de la enfermedad podrían también influir en la disminución de la infección.

Para evaluar la presencia del vector se llevó a cabo un plan de captura de los insectos pero sólo en una de las casas se capturaron dos chinches, las cuales no presentaban parásitos. Estos datos no son comparables con el estudio anterior ya que en el mismo no se realizó ninguna pesquisa del insecto.

Se observó una mayor frecuencia de anticuerpos en el género femenino, 10 (11.2%) niñas de 89 muestreadas presentaban serología positiva contra *T. cruzi*, mientras que 10 (9.9%) de 101 niños fueron seropositivos; este comportamiento es diferente al observado en el estudio anterior ya que en el mismo 8 niñas de 66 (12%) y 14 niños de 88 (15.9%) del género masculino presentaban anticuerpos contra *T. cruzi*; esta

diferencia podría atribuirse al hecho de que en el primer estudio la muestra perteneciente al género masculino ocupaba una mayor proporción que en la del presente estudio.

Los individuos que presentaron serología positiva a *T. cruzi* fueron referidos al centro de salud del municipio de San Pedro Pinula, en donde se les evaluó físicamente y se solicitó el tratamiento al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social para su posterior administración.

IX. CONCLUSIONES

- A. La prevalencia de anticuerpos para los niños comprendidos entre 0 y 14 años de edad que no asisten a la escuela fue de 10%.
- B. Los factores de riesgo asociados a la presencia de la infección son: el tipo de construcción de la vivienda, el uso de repello en las paredes, las condiciones habitacionales, la migración y los antecedentes de contactos previos con el vector.
- C. El género más afectado fue el femenino con un 11.24% de positividad.
- D. Los grupos etáreos más afectados fueron de 8 a 11 años y de 12 a 14 años cada uno con 7 (3.68%) pacientes positivos.
- E. La prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* ha variado en la población infantil después del estudio realizado por Matta y cols. en el año 2000.
- F. Los pacientes con serología positiva se refirieron al centro de salud para la administración del tratamiento provisto por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

X. RECOMENDACIONES

- A. Buscar por medio de las autoridades locales ayuda para promover programas de rociamiento con insecticidas adecuados a las viviendas para la erradicación del vector en la comunidad.
- B. Impulsar programas a través del Ministerio de Educación que permitan que toda la población conozca las medidas preventivas que puede implementar para reducir el riesgo de adquirir la enfermedad.
- C. Apoyar programas de evaluación clínica de los pacientes infectados para evaluar el daño orgánico que han sufrido y buscar el tratamiento curativo o paliativo de acuerdo a la necesidad de cada paciente.

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. Schweigmann NJ, *et al.* Estudio de la prevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en zarigüeyas (*Didelphis albiventris*) en Santiago del Estero, Argentina, Rev Pan Am J Pub Sal. 1999; 6:371-376.
2. Botero D, Restrepo M. Parasitosis Humanas, 2ª ed. Medellín, Colombia, Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas, 1992; 191-211.
3. Organización Mundial de la Salud: Serie de Informes Técnicos. Control de la Enfermedad de Chagas. OMS, trad. Ginebra: OMS, Doc. Tec. No. 811, 1991.
4. Monroy C, *et al.* Assessing methods for density of *Triatoma dimidiata*, the principal vector of Chagas' disease in Guatemala, Rev Med Entomol Zool. 1998; 19:301-307.
5. Tanowitz HB, *et al.* Tratamiento de la Enfermedad de Chagas, Disponible en: www.minsa.gob.pe/infovigia/normas/chagas/capituloiv.htm, Fecha de consulta: 2 de agosto de 2004.
6. Matta VL. La enfermedad de Chagas en Guatemala. Memorias del III Congreso Nacional de Microbiología, Guatemala, 1986;218pp, (p127-132).
7. Kaneko S, Iraheta M, Argueta J. Chagas Disease and blood banks of National Hospital in Guatemala. Informe Anual No. 5 para la investigación de Enfermedades Tropicales JICA, 1996, 232pp (p 71-79).
8. Matta VL. *et al.* Incidencia de Anticuerpos IgG contra *Trypanosoma cruzi* en niños en edad escolar de la Aldea Pie de la Cuesta, Municipio de San Pedro Pinula, Jalapa. Informe final de Investigación, Departamento de Citohistología. 2000; 67pp.

9. Monteón VM, *et al.* Interacción de una mezcla de epimastigotes y tripomastigotes de cultivo de un aislamiento mexicano de *Trypanosoma cruzi*. Rev Lat de Mico. 1992; 34(1):43-48.
10. Penin P, *et al.* Analytic morphometry of the *Trypanosoma cruzi* (Bolivian Strain) forms found in the intestine of *Rhodnius prolixus*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro. 1992; 87(1):159-161.
11. Develado mecanismo molecular de Infección en Enfermedad de Chagas y posible forma de neutralizarlo, disponible en www.iladiba.com/htm/noticias/2000/en14-3.asp.htm, fecha de consulta: junio de 2002.
12. Brener Z. Biología del *Trypanosoma cruzi*, Annual Review of Microbiolgy. 1973; 27(347-348).
13. CENSO 1994 (1996) Instituto Nacional de Estadística, X Censo Nacional de Población y Vivienda de Habitación, República de Guatemala, 154pp.
14. Schaub GA. Direct transmission of *Trypanosoma cruzi* between vectors of Chagas' disease. Act Trop, 1998;45:11-19.
15. Monroy, *et al.* The Geographical distribution of vectors of Chagas' Disease and population at risk of infection in Guatemala, Rev Med Entomol Zool. 1999; 50:9-17
16. Mal de Chagas: Epidemia, Pandemia, Endemia, Disponible en www.html.maldechagas/epidemia/pandemia/endemia.htm. Fecha de consulta: junio de 2002.
17. Catalá S, Crocco LB, Morales GF. *Trypanosoma cruzi* transmission risk index (TcTRI): an entomological indicator of Chagas disease vectorial transmission to humans, Ac Trop 1997.

18. Hoft DF. Differential Mucosal Infectivity of Different Life Stages of *Trypanosoma cruzi*. Am J Trop Hyg. 1996; 55(4):360-364.
19. Juri D, *et al.* Parasitemia y Miocardiopatía en Enfermedad de Chagas Crónica. Exp Med 1999;13(4):176-178.
20. Mal de Chagas, Disponible en: www.mflor.mx/materias/temas/malchagas/malchagas.htm. Fecha de consulta: agosto de 2004.
21. Brooks GF, *et al.* Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg, 15ª. Ed. Editorial El Manual Moderno, SA de CV 1995.
22. de Arias AR, Ferro EA. Quantification of *Trypanosoma cruzi* parasitaemia by direct micromethod, Trans of the Royal Soc of Trop Med and Hyg. 1988;82:248.
23. Minter – Goedbloed E, Minter DM, De Marshall TF. Quantitative comparison between xenodiagnosis and hemoculture in the detection of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* in experimental and natural chronic infections. Trans of the Royal Soc of Trop Med and Hyg. 1978; 72(3):217-224
24. Inglessis I, Carrasco H, Añez N *et al.* Seguimiento Clínico, Parasitológico e Histopatológico de Pacientes Chagásicos Tratados con Benznidazol, disponible en: <http://www.sicsalud.com/dato/datoll/99125060.html>, Fecha de consulta: 6 de Junio 2002.
25. Quiroz HM. Información Técnica de la prueba Inmunofluor, disponible en: [www.biocientifica.com.ar/espanol/instructivos _inmunofluor-chagas.html](http://www.biocientifica.com.ar/espanol/instructivos/_inmunofluor-chagas.html), Fecha de consulta: 6 de Junio de 2002.
26. Vallejo GA, Marinkelle CJ, Jul F, De Sanchez N. Comportamiento de la infección y diferenciación morfológica entre *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* en el intestino del vector *Rhodnius prolixus*. Rev Brasil Biol. 1988;48(3):577-587.

27. Levi GC, Lobo IMF, Callas EG, Amato V. Etiological Drug treatment of human infection by *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 1996;38(1):35-38.
28. Andrade G, et al. Experimental chemotherapy of *Trypanosoma cruzi* infection: persistence of parasite antigens and positive serology in parasitologically cured mice. World Health Organization Publications OMS, trad. Ginebra: OMS, Doc Tec No 1991,69(2):191-197.
29. Ramírez de León, NG. Conocimiento, creencias, actitudes y prácticas sobre la Enfermedad de Chagas y condiciones ambientales para su desarrollo. Río Hondo, Zacapa. Noviembre-Diciembre de 1999. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1999. 83p.
30. Avila GA, et al. Insecticidal paint and fumigation canisters for Chagas' disease control: community acceptance in Honduras, Rev Pan Sal Pub, 1999;6(5)311-318
31. Tabaru Y, et al. Chemical control of *Triatoma dimidiata* and *Rhodnius prolixus* (*Reduviidae. Triatominae*). The principal vectors of Chagas' disease in Guatemala. Med Entomol Zool. 1998;49(2):87-82
32. Rojas de Arias A, Ferro EA, Ferreira ME, Simancas LC. Lucha contra los vectores de la enfermedad de Chagas mediante distintas modalidades de intervención en localidades endémicas del Paraguay. Bulletin of WHO, 1999;77(4):331-339.
33. Monteon VM, et al. Diagnóstico Serológico de la enfermedad de Chagas: Autosuficiencia y Concordancia Interlaboratorios, disponible en: <http://www.insp.mx.salud/37/373-7s.html>. Fecha de consulta: 6 de Junio 2002.
34. Kierszebaum F, et al. Destruction of Blood Stream forms of *Trypanosoma cruzi* by eosinophil granule major basic protein. Am J Trop Med Hyg 1981;30:775-779.

35. Castillo AL. Matta VL. Cáceres A. Serioepidemiología de la Enfermedad de Chagas en el Suroriente de Guatemala. Memorias: III Congreso Nacional de Microbiología, Guatemala 1986. 218pp. (p203).
36. Monroy C. Natural Infection of *T. dimidiata*, *T. nitida* and *R. prolixus* whit *T. cruzi* and *T. rangeli* in Guatemala CA. con permiso del autor.
37. Reporte del Programa Nacional de Bancos de Sangre, Período 2001-2002.
38. Apuntes sobre la Aldea Pie de la Cuesta, Escuela Primaria Rural Mixta, Aldea Pie de la Cuesta, San Pedro Pinula.
39. Manual de Procedimientos de la prueba Omega Pathozyme para la detección de Anticuerpos contra Chagas, Merck.
40. Manual de Procedimientos para Aglutinación con Partículas de Gelatina (GPAT), FUJIREBIO.
41. Manual de Procedimientos para Inmunofluorescencia Indirecta, Laboratorio Microbiológico de Referencia, Departamento de Citohistología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
42. Arrieta R, *et al.* Evaluación de una metodología de tamizaje en la enfermedad de Chagas en San Luis, Argentina, disponible en: <http://www.insp.mx.salud/index..html>. Fecha de consulta: mayo de 2005.
43. Ruiz B, Nadal, M. Prevalencia de la enfermedad de Chagas en un hospital perinatólogo. disponible en: <http://www.insp.mx.salud/index..html>. Fecha de consulta: mayo de 2005.
44. Solís H, *et al.* Contribución al estudio de la epidemiología de la enfermedad de Chagas en tres localidades de la zona sur de Perú, disponible en:

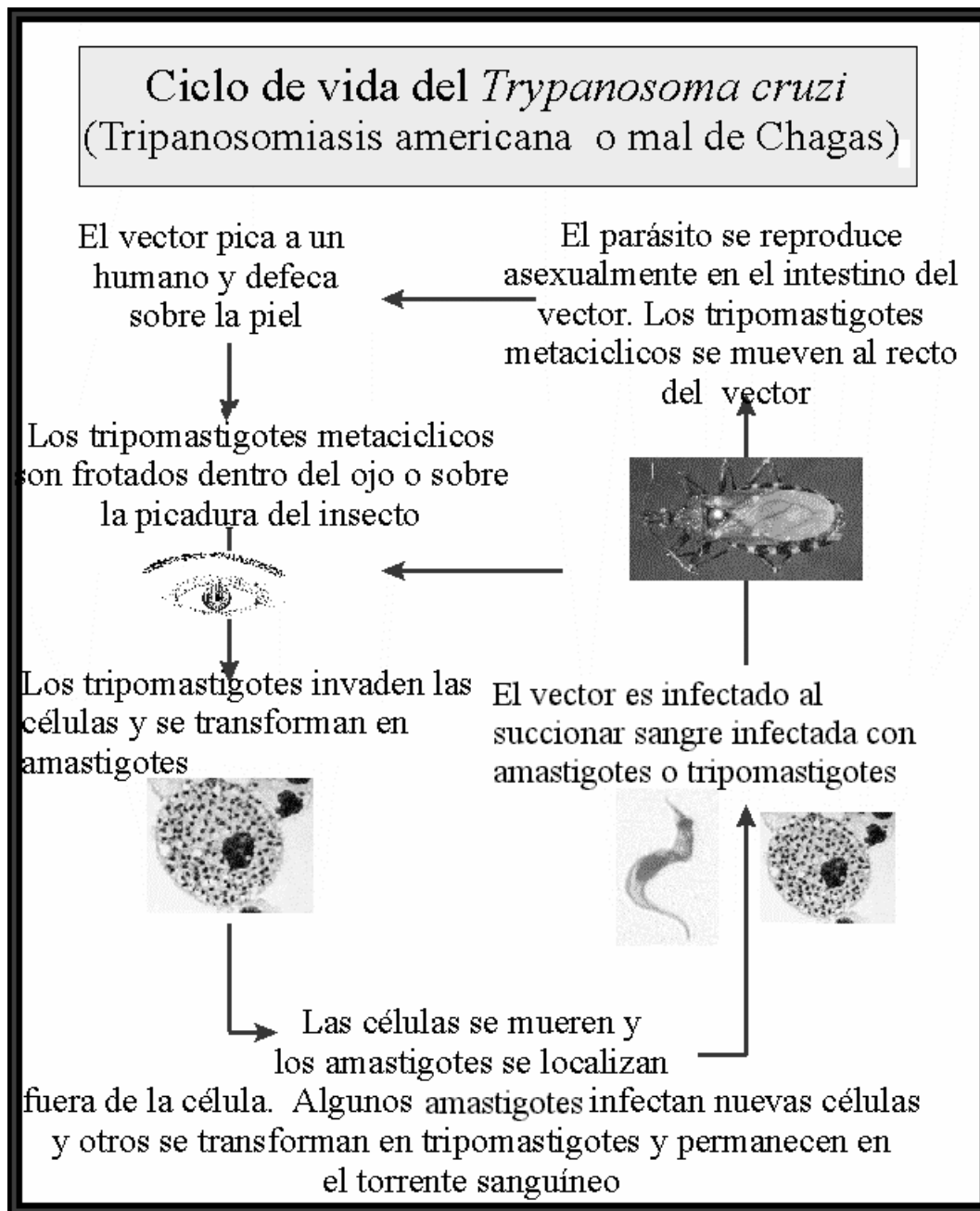
http://www.mundosano.org/biblioteca_virtual/enfermedades, fecha de consulta, mayo de 2005.

45. Velasco O, *et al.* Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México disponible en: <http://www.insp.mx/salud/34/342-8s.html> , fecha de consulta: abril de 2005.
46. Ramos AA, Monteon VM, Reyes PA, Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre, disponible en: <http://www.insp.mx/salud/35/351-6s.html>, fecha de consulta: abril de 2005.
47. *Trypanosoma cruzi* (American tripanosomiasis, Chagas' disease), disponible en: www.biosci.ohio-state.edu/~parasite/chagas.html, Fecha de consulta: 2 de agosto de 2004.

ANEXOS

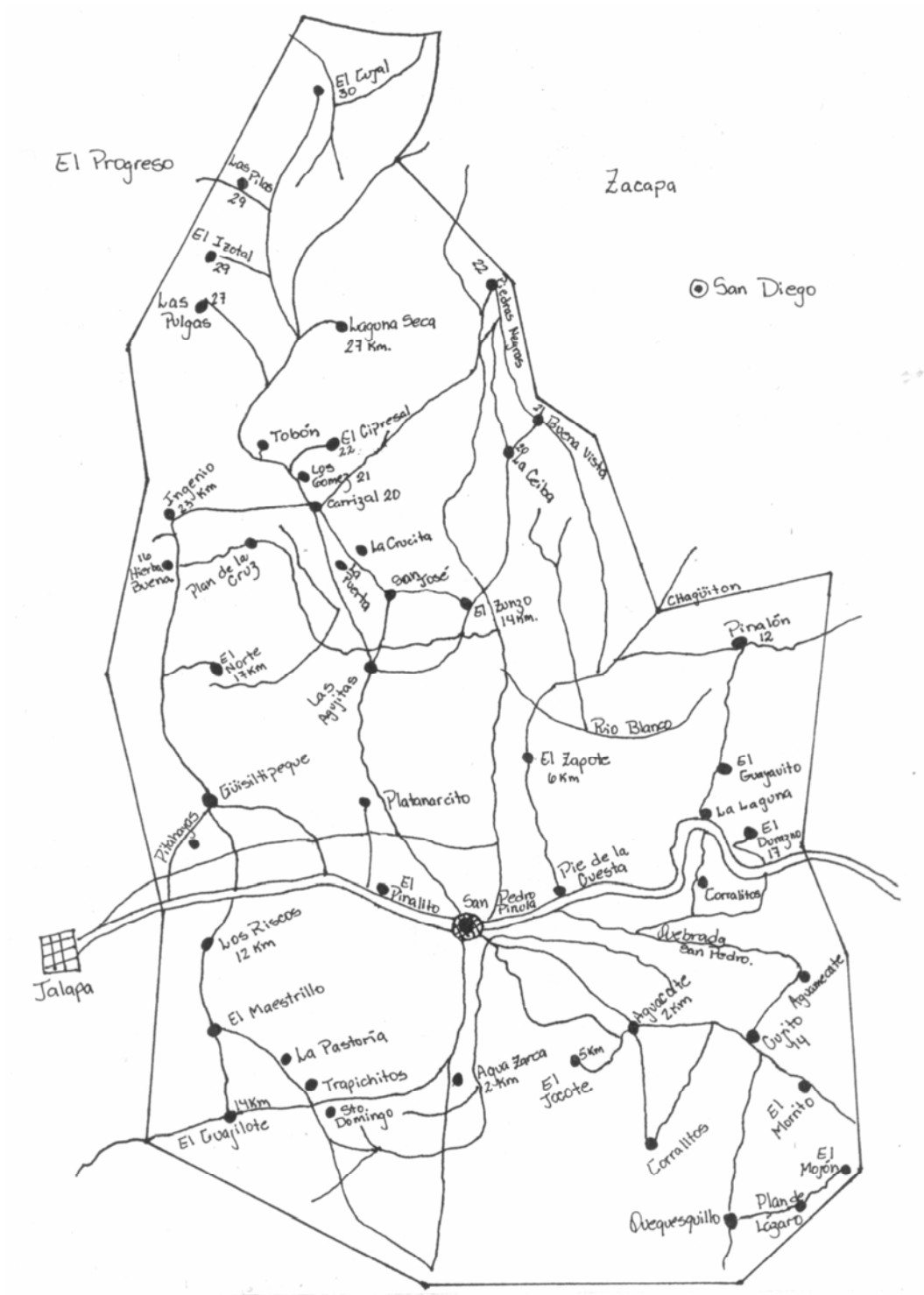
- Anexo 1. Ciclo de vida del *Trypanosoma cruzi*
- Anexo 2. Mapa del Municipio de San Pedro Pinula Jalapa
- Anexo 3. Croquis de la aldea "Pie de la Cuesta"
- Anexo 4. Cuestionario Epidemiológico.
- Anexo 5. Hoja para recabar datos de los pacientes
- Anexo 6. Gráfica 1. Distribución poblacional de acuerdo a la presencia de la infección.
- Anexo 7. Gráfica 2. Distribución Poblacional por sexo y grupo etáreo
- Anexo 8. Gráfica 3: Distribución de la población infectada por grupo etáreo y sexo

Anexo 1



Tomado de: *Trypanosoma cruzi* (American tripanosomiasis, Chagas' disease), disponible en: www.biosci.ohio-state.edu/~parasite/chagas.html (47).

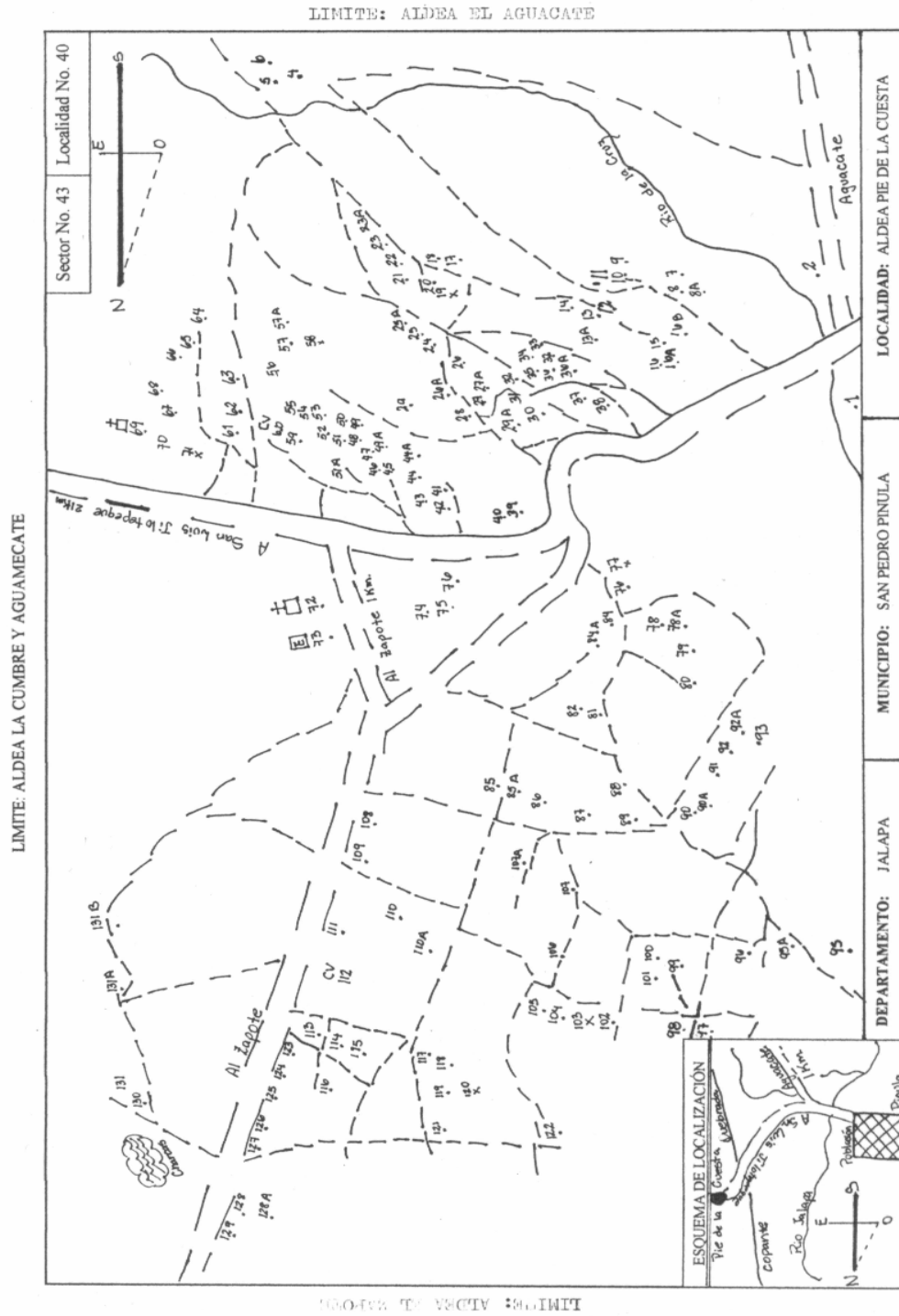
Anexo 2
Mapa del Municipio de San Pedro Pinula.



Fuente: Municipalidad de San Pedro Pinula, Jalapa (38).

Anexo 3

Croquis de la Aldea Pie de la Cuesta.



Fuente: Dirección de la escuela de la aldea Pie de la Cuesta (38).

Anexo 4

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
 FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
 ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA
 DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA

Cuestionario Epidemiológico

Número de Cuestionario: _____

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Trypanosoma cruzi* EN NIÑOS DE LA ALDEA "PIE DE LA CUESTA", SAN PEDRO PINULA, JALAPA

A. MATERIALES DE CONSTRUCCIÓN DE LA VIVIENDA Y CONDICIONES DE LA MISMA

1. ¿Qué tipo de material de construcción se encuentra en las paredes?

Bajareque	<input type="checkbox"/>	Adobe	<input type="checkbox"/>	
Embarrado	<input type="checkbox"/>	Lámina	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
Madera	<input type="checkbox"/>	Otros	<input type="checkbox"/>	

2. ¿Qué tipo de material de construcción tienen el techo?

Teja	<input type="checkbox"/>	Lámina	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
Paja	<input type="checkbox"/>	Otros	<input type="checkbox"/>	

3. ¿Qué tipo de material se encuentra en el piso?

Tierra	<input type="checkbox"/>	Cemento	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
Piso	<input type="checkbox"/>			

4. ¿Las paredes están repelladas?

Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
----	--------------------------	----	--------------------------	----------------------

5. ¿Existen deyecciones de vectores en las paredes?

Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>
----	--------------------------	----	--------------------------	----------------------

6. ¿Las paredes están pintadas o encaladas?
Sí No
7. ¿Posee ventanas?
Sí No
8. ¿Las ventanas se encuentran abiertas?
Sí No
9. ¿La cocina se encuentra dentro o fuera de la casa?
Fuera Dentro
10. ¿Qué tipo de material de construcción tiene la cocina?
Bajareque Adobe
Embarrado Lámina
Madera Otros
11. ¿Se observan animales dentro de la vivienda?
Sí No
12. ¿Existe algún lugar apropiado para que duerman los animales?
Sí No
13. ¿Posee luz eléctrica?
Sí No
14. ¿Posee agua?
Sí No

15. ¿Posee letrina?

Sí

No

B. CONDICIONES HABITACIONALES:

16. ¿Hace cuántos años habitan en la misma vivienda?

17. ¿La vivienda siempre ha sido la misma?

Sí

No

18. Si la respuesta anterior es no, ¿qué tipo de construcción tenía la vivienda anterior? _____

19. ¿Cuál es su lugar de procedencia?

20. ¿Viajan frecuentemente?

Sí

No

21. ¿A qué lugares viajan?

22. ¿Cuántas personas duermen en la misma cama?

23. ¿Se observa leña apilada?

Sí

No

24. ¿En qué lugar se encuentra apilada la leña?

Dentro de la casa

A un costado de la casa

Lejos de la casa

25. ¿Qué condiciones de limpieza se observan dentro de la casa?
 Muy buena Buena
 Regular Mala
26. ¿Qué condiciones de limpieza se observan en el área peridomiciliar?
 Muy buena Buena
 Regular Mala
27. ¿Cómo se califica el acceso a la casa?
 Muy bueno Bueno
 Regular Malo

C. ANTECEDENTES DE EXPOSICIÓN:

28. ¿Ha fallecido algún familiar de forma repentina?
 Sí No
29. ¿Alguna persona en la familia ha padecido de problemas cardíacos?
 Sí No
30. ¿La madre de familia ha tenido abortos y si es así, cuántos?
 Sí No
-
31. ¿Conocen a la chinche picuda?
 Sí No
32. ¿Han observado a la chinche picuda dentro de la casa?
 Sí No

33. ¿Algún miembro de la familia ha sido picado, de ser así quién?

Sí

No

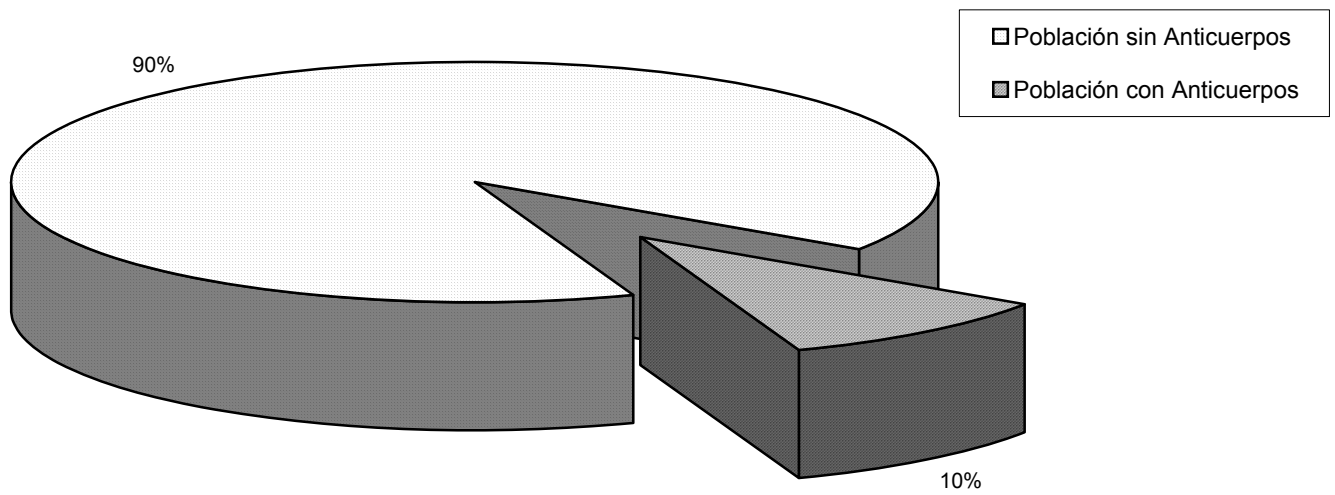
34. ¿Algún miembro de la familia ha presentado inflamación de ambos párpados de un sólo lado de la cara, o en otro sitio?

Sí

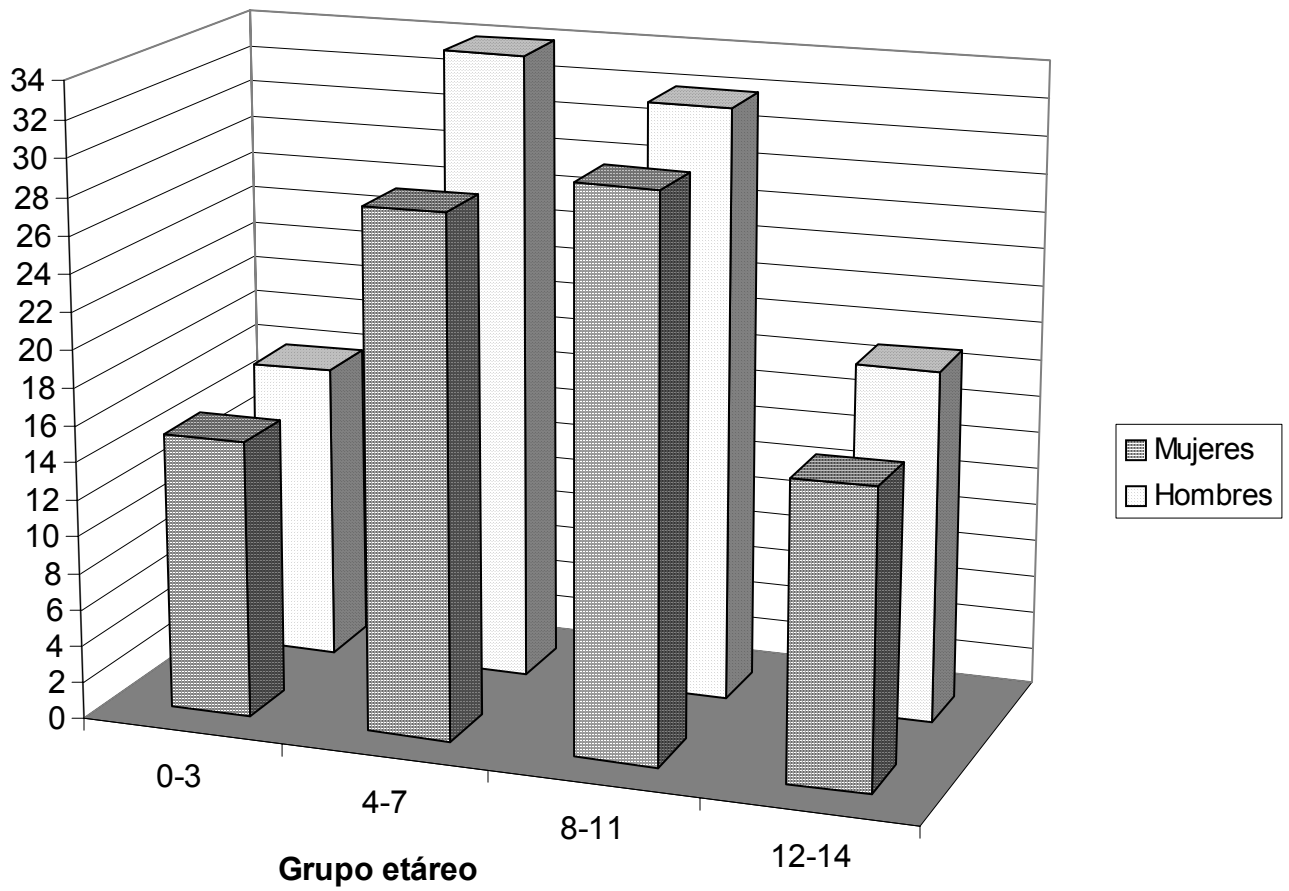
No

Anexo 6

Gráfica 1: Distribución poblacional de acuerdo a la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi*.



Anexo 7

Gráfica 2: Distribución poblacional por género y grupo etáreo

Anexo 8

Gráfica 3: Distribución de la población infectada por grupo etáreo y género

