

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

Determinación de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en pacientes con VIH/SIDA que acuden a la Clínica Familiar “Luis Ángel García” del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala

Margia Odili López Castro

Química Bióloga

Guatemala, enero 2006

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

Determinación de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en pacientes con VIH/SIDA que acuden a la Clínica Familiar “Luis Ángel García” del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala

Informe de tesis

Presentado por

Margia Odili López Castro

**Para optar el título de
Química Bióloga**

Guatemala, enero 2006

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

MIEMBROS DE JUNTA DIRECTIVA

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

DEDICO ESTA TESIS

A NUESTRO PADRE CELESTIAL: Ser que bendice todos los días de mi vida y permite que pueda alcanzar mis metas.

A MIS PADRES Y HERMANOS: por su amor y esfuerzo demostrado a través de su apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida.

A MI FAMILIA EN GENERAL: por su cariño y consejos recibidos.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE PROMOCIÓN: por su cariño y amistad.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA Y LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA: fuente inagotable de todo conocimiento.

AGRADECIMIENTOS

Licdas. Vivian Matta y María Paula De León, por su asesoría y orientación.

Licdas. Blanca Samayoa y María Eugenia Paredes, por el tiempo que me brindaron en la revisión de esta tesis.

Al personal del Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por su colaboración durante todo el desarrollo de esta tesis.

Al personal de la Clínica Familiar “Luis Ángel García” del Hospital General San Juan de Dios, especialmente al Dr. Eduardo Arathoon y Licda. Blanca Samayoa.

Al personal del Laboratorio Clínico del Hospital General San Juan de Dios, por su colaboración durante la obtención de las muestras.

A los pacientes que incondicionalmente participaron durante la realización de esta investigación.

A la Licda. Evelyn Secaida, por su cariño, amistad y colaboración durante la elaboración de esta tesis.

ÍNDICE

	página
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. ANTECEDENTES.....	4
A. Generalidades del VIH	4
B. Vías de transmisión	4
C. Manifestaciones clínicas	5
1. Período agudo	5
2. Período asintomático	5
3. Período sintomático	6
4. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)	
D. Diagnóstico de la infección del VIH.....	6
E. Enfermedades oportunistas.....	7
1. Candidiasis	7
2. Neumonía por <i>Pneumocystis carinii</i>	7
3. Tuberculosis pulmonar	7
4. Criptococosis	8
5. Histoplasmosis	8
6. Enfermedades gastrointestinales por coccidios	9
7. Toxoplasmosis	10
8. Enfermedad de Chagas	10
a. Enfermedad de Chagas en pacientes con VIH/SIDA	11
F. Epidemiología de VIH y Chagas en Guatemala.....	14
IV. JUSTIFICACIÓN	15
V. OBJETIVOS	16
VI. HIPÓTESIS	17

	página
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	18
A. Universo y muestra.....	18
B. Recursos	18
C. Metodología	21
D. Diseño estadístico	26
VIII. RESULTADOS.....	27
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	35
X. CONCLUSIONES.....	38
XI. RECOMENDACIONES.....	39
XII. REFERENCIAS.....	40
XIII. ANEXOS.....	44

I. RESUMEN

En los últimos años varias enfermedades infecciosas causadas por patógenos oportunistas han sido asociadas a pacientes con VIH/SIDA, las cuales son secundarias a la infección por el VIH y su desarrollo produce una mortalidad significativa. El VIH es un problema de salud de rápida expansión y alta tasa de letalidad; la falta de recursos económicos para adquirir los medicamentos necesarios limita el tratamiento adecuado de los pacientes, quienes a la vez por su condición de inmunosupresión se encuentran expuestos a diversidad de agentes oportunistas, entre los que se encuentra *Trypanosoma cruzi*.

Con el propósito de identificar la importancia de *T. cruzi* como agente oportunista en pacientes con VIH/SIDA, se llevó a cabo el presente estudio en colaboración con la Clínica Familiar “Luis Ángel García” del Hospital General San Juan de Dios. Para ello, se incluyeron 301 pacientes que asistían periódicamente a consulta, así como también a aquellos que se encontraban hospitalizados, evaluándose parámetros clínicos, serológicos y epidemiológicos y poder así establecer si existía alguna asociación entre éstos.

El estudio se realizó durante un período de abril a octubre de 2002; previo a la toma de muestra los pacientes autorizaron su participación en el estudio a través de un formulario de consentimiento firmado, luego fueron sometidos a una entrevista en la cual se recopilaron datos demográficos tales como: edad, sexo, estado civil, religión, escolaridad etc. Se obtuvo también datos epidemiológicos tales como: lugar de procedencia, tipo de vivienda, conocimientos sobre la picadura de la chinche y manifestaciones de la enfermedad de Chagas. Los datos obtenidos a través de la entrevista se tabularon usando la base de datos EPI-INFO 6.

Todas las muestras (n=301) fueron analizadas con pruebas serológicas de tamizaje: hemaglutinación indirecta (HAI) y aglutinación de partículas de gelatina (GPAT). Las muestras positivas fueron confirmadas, utilizando para ello las pruebas de inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y antígenos de excreción-secreción de Tripomastigotes (TESA). Todas estas pruebas permitieron detectar la presencia de anticuerpos contra el parásito del *Trypanosoma cruzi*. Únicamente se encontró 2 casos con serología positiva. Debido a lo especial de uno de los dos casos positivos ya confirmados, se realizó un análisis parasitológico en muestras de líquido cefalorraquídeo, sangre completa, médula ósea y biopsia de hueso lográndose determinar la presencia de tripomastigotes en el LCR.

Los resultados de este estudio demuestran que la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en la población estudiada es de 0.66% (2/301), encontrándose 1 caso en 247 pacientes VIH seropositivos y 1 caso en 54 pacientes con VIH/SIDA. Ninguno de estos datos confirmó la

hipótesis del estudio, la cual estimaba dicha prevalencia mayor a 1.88% con respecto al de la población guatemalteca en general.

Aún cuando el número de casos positivos obtenidos en este estudio con respecto al número total de muestras es muy bajo (2/301), el lugar de procedencia de los casos positivos fue determinante ya que ambos eran originarios de lugares endémicos de la enfermedad de Chagas (Santa Rosa y Jalapa).

En pacientes VIH/SIDA el hallazgo de serología positiva para *T. cruzi* es especialmente importante ya que debido a su estado de inmunosupresión característico, tienen la probabilidad de desarrollar una reactivación de la enfermedad. Esto confirma la importancia de continuar con este tipo de estudio, a fin de detectar a tiempo estos casos, darles seguimiento y conocer mejor el comportamiento de la enfermedad de Chagas en pacientes con VIH/SIDA.

II. INTRODUCCIÓN

La infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), predispone al paciente para el desarrollo de infecciones oportunistas. Actualmente han cobrado importancia

microorganismos que normalmente no infectan al hombre. Esta condición se debe particularmente a que las principales células blanco del VIH son las que expresan en su superficie el receptor CD4; los efectos dramáticos de la infección se manifiestan con la depleción y disfunción de dichas células y la consecuente aparición del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA).

Los síntomas de tipo neurológico son muy frecuentes en personas infectadas con VIH, y generalmente son atribuidos a complicaciones propias del virus, así como también a patógenos oportunistas tales como el *Toxoplasma gondii* y *Cryptococcus neoformans*.

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, puede encontrarse infectando al humano, en especial si su sistema inmune se encuentra deprimido. En pacientes con SIDA, se ha descrito una reactivación de la enfermedad de Chagas, en presencia de serología positiva para VIH, la cual hace considerar esta enfermedad como una potencial infección oportunista.

Las manifestaciones clínicas de esta coinfección, suelen presentarse en forma aguda; el *T. cruzi* una vez activado, puede llegar a afectar más comúnmente al sistema nervioso central dando como resultado una meningoencefalitis, así como también, una miocarditis aguda.

Mediante la presente investigación, se estableció la prevalencia de la enfermedad de Chagas en pacientes con VIH/SIDA para esto, se evaluaron pacientes que presentaron serología positiva para VIH y también aquellos que han desarrollado SIDA, para lo cual este estudio fue llevado a cabo en un período de 6 meses. Estos pacientes eran provenientes de la consulta externa de la Clínica Familiar “Luis Ángel García” del Hospital General San Juan de Dios, así como se incluyeron los que se encontraban hospitalizados en la misma institución. La existencia de una posible coinfección entre las dos condiciones patológicas anteriormente mencionadas, se determinó a través de la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en muestras de sangre para lo cual, se realizaron diversas metodologías inmunológicas; además se establecieron los principales factores de riesgo por medio de una entrevista epidemiológica al paciente, que permitieron definir el origen de esta coinfección.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)

El VIH es miembro de la familia de los retrovirus, grupo de virus encapsulados que poseen la enzima transcriptasa inversa, la cual permite que el virus sintetice una copia de ADN a partir de su genoma ARN (1,2).

Este virus también se ha subclasificado dentro de la familia de los Lentivirus, grupo de retrovirus que se caracterizan por un lento y progresivo trastorno del sistema inmunitario (1-3).

El descubrimiento del virus ha generado una inmensa cantidad de estudios destinados a la comprensión de los mecanismos mediante los cuales la infección viral ocasiona disfunción inmunitaria (1).

Las consecuencias clínicas de la infección por VIH, obedecen a la capacidad de este virus de alterar el sistema inmunológico del hospedero, proceso que ocurre en virtud de que el subgrupo de linfocitos colaboradores e inductores son el principal blanco del VIH. Dicho subgrupo, que se caracteriza por su expresión de moléculas CD4 en la superficie, actúa como el organizador básico de miles de funciones inmunológicas. Por consiguiente, es posible considerar la infección por VIH como una enfermedad del sistema inmunológico que provoca la pérdida progresiva de linfocitos T CD4+, con consecuencias finalmente letales para el hospedero infectado (2,3).

Los linfocitos B pueden ser afectados por la alteración en la función de los linfocitos T, pero el VIH puede alterar directamente la función de las células B, causando hipergammaglobulinemia generalizada y deprimiendo la respuesta de estas células a nuevos retos antigénicos. Los macrófagos tienen la función de actuar como reservorios del VIH sin embargo, tanto estos como los monocitos son transportadores del virus desde tejidos linfoides a diferentes partes del cuerpo, por ejemplo, sistema nervioso central, riñón, hígado y pulmón (3,4).

B. Vías de transmisión

Los estudios epidemiológicos realizados a nivel mundial han permitido identificar únicamente 3 formas de transmisión del VIH:

1. Transmisión sexual: forma predominante de transmisión en todo el mundo, la cual puede ser de hombre a hombre, de mujer a hombre o viceversa, de mujer a mujer y por donación de semen. La transmisión del virus incluye prácticas sexuales, tales como: coitos vaginales, anales y con menor frecuencia, orales. Hoy día, la mayoría de los casos de infección por esta vía, se registra en parejas heterosexuales.

2. Por exposición parenteral a sangre, hemoderivados, transfusiones sanguíneas, uso de agujas y jeringas contaminadas en usuarios de drogas por vía intravenosa. Otro factor de transmisión es la exposición a órganos o tejidos transplantados.
3. Transmisión perinatal de la madre infectada al feto o recién nacido durante el embarazo, el parto o la lactancia (5,6).

C. Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas producidas por la infección del VIH se presentan de forma variada, desde la ausencia total de síntomas, ligeros malestares, hasta desórdenes neurológicos debido a enfermedades oportunistas o la muerte (5).

1. Período agudo:

La infección aguda es generalmente asintomática, pero se han descrito varios síndromes clínicos, entre ellos el estado febril agudo, que es parecido al de otros procesos virales no específicos. El cuadro suele presentarse entre la primera y sexta semana a partir de la infección, caracterizándose por fiebre, malestar general, mialgias, artralgias, dolor de garganta, sudores nocturnos, trastornos digestivos, náuseas, vómitos y diarreas, erupciones en la piel, adenopatía aguda e inespecífica, pérdida de peso y tos (1,5).

2. Período asintomático:

Período de varios años denominado de “portador asintomático”, en el que la persona no presenta manifestaciones clínicas, puede no sospechar su infección pero es capaz de transmitirla a través de su sangre y secreciones corporales (1,5). Este período se presenta entre las seis semanas y los seis meses posteriores al momento de adquirir el virus (1,5).

3. Período sintomático:

Uno de los hallazgos más comunes en la infección por VIH en este período, es la presencia de gruesos ganglios linfáticos de más de 1 cm. de diámetro en dos o más localizaciones extrainguinales, que persisten por lo menos tres meses en ausencia de cualquier enfermedad acompañante o de medicamentos susceptibles de causar una linfadenopatía (1,5).

Pueden presentarse sudores nocturnos, pérdida de peso e infecciones por diferentes microorganismos. Conforme la enfermedad avanza pueden observarse trastornos neurológicos tales como pérdida de la memoria y neuropatía periférica (1,5).

4. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA):

Este es un síndrome secundario a la infección por el VIH; es el resultado final de la enfermedad y se caracteriza por una severa inmunosupresión, siendo la respuesta inmunológica, cada vez más deficiente, lo cual conlleva a la aparición de infecciones oportunistas, condiciones auto inmunes y neoplasmas asociadas a una mayor morbilidad y mortalidad (3,5).

El período medio de incubación del VIH desde el inicio de la infección a los primeros signos y síntomas de SIDA, es de aproximadamente 10 años, pudiendo variar por factores tales como el modo de adquirir la infección, la función inmunológica y la replicación viral en la persona infectada (1,5).

D. Diagnóstico de la infección del VIH

El sistema de clasificación del Centro de Control de Enfermedades (CDC) para la infección por VIH, establece que una persona es positiva cuando:

1. Muestra repetidamente positiva una prueba de tamizaje, (prueba de ELISA, ELISA péptido-sintético, aglutinación en partículas de gelatina).
2. Cuando se obtiene positiva una prueba confirmatoria, (Western Blot, Radioinmunoprecipitación, citoimmunoperóxidasa, diagnóstico virológico, Inmunofluorescencia directa, reacción de polimerasa en cadena y antígeno P24).
3. Identificación directa y aislamiento del virus en los tejidos del hospedero.
4. Detección del antígeno VIH (2,3,5).

E. Enfermedades oportunistas

Según la definición del CDC, el SIDA se caracteriza por la aparición de infecciones oportunistas, ya que el organismo se encuentra imposibilitado para montar una respuesta inmune que las combata (5-7). Entre ellas se encuentran las siguientes:

1. Candidiasis:

Infección primaria o secundaria, producida por miembros del género *Candida*. Esta infección afecta la lengua, el paladar blando, la mucosa bucal y a menudo el tercio distal del esófago. Las lesiones se caracterizan por presentar una pseudomembrana de color blanca o gris que contiene numerosos microorganismos (3,8).

El principal agente causal de candidiasis oral es *Candida albicans*; en pacientes infectados con VIH, este microorganismo ha sido considerado un hongo oportunista, por los cambios en las poblaciones de los linfocitos T asociados a esta infección, que vuelven al paciente vulnerable a desarrollar una candidiasis oral (8).

El diagnóstico se establece por demostración histológica directa de invasión micótica de los tejidos o recuperación de hongos en cultivo de áreas normalmente estériles o ambas (2,8).

2. Neumonía por *Pneumocystis carinii*:

La neumonía causada por *P. carinii*, es una enfermedad que ocurre casi exclusivamente en hospederos inmunocomprometidos (VIH/SIDA). La infección se restringe a los pulmones y raras veces ocurre diseminación a otros órganos. Se presenta disnea al ejercicio, tos no productiva de inicio reciente (3 meses) y hay evidencia en la radiografía de infiltrados intersticiales bilaterales difuso. En la biopsia de pulmón se observa un exudado espumoso, infiltración de linfocitos, macrófagos y quistes o trofozoítos del microorganismo que se visualizan utilizando las tinciones de Plata Metanamina, Gomori o Gram (5,9).

3. Tuberculosis Pulmonar:

La tuberculosis, es la principal causa de muerte (aproximadamente un tercio de todas las muertes) en personas con VIH/SIDA en todo el mundo. El marcado aumento de casos de tuberculosis en personas infectadas con VIH, es debido a la reactivación de la bacteria en personas con tuberculosis latente, así como por mayor exposición al *Mycobacterium tuberculosis* de las personas en riesgo (10).

En pacientes con SIDA, la tuberculosis pulmonar es la manifestación más común. La enfermedad extrapulmonar incluye órganos como sangre, médula ósea y ganglios linfáticos, embargo existen otros órganos infectados tales como hígado, bazo y riñón (3,10).

Además de evidencias radiológicas, el diagnóstico se realiza con la presencia del bacilo alcohol ácido-resistente en esputo, órganos y tejidos que no sean pulmones, así como a través del aislamiento de la bacteria por medio de cultivos (2,10).

4. Criptococosis:

Es originada por *Cryptococcus neoformans*, levadura encapsulada que presenta 4 serotipos (A,B,C,D), Los serotipos A y D son más frecuentes en las infecciones en pacientes con afección inmunitaria y los más habituales recobrados de pacientes con SIDA (2). La criptococosis es una micosis adquirida por inhalación, produciendo infección pulmonar sintomática o asintomática. Otros sitios de enfermedad no hematogena son piel (particularmente notable en pacientes con SIDA), huesos, próstata, riñones e hígado (2,11).

El diagnóstico suele establecerse mediante detección del antígeno criptococócico, tinciones con tinta china y cultivos positivos del líquido cefalorraquídeo (11).

5. Histoplasmosis:

Es una micosis que puede originar infección pulmonar primaria, progresiva o diseminada. El agente causal es *Histoplasma capsulatum*, un hongo dimórfico del suelo donde se desarrolla en abundancia si es mezclado con las heces de los pájaros (3,11).

El síndrome es similar a un resfriado de resolución espontánea, con fiebre, calofríos, mialgias, cefaleas y tos no productiva. En una minoría de individuos infectados, particularmente en lactantes, ancianos e individuos inmunosuprimidos (incluyendo SIDA), se desarrolla una histoplasmosis diseminada grave, generalmente la enfermedad es más aguda y puede ser fulminante semejando a un choque septicémico bacteriano (2,3,11).

El diagnóstico se establece por la presencia de levaduras intracelulares (principalmente en frotis de la capa de leucocitos en pacientes con SIDA), pruebas serológicas, muestras histológicas o cultivos de esputo, sangre y médula ósea (11).

6. Enfermedades gastrointestinales por coccidios:

La diarrea es una de las más comunes y exasperantes condiciones que complican la infección por el VIH. Los pacientes con SIDA son particularmente susceptibles a infecciones severas por parásitos coccidios (12).

a. *Cryptosporidium sp*

Actualmente se sabe que *C. parvum* es la especie que infecta animales domésticos, y humanos, que causa un período corto de enfermedad diarreica en personas inmunocomprometidas y que es capaz de poner en peligro la vida de pacientes inmunodeficientes, especialmente aquellos con SIDA (12).

La infección sintomática por *Cryptosporidium sp.* se caracteriza por diarrea que generalmente es profusa y acuosa llevando a deshidratación y pérdida de peso; puede acompañarse de dolor abdominal, anorexia, náusea, vómitos y fiebre menor de 39 °C. En ocasiones se presentan síntomas inespecíficos como mialgia, debilidad, malestar y dolor de cabeza (12).

Actualmente, el diagnóstico de la infección depende de la detección de los ooquistes en las heces, mediante visualización microscópica, ya sea en muestras en fresco o en frotos coloreados (12).

b. *Cyclospora cayetanensis*

La infección con *C. cayetanensis* se asocia con una enfermedad diarreica crónica en personas con SIDA. El sitio de infección de este organismo es el intestino delgado. En general las manifestaciones incluyen un día de malestar y disminución de fiebre, seguido de diarrea acuosa explosiva (alrededor de 7 deposiciones por día), dolor abdominal severo, náusea, fatiga y pérdida de peso. La remisión de la diarrea, usualmente ocurre después de 3 a 4 días, pero es seguido por un ciclo de recaídas y remisiones que puede durar más de 4 semanas (12).

El diagnóstico de laboratorio se basa en la visualización del organismo en las muestras fecales. El parásito es observado en preparaciones en fresco, usando microscopía de contraste de fases o de campo oscuro (12).

c. *Isospora belli*

Es un patógeno entérico oportunista que causa diarrea severa en personas con SIDA y otras enfermedades inmunosupresoras. La isosporiasis se ha reportado con alta prevalencia en pacientes inmunosuprimidos y con SIDA en países en vías de desarrollo (12).

El curso clínico de la enteritis crónica que se ha observado en personas con SIDA, pone de manifiesto que el inicio de la enfermedad es insidioso; se acompaña de síntomas inespecíficos tales como, dolor de cabeza, anorexia, pérdida de peso, malestar y flatulencia, puede presentarse náusea, vómitos y mialgias. Sin embargo la principal manifestación es la diarrea acuosa, crónica e intermitente. Actualmente el diagnóstico se basa en la identificación de los ooquistes característicos en las heces del paciente, mediante visualización microscópica (12).

7. Toxoplasmosis:

Toxoplasma gondii es un protozoo intracelular que causa significativa morbilidad y mortalidad en humanos y animales. Con el advenimiento del SIDA la encefalitis toxoplásmica está siendo reconocida en proporciones endémicas (4,13).

La enfermedad clínica, varía desde linfadenopatía benigna hasta infección aguda y a menudo mortal del sistema nervioso central. La mayoría de infecciones por *Toxoplasma* son asintomáticas, pudiendo presentarse astenia, febrículas, cefalea, eritema cutáneo fugaz, mialgias, artralgias, náuseas y en ocasiones diarrea (4).

En la mayoría de los casos, el diagnóstico de Toxoplasmosis se establece por hallazgos clínicos, tomografía y serología que incluye anticuerpos IgG o IgM anti-*Toxoplasma gondii* (4,13).

8. Enfermedad de Chagas:

La enfermedad de Chagas es una infección causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* que se denomina así en honor a Carlos Chagas, médico brasileño que descubrió el parásito. *T. cruzi* y sus vectores artrópodos se distribuyen ampliamente desde el sur de Estados Unidos a través de México y Centroamérica, hasta en América del sur (centro de Argentina, Brasil y Chile). En América Latina, la tripanosomiasis en el hombre es principalmente una infección de personas pobres que viven en áreas rurales con alojamiento subestándar (3,13).

Se estima que en toda América están infectadas con *T. cruzi* un total de 15 millones de personas, siendo los países con la frecuencia más elevada de infección: Brasil, Argentina, Chile, Bolivia y Venezuela. En Brasil, se ha encontrado que casi el 10% de la población rural se encuentra infectada (3).

En áreas endémicas, la primera exposición a *T. cruzi* generalmente suele ser subclínica y pasar inadvertida. En la enfermedad de Chagas aguda pueden desarrollarse signos que incluyen fiebre, linfadenopatía generalizada, hepatoesplenomegalia y exantemas cutáneos pasajeros; cuando la infección es a través de la vía conjuntival como sucede con frecuencia, la tumefacción periorbitaria local se denomina signo de Romaña. También puede presentarse miocarditis, con taquicardia y alteraciones electrocardiográficas inespecíficas. otra complicación importante es meningoencefalitis, en particular en pacientes muy jóvenes (3,13).

Seguidamente los pacientes pasan a la fase indeterminada que comienza unas 8 a 10 semanas después de la fase aguda, se caracteriza por la ausencia de síntomas por lo que el enfermo tiene plena capacidad para desarrollar actividades físicas, también existe la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* y parasitemia leve (13).

Generalmente la infección progresa lentamente hasta volverse crónica produciendo diversas manifestaciones tardías; esto puede durar un promedio de 10 a 20 años. Los órganos que se afectan principalmente en la enfermedad de Chagas crónica son el corazón y ciertas vísceras

huecas, como esófago y colon. Los signos y síntomas cardíacos son las manifestaciones más comunes de la enfermedad crónica e inician con palpitaciones, mareos, molestia precordial e incluso síncope. La segunda manifestación crónica más frecuente es la enfermedad mega de esófago o colon, encontrándose con mayor frecuencia la primera (3,13).

Los métodos de diagnóstico varían de acuerdo con la fase clínica de la enfermedad, estos pueden ser del tipo parasitológico y serológico. Los principales métodos de diagnóstico parasitológico directo son el examen directo de sangre fresca, gota gruesa y frote de sangre periférica, los cuales demuestran al parásito en su fase de tripomastigote. Los métodos parasitológicos indirectos clásicos comprenden el xenodiagnóstico que permite detectar bajo el microscopio, las diferentes formas del *T. cruzi* en las heces de los insectos; dentro de estos también se encuentran el hemocultivo y la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Entre las diversas pruebas serológicas disponibles están la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), la Hemaglutinación Indirecta (HAI) y las pruebas enzimáticas de ELISA, los cuales permiten detectar los anticuerpos del tipo IgM y/o IgG dirigidos contra el parásito (13,14).

a. Enfermedad de Chagas en pacientes con VIH/SIDA

El grado y las características de las lesiones que acontecen en un organismo al ingresar el *T. cruzi* dependen de numerosas variables, algunas de estas variables conocidas relacionadas al hospedero son la edad, la temperatura ambiental, el estado nutricional y sobre todo el estado inmunológico. La importancia que tienen los distintos factores de la inmunidad en la respuesta a *T. cruzi*, se reconocen a través de los hospederos que presentan déficit de algunos de ellos (15).

La inmunodeficiencia es diferente de acuerdo al motivo que la origina. En el trasplante el grado de inmunodeficiencia requerida es diferente según el órgano. La inmunodepresión, también varía según el protocolo de drogas quimioterapéuticas empleadas. En cambio el SIDA produce el mayor grado de inmunodeficiencia. En presencia de este síndrome se han observado no solo las más graves infecciones agudas, sino también reactivaciones fatales de infecciones crónicas, especialmente con compromiso neurológico (16-17).

La etapa indeterminada de latencia de la infección por *T. cruzi* logra cambiarse a un estado de enfermedad aguda en situaciones de inmunosupresión intensa (15-18). Esto puede suceder en receptores seropositivos de trasplantes de órganos. Los informes de activación de la infección va en aumento, en especial cuando existe un trastorno cerebral parecido al que produce el Toxoplasma en pacientes con SIDA, los cuales también presentan una infección latente por *T. cruzi* (3,13,19-24).

Actualmente es está considerando a la enfermedad de Chagas como otra infección oportunista potencial en pacientes con SIDA (25-30). Aún cuando la tripanosomiasis es endémica en el sur y centro de América,(31,32) ya hay casos reportados en los Estados Unidos y su reactivación en pacientes con VIH ha sido descrita desde 1,990 (3,25). La descripción de los primeros casos de SIDA y su relación con infecciones oportunistas, especialmente con *T. cruzi* en regiones endémicas, hace posible la asociación entre estas dos enfermedades. El primer reporte publicado, en cuanto a la asociación de la enfermedad de Chagas y SIDA, tuvo lugar en Brasil en 1992, donde 23 de 170 casos de pacientes desarrollaron meningoencefalitis difusa, mientras que 7 de los 23 casos presentaron miocarditis. Además 4 pacientes manifestaron un estado agudo y 2 un estado crónico. Todos los casos diagnosticados para VIH fueron confirmados a través de Western Blot y la infección por la enfermedad de Chagas fue determinada por resultados positivos de test serológicos y la demostración inmunohistoquímica de amastigotes de *T. cruzi* (30).

Entre 1,994 y 1,997 en Paraguay, Leguizamon, *et al.*, realizaron un estudio con el objetivo de determinar la prevalencia de la infección por *T. cruzi* en pacientes con VIH, utilizando las metodologías de Aglutinación con partículas de Gelatina (GPTA) e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) a fin de detectar anticuerpos del tipo IgG. Fueron estudiados un total de 92 pacientes, dando como resultado la detección de anticuerpos IgG en 10 de 92 pacientes y anticuerpos IgM en 8 de los 10 pacientes. Con estos datos llegaron a la conclusión que la prevalencia encontrada (10.8%) en pacientes con VIH, fue similar a la de población general (26,31-32).

En 1,992 un estudio en Brasil, describió el caso de una mujer de 50 años de edad originaria de un área endémica para la enfermedad de Chagas, quien ingresó a un hospital de Sao Paulo con una historia clínica de disfagia progresiva de 40 años de duración y previas anormalidades cardíacas, la endoscopía esófago-gástrica reveló un aumento del tamaño del esófago; los resultados de los test serológicos (HIA/IFI) fueron positivos. En julio del mismo año, debido a la presencia de candidiasis en el esófago, se le realizaron los test correspondientes para VIH siendo estos positivos. En esta paciente el esófago fue el órgano más afectado, aún cuando también existían signos de compromiso cardíaco del tipo de una miocarditis aguda (33).

En los lugares endémicos para la enfermedad de Chagas, los pacientes infectados con VIH presentan riesgo de adquirir la infección por el parásito anteriormente mencionado, así como también de desarrollar una posible reactivación de anteriores infecciones; esto es debido a que los linfocitos que protegen al organismo humano del parásito, son los mismos que se encuentran disminuidos por el virus del SIDA (15,34).

En los últimos años nuevos aspectos inmunopatológicos de la enfermedad de Chagas, se han descrito en pacientes inmunosuprimidos, dando mayor relevancia a las lesiones severas producidas al sistema nervioso central, siendo la meningoencefalitis la manifestación más común(22,23,35). Se ha encontrado el desarrollo de una masa cerebral, semejante a un tumor cerebral en pacientes con SIDA (6,19,20.), así como una posible manifestación de miocarditis aguda(33,36), aún cuando los pacientes nunca presentaron con anterioridad alguna anormalidad cardiaca, sin olvidar también el involucramiento de distintos órganos como el esófago y colon (27,33).

Se ha determinado que el sistema nervioso suele ser uno de los órganos blanco que con mayor frecuencia y gravedad afecta el VIH, lo cual es debido a la inmunosupresión profunda que se desarrolla (20,37), sin embargo también se ha encontrado que estas neuropatías pueden ser producto de la asociación de lo anterior y la presencia de enfermedades oportunistas que acompañan al SIDA (37,38).

F. Epidemiología de VIH y Enfermedad de Chagas en Guatemala.

Globalmente se estima que ocurren 16,000 nuevos casos diarios de infección por VIH, incluyendo los niños infectados al nacer o a través de la leche materna (39).

En el año de 1,984 se detectaron los dos primeros casos de SIDA en Guatemala. Este fue el punto de partida para iniciar su registro y conocer el comportamiento de la enfermedad en el país. A partir de esa fecha el aumento de los casos se presenta de forma constante y progresiva (39).

El reporte de casos dentro de la República de Guatemala, se manifiesta en forma diversa afectando más a unos departamentos que a otros. Los 5 departamentos con mayor número de casos reportados son: Guatemala (2,707), Escuintla (456), Quetzaltenango (402) Suchitepéquez (382) e Izabal (266) (39).

Al inicio de la epidemia en nuestro país (1,984); los casos reportados fueron estrictamente en hombres; actualmente el 72% de los casos continúa registrándose en el género masculino y el 28% restante en el femenino. Los grupos de edades con mayor número de casos reportados son: 15-49 años (85%) y 50-100 años (9%) (39).

A partir de 1,991 la Organización Mundial de la Salud describió a los departamentos de Chiquimula, Jalapa, El Progreso, Santa Rosa y Zacapa como zona endémica de la enfermedad de Chagas en Guatemala (40). Sin embargo actualmente hay reportes en otros departamentos, por lo que el Programa Nacional de Enfermedades Transmitidas por Vectores del Ministerio de Salud Pública, incluye dentro del área endémica de la enfermedad de Chagas los departamentos de Jutiapa, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Quiché y Huehuetenango (41).

Además esta misma institución, ha determinado que las edades con mayor número (72%) de casos reportados para la enfermedad de Chagas es de 25 a 39 años, en donde la distribución dentro de este rango es de 54% para el género masculino y 46% para el género femenino (41).

IV. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala, el problema del SIDA ha ido en aumento desde que se reportó el primer caso en 1,984, la trascendencia del problema radica en el hecho de que se ha vuelto una pandemia por su letalidad y rápida expansión.

En el Hospital General San Juan de Dios, continuamente se diagnostica a pacientes con el Virus de Inmunodeficiencia Humana y Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. La mayoría de pacientes infectados por el VIH, desarrollan infecciones oportunistas que producen una morbilidad significativa y la mayoría de los casos son secundarios a la reactivación de la infección latente, pudiendo estar entre ellas la enfermedad de Chagas.

En nuestro país, se desconoce la importancia de la enfermedad de Chagas en pacientes con compromiso del sistema inmune por lo que es importante la realización de este estudio. La descripción de la prevalencia de *Trypanosoma cruzi* y su posible implicación como agente causal de importantes lesiones neurológicas en pacientes con VIH/SIDA, permitirá realizar una evaluación más completa en estos pacientes y asimismo proporcionarles un mejor tratamiento.

V. OBJETIVOS

General:

Identificar al *Trypanosoma cruzi* como agente oportunista en pacientes con VIH/SIDA, que acuden a la clínica familiar “Luis Ángel García” del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala.

Específico:

1. Determinar la prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en pacientes con SIDA y que presentan probable sintomatología de la enfermedad de Chagas.

2. Establecer la seroprevalencia de anticuerpos IgM e IgG a *Trypanosoma cruzi* en pacientes VIH positivo.
3. Evaluar los principales factores de riesgo para adquirir la infección por *Trypanosoma cruzi* en pacientes con VIH/SIDA.

VI. HIPÓTESIS

La prevalencia de anticuerpos a *Trypanosoma cruzi* en pacientes con VIH/SIDA, es mayor al 1.88% observado en la población guatemalteca en general.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

Pacientes con VIH/SIDA que acudieron al Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala.

1. Muestra:

Pacientes con VIH/SIDA que acudieron a la consulta externa en la Clínica Familiar “Luis Ángel García” del Hospital General San Juan de Dios, en el período de abril a octubre de 2002.

Los pacientes fueron clasificados como VIH positivo y SIDA a través del expediente clínico del paciente, para lo cual el personal médico de la Clínica aplicó los criterios basados en la definición y clasificación de SIDA según la OMS (Anexo 1) (42).

B. Recursos

1. Recursos Humanos:

Autor: Br. Margia Odili López Castro.

Asesores: Vivian L. Matta, Q.B., M.Sc.
María Paula De León, Q.B.

Colaboradores: Dr. Eduardo Arathoon

Blanca Samayoa, Q.B., PhD.

Personal de la Clínica Familiar “Luis Ángel García”.

2. Recursos Institucionales:

- Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Departamento de análisis estadístico e informática del Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas –IIQB-, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Clínica Familiar “Luis Ángel García” del Hospital General San Juan de Dios.

3. Recursos Físicos:

a. Equipo

- Centrífuga
- Pipetas automáticas de volumen variable
- Puntas para pipetas de volumen variable
- Láminas para microtitulación
- Tubos vacutainer de 16 x 100 mm.
- Sistema descartable de agujas y material contaminado
- Viales plásticos cónicos Eppendorf de 1.5 ml de capacidad
- Placas de poliestireno para titulación (fondo en U)
- Cubreobjetos (22 x 60 mm)
- Cobertor adherible para microplacas
- Cámaras húmedas
- Agitador por rotación
- Congelador a -70 °C
- Incubadora a 37 °C
- Microscopio para Fluorescencia
- Lector de ELISA

b. Materiales

- alcohol etílico al 70%

- algodón
- torniquete de hule
- guantes de látex
- bata de manga larga
- paños limpiadores
- detergente comercial
- cepillos cilíndricos

c. Reactivos

- i. Test de Hemaglutinación Indirecta (Wiener lab.)
 - diluyente de muestras
 - eritrocitos de carnero sensibilizados con antígenos de *T. cruzi*.
 - eritrocitos de carnero no sensibilizados
 - suero control positivo
 - suero control negativo
- ii. Test de Aglutinación con partículas de Gelatina (Fujirebio, inc.)
 - solución reconstituyente para muestras (liofilizada)
 - solución reconstituyente para reactivos (liofilizada)
 - partículas de gelatina sensibilizadas con antígenos de *T. cruzi*.
 - partículas de control de gelatina no sensibilizadas
- iii. Test para Chagas-Inmunofluorescencia Indirecta (Depto. Citohistología, USAC)
 - tampón PBS
 - conjugado anti-humano (IgG e IgM) marcado con Isotiocianato de Fluoresceína (FITC).
 - Azul de Evans al 1%
 - Glicerina bufferada
- iv. Test para Chagas-Elisa (Omega / Pathozyme ®)
 - tampón PBS
 - tampón diluyente
 - conjugado anti-humano (IgG e IgM)
 - sustrato

- solución de parada
 - suero control positivo
 - suero control negativo
- v. Test para Antígenos de excreción-secreción de Tripomastigotes (TESA Blot ®)
- tiras de nitrocelulosa
 - agua destilada
 - Anti-Globulina Humana conjugada con Peróxido (anti-IgG e IgM fracción gama)
 - tampón PBS
 - solución de revelado

C. Metodología

1. Recolección de muestras

- a. El estudio se llevó a cabo en pacientes con VIH/SIDA, que acudieron voluntariamente a su evaluación a la Clínica Familiar “Luis Ángel García” del Hospital General San Juan de Dios. A estos pacientes previamente se les realizó las respectivas pruebas de tamizaje y de confirmación para VIH.
- b. Seguidamente se obtuvo el consentimiento de los pacientes por escrito para participar en el estudio (Anexo 2). Los datos generales de las personas como su historial clínico, fueron recopilados en una encuesta epidemiológica (Anexo 3).
- c. Se extrajeron 6 ml de sangre, esta se dejó coagular y luego se centrifugó para separar el suero. Los sueros se colocaron en microtubos los cuales permanecieron almacenados a -70 °C hasta que se realizaron las pruebas serológicas. Se realizó dos pruebas de tamizaje, Hemaglutinación Indirecta (HAI) y Aglutinación de Partículas de Gelatina (GPAT); considerando positivas aquellas que mostraron una dilución positiva mayor o igual a 1:32. Todas las muestras positivas obtenidas por las pruebas de tamizaje, se confirmaron con las técnicas de ELISA, IFI y TESA. Los resultados de las evaluaciones de estas pruebas se observan en el anexo 4.

2. Test de hemaglutinación indirecta (HAI)

- Se colocó 75 ul del diluyente de muestra en el pozo 1A y 25 ul en los pozos 2A, 3A y 4A empleando una micropipeta automática.

- Se añadió 25 ul de muestra en el pozo 1A usando una micropipeta y se homogenizó el contenido, aspirándolo y dispensándolo repetidamente con la micropipeta por 3 o 4 veces. Se transfirió 25 ul del pozo 1A al pozo 2A mezclando bien la solución en el pozo 2A; de la misma forma se transfirió 25 ul del pozo 2A al pozo 3A y del pozo 3A al pozo 4A siguiendo los pasos indicados para el pozo 1A, luego se descartó 25 ul sobrantes del pozo 4A, para obtener diluciones seriadas (1:4, 1:8, 1:16 y 1:32).
- Se colocó 25 ul de células no sensibilizadas en el pozo 2A y 25 ul de células sensibilizadas en los pozos 3A y 4A.
- El mismo procedimiento anteriormente descrito se realizó para el control positivo (pozo 1B) y control negativo (pozo 1C).
- Se mezcló el contenido de los pozos aplicando suaves golpes en los laterales de la placa y se dejó en reposo horizontalmente a temperatura ambiente por un mínimo de 90 minutos.

Interpretación de resultados:

<u>Patrón</u>	<u>Lectura</u>	<u>Interpretación</u>
Partículas agregadas en forma de un botón en la parte central del pozo con un contorno liso y redondeado.	(-)	Negativo
Las partículas forman un anillo completo con un borde externo liso y redondeado.	(+/-)	Inconcluso
Anillo grande bien definido con un borde externo áspero y aglutinación periférica.	(+)	Positivo
Aglutinación membranosa de las partículas, las cuales aparecen cubriendo uniformemente el fondo del pozo.	(++)	Positivo

La máxima dilución en la cual se observó el tamiz o aglutinación de las células sensibilizadas fue el título que se reportó para cada muestra.

La muestra se consideró POSITIVA cuando el resultado de la titulación era mayor o igual al título 1:32.

Anticuerpos heterófilos:

Las células no sensibilizadas fueron utilizadas para controlar la presencia de anticuerpos heterófilos en el suero problema; si se observó aglutinación en el pozo de la primera dilución se adsorbió el suero.

Adsorción de sueros:

Se colocó en un microtubo partes iguales de suero problema y de suspensión de células no sensibilizadas, la suspensión se dejó durante 30 minutos a 37 °C . Luego se centrifugó a 2,000 rpm durante 5 minutos. Se separó el sobrenadante de la suspensión del suero ahora diluida 1:2. El suero se corrió nuevamente como se describe en la metodología anterior.

3. Test de aglutinación con partículas de gelatina (GPAT)

- Se colocó 175 ul del diluyente de muestra en el pozo 1A y 25 ul en los pozos 2A y 3A empleando una micropipeta automática.
- Se añadió 25 ul de muestra en el pozo 1A usando una micropipeta y se homogenizó el contenido, aspirándolo y dispensándolo repetidamente con la micropipeta por 3 o 4 veces. Se transfirió 25 ul del pozo 1A al pozo 2A mezclando bien la solución en el pozo 2A; de la misma forma se transfirió 25 ul del pozo 2A al pozo 3A siguiendo los pasos indicados para el pozo 1A, luego se descartó 25 ul sobrantes del pozo 3A para obtener diluciones seriadas (1:8, 1:16 y 1:32).
- Se colocó 25 ul de las partículas control en el pozo 2A y 25 ul de partículas sensibilizadas en el pozo 3A.
- El mismo procedimiento anteriormente descrito se realizó para el control positivo (pozo 1B) y control negativo (pozo 1C).
- Se mezcló el contenido de los pozos aplicando suaves golpes en los laterales de la placa y se dejó en reposo horizontalmente a temperatura ambiente durante 90 minutos.

Interpretación de resultados:

<u>Patrón</u>	<u>Lectura</u>	<u>Interpretación</u>
Partículas agregadas en forma de un botón en la parte central del pozo con un contorno liso y redondeado.	(-)	Negativo
Las partículas forman un anillo completo con un borde externo liso y redondeado.	(+/-)	Inconcluso
Anillo grande bien definido con un borde externo áspero y aglutinación periférica.	(+)	Positivo
Agglutinación membranosa de las partículas, las cuales aparecen cubriendo uniformemente el fondo del pozo.	(++)	Positivo

La máxima dilución en la cual se observó el tamiz o aglutinación de las partículas sensibilizadas fue el título que se reportó para cada muestra.

La muestra se consideró POSITIVA cuando el resultado de la titulación fue mayor o igual al título 1:32.

4. Técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI)

- Se efectuaron diluciones de los sueros problema y de los controles positivo y negativo en 1:20, 1:40 y 1:80. La dilución se efectuó con tampón PBS.
- Se sacaron del congelador las láminas que se iban a utilizar y se dejó que alcanzaran la temperatura ambiente.
- Se colocaron 10 μ l de cada una de las diluciones de muestras y controles en los pozos de la placa con antígeno y se incubó a 37 °C por 30 minutos en cámara húmeda.
- Se lavaron 3 veces las placas con PBS imprimiendo un movimiento rotatorio. Cada lavado tuvo una duración de 5 minutos. Se sacudieron bien las láminas para que quedaran lo más secas posible.
- Se agregó a cada pozo 10 μ l de la dilución adecuada de conjugado anti-humano (IgG o IgM) marcado con FITC diluido con PBS. A la solución de conjugado se le agregó Azul de Evans (1%) como colorante de contraste.
- Luego de agregar el conjugado se incubó a 37 °C por 30 minutos en cámara húmeda.
- Se lavaron las láminas como se indica en el paso c.
- Una vez estuvieron secas las láminas, se cubrieron con glicerina bufferada pH 9 y se colocó un cubreobjetos de 22 x 60 mm a cada una.
- Se observó al microscopio de epifluorescencia y se determinó los grados de fluorescencia comparando cada suero problema con los controles positivo y negativo utilizados.

Interpretación de resultados:

El resultado se consideró positivo cuando se observó fluorescencia similar a la del control positivo y el título reportado fue la última dilución a la cual se observó.

5. Técnica para ELISA -Chagas

- Se diluyeron los sueros problema en 1:25 con diluyente de muestra. Se efectuaron las mismas diluciones para los controles positivo y negativo.
- De cada dilución de muestra y de controles, se agregaron 100 ul en cada pozo de la placa, se agitó por 5 segundos y se incubó a 37 °C por 60 minutos.
- El contenido de los pozos se descartó por inversión y se lavó la placa tres veces con solución de lavado diluida en 1:19 con agua destilada.
- Se removió todo el exceso de solución de lavado con una toalla de papel absorbente.
- Se agregó 100 ul de conjugado en cada pozo, se agitó por 5 segundos y se incubó a 37 °C por 30 minutos.
- El contenido de los pozos se descartó y se lavó la placa como indica el paso c.
- Se colocó 100 ul de sustrato, se agitó por 5 segundos y nuevamente se incubó a 37 °C por 15 minutos en obscuridad.
- Se agregó 100 ul de solución de parada a través de las paredes de cada uno de los pozos y se agitó por 30 segundos.
- Se realizó lectura espectrofotométrica a 450 nm (filtro de 405 a 630).

Interpretación de resultados:

POSITIVO: Absorbancia mayor del punto de corte .

NEGATIVO: Absorbancia menor del punto de corte.

El punto de corte se calculó tomando la absorbancia del control negativo más 2 desviaciones estándar del mismo.

6. Técnica de antígenos de excreción-secreción de tripomastigotes de *T. cruzi* (TESA)

- Se incubó la tira de nitrocelulosa en 500 ul de suero diluido 1:200 con PBS + 1% de leche descremada durante 2 horas a temperatura ambiente sobre un agitador por rotación.
- Después de incubar, se lavó la tira 4 veces (5 minutos cada vez) con PBS 0.01M, pH 7.2
- Se adicionó 500 ul de conjugado (anti-IgG humano marcado con peroxidasa Sigma 8419) diluido 1:2000 con PBS + 1% de leche descremada.
- Se incubó la tira durante 2 horas a temperatura ambiente sobre un agitador por rotación.
- Se procedió a lavar nuevamente las tiras 4 veces (5 minutos por vez) con PBS 0.01M, pH 7.2.
- Se reveló la reacción con solución cromógeno de 4 cloro-naphthol, metanol y H₂O₂ al 30 %.
- Cuando las bandas se hicieron visibles se paró la reacción, se lavó las tiras con abundante agua y se secó entre papel filtro para su mejor observación.

Interpretación de resultados:

POSITIVO: La presencia de bandas de peso molecular (PM) entre de 150-160 kDa, indican la presencia de anticuerpos IgG de fase crónica; también en estos pacientes reaccionan las bandas denominadas SAPA de peso molecular que varía entre 120-210 kDa, y una banda de aproximadamente 95 kDa.

NEGATIVO: No se observan bandas.

D. Diseño de la Investigación

1. Tipo de muestreo

Se realizó un muestreo de tipo no probabilístico, en el cual se incluyeron muestras de sangre de todos los pacientes VIH positivo que asistieron por primera vez a la Clínica Familiar “Luis Ángel García” del Hospital General San Juan de Dios, así como de pacientes VIH/SIDA que acudieron a su consulta periódica y pacientes hospitalizados con SIDA registrados en dicha institución. El número de muestras a alcanzar durante el período de muestreo, calculado en base al total de pacientes que asisten mensualmente fue 286, y debido al alto número de asistencia de pacientes el total de muestras recolectadas fue 300. Además se obtuvo una muestra adicional fuera del período de muestreo (10 meses después) obteniendo un total de 301 muestras para analizar.

2. Análisis de Resultados:

Se creó una base de datos utilizando EPI-INFO 6.04 y a los datos se les aplicó análisis estadístico de tipo descriptivo de la prevalencia y de las variables edad, género, escolaridad, lugar de origen, etc., así como diagnóstico y comparación de métodos de Chagas. La prevalencia se estimó con un Intervalo de confianza del 95%.

VIII. RESULTADOS

En el estudio se incluyeron 300 pacientes VIH/SIDA positivo que acudieron a la Clínica Familiar “Luis Ángel García” en el período comprendido de abril a octubre del año 2002. Adicionalmente se incluyó 1 paciente VIH/SIDA que fue evaluado en el mes de agosto de 2003, y que por su historial clínico y por ser VIH seropositivo se consideró conveniente realizarle los exámenes correspondientes, para obtener un total de 301 pacientes evaluados. A todos los pacientes se les realizó una entrevista epidemiológica y exámenes serológicos. Los resultados incluyen una descripción demográfica, epidemiológica, hallazgos clínicos y de laboratorio, los cuales se describen a continuación.

A. Descripción demográfica

De los 301 pacientes estudiados, 300 fueron usuarios de tipo ambulatorio y 1 de tipo hospitalizado. La distribución por género fue de 116 (38%) mujeres y 185 (62%) hombres. La mayoría de pacientes estuvo comprendida entre las edades de 20 a 30 años 148 (49%), la edad mínima en el grupo fue de 16 años y la máxima de 62, siendo la edad promedio de 27 años. Del total 142 pacientes (47%) se encontraba casado o unido, 126 pacientes (42%) era soltero, 21 pacientes (7%) era separado y los restantes 12 (4%) estaban viudos al momento de la investigación; también se encontró que 154 (51%) no tenía hijos y solo 21 (7%) tenía más de 4 hijos (tabla 1).

Un total de 186 pacientes del estudio (62%) reportó estar viviendo en la capital y los restantes 115 (38%), refirieron vivir fuera de ella. También 252 (83%) de los pacientes expresó pertenecer a la etnia ladina, 44 (15%) a la indígena y los restantes 4 (2%) a la garífuna. El 29 (10%) indicó ser analfabeta, mientras 135 (45%) informaron ser alfabetas y haber cursado algún grado primario y el resto 137 (45%) cursó algún grado de secundaria, diversificado e inclusive superior. Se observó que 133 pacientes (44%) no contaban con fuente de ingresos y 168 (56%) refirió estar asalariado. Un total de 167 (55%) indicó ser católico, 80 (27%) era protestante y el resto 54 (18%) no pertenecía a religión alguna (tabla 1) .

Tabla 1. Información demográfica de los pacientes con VIH/SIDA que participaron en el estudio

CARACTERISTICAS	TOTAL	PORCENTAJE (%)
Tipo de usuario		
Ambulatorio	300	99.7
Hospitalizado	1	0.3
Género		
Masculino	185	62
Femenino	116	38
Estado Civil		
Soltero	126	42
Casado / unido	142	47
Divorciado / separado	21	7
Viudo	12	4
Escolaridad		
Alfabeta	272	90
Analfabeta	29	10
Etnia		
Ladina	252	83
Indígena	45	15
Otra	4	2
Religión		
Católico	167	55
Protestante	80	27
Otra	54	18
Lugar de origen		
Área urbana	186	62
Área rural	115	38
Condiciones de trabajo		
Asalariado	168	56
No asalariado	133	44

n=301

B. Descripción epidemiológica

De los 301 pacientes evaluados, 269(89%) pertenecen al área rural no endémica y el resto 32(11%) al área rural endémica, la cual incluye a 5 departamentos de Guatemala (12 El Progreso, 10 Chiquimula, 4 Santa Rosa, 3 Jalapa y 3 Jutiapa). Asimismo 205 (68%) reportó no tener animales en su casa, mientras que 96 (32%) si tienen animales. También, 13 (4%) de los pacientes si tenían antecedentes de haber recibido transfusión sanguínea y 288 (96%) no tenían, de los cuales 5 eran mujeres y el resto eran hombres. En lo que se refiere al tipo de vivienda se encontró que el grupo mayor 224 (74%) tenía paredes de block, 158 (52%) reportó tener piso de cemento, así como también 242 (80%) de los pacientes tenía techo de lámina.

Respecto al vector y la enfermedad de Chagas, del total solamente 32 (11%) pacientes sí había escuchado de la chinche picuda y 20 (7%) del total, sí conocía del vector, sin embargo ninguno informó haber sido picado por la chinche. Solamente 13 (4%) pacientes de la población estudiada aseguró haber escuchado de la enfermedad de Chagas y 6 (2%) expresó sí conocer sobre dicha enfermedad. Del total de pacientes sólo 1 de ellos indicó tener un integrante de su familia que padecía la enfermedad de Chagas (tabla 2).

C. Descripción de parámetros clínicos

En cuanto a las manifestaciones clínicas que los pacientes presentaron al momento del estudio sólo 86 de los 301 (29%) aseguraron sufrir dolor de pecho y por lo tanto solo 45 (15%) del total, se han realizado en alguna ocasión una evaluación cardiaca a través de un electrocardiograma; sin embargo, la mayoría de ellos no recuerda el resultado de dicho procedimiento. Además 115 (38%) pacientes reportaron tener dificultad para respirar al realizar un esfuerzo mínimo y 49 (16%) informaron tener dificultad para respirar al encontrarse en reposo. Se determinó que 247 (82%) eran VIH seropositivos y de estos 168 asistían por primera vez a la clínica a su evaluación (112 asintomáticos y 56 no asintomáticos) y el resto 79 por reconsulta, 54 pacientes (18%) eran VIH/SIDA seropositivos y además de su actual condición, la mayoría de los pacientes sintomáticos enfrentaban alguna enfermedad o infección sobre agregada, en donde se encontró que las más frecuentes eran Síndrome diarreico crónico, candidiasis orofaríngea, tuberculosis pulmonar, meningitis por diversos agentes y Herpes simplex I (tabla 3).

Tabla 2. Factores de riesgo para la enfermedad de Chagas en pacientes con VIH/SIDA que participaron en el estudio

VARIABLE	TOTAL	PORCENTAJE (%)
Lugar de residencia		
Área endémica	32	11
Área no endémica	269	89
Transfusiones sanguíneas previas		
Si	13	4
No	288	96
Convivencia con animales domésticos		
Si	96	32
No	205	68
Material de pared de vivienda		
Adobe	29	10
Block	224	74
Otro	48	16
Material de piso de vivienda		
Tierra	36	12
Cemento	158	52
Otro	36	36
Ha escuchado sobre el vector (chinche)		
Si	32	11
No	269	89
Conoce el vector (chinche)		
Si	20	7
No	281	93
Conoce sobre la enfermedad de Chagas		
Si	6	2
No	295	98

n=301

Tabla 3. Condiciones clínicas en pacientes con VIH/SIDA en el momento de la investigación

CARACTERÍSTICAS	TOTAL	PORCENTAJE (%)
Diagnóstico		
Paciente con VIH / Asintomático	112	37
Paciente con VIH / no Asintomático	135	45
Paciente con VIH/ SIDA	54	18
Dolor de pecho		
Si	86	29
No	215	71
Dificultad para respirar por esfuerzo mínimo		
Si	115	38
No	186	62
Dificultad para respirar en reposo		
Si	49	16
No	252	84
Enfermedad / Infección más frecuente (n=189)		
Síndrome diarreico crónico	61	32
Candidiasis orofaríngea	54	29
Tuberculosis pulmonar	37	20
Meningitis	11	6
Herpes simplex I	9	5
Otra	16	8

n= 301

D. Descripción de parámetros serológicos

Las primeras pruebas serológicas realizadas a los sueros de los pacientes fueron hemaglutinación indirecta (HAI) y aglutinación de partículas de gelatina (GPAT) , considerando positivos todos aquellos que mostraron una dilución positiva mayor o igual a 1:32. De las 301 muestras analizadas por la técnica de HAI, 3 (1%) mostraron una titulación mayor o igual a 1:32; 2 de estas 3 muestras corresponden al género masculino y 1 al femenino; sin embargo para la técnica de GPAT únicamente 2 (0.66%) fueron positivas con una titulación mayor o igual a 1:32, de donde 1 corresponde al género masculino y el otro al femenino (tabla 4).

Tabla 4. Resultados obtenidos por las técnicas de HAI y GPAT para la determinación de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* (n=301)

PRUEBA SEROLÓGICA		RESULTADO	
Método	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
Hemaglutinación indirecta (HAI)	3 (0.99%)	298 (99%)	301 (100%)
Aglutinación de partículas de Gelatina (GPAT)	2 (0.66%)	299 (99.33%)	301 (100%)

Para confirmar el diagnóstico serológico, las 3 muestras positivas obtenidas por la técnica de HAI fueron procesadas por las técnicas de inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y antígenos de excreción-secreción de tripomastigotes de *T.cruzi* (TESA). Los resultados de estas pruebas serológicas se describen en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados de las pruebas serológicas para la determinación de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*

PRUEBA SEROLÓGICA	RESULTADO		
	CASO 1	CASO 2	CASO 3
HAI	+ 1:32	+ 1:32	+ 1:256
GPAT	NEGATIVO	+ 1:128	+ 1:2048
ELISA- Chagas IgM	NEGATIVO	NEGATIVO	+
ELISA- Chagas IgG	NEGATIVO	+	+
IFI IgM	NEGATIVO	NEGATIVO	+ 1:20
IFI IgG	NEGATIVO	+ 1:20	+ 1:160
TESA IgM	NEGATIVO	NEGATIVO	+
TESA IgG	NEGATIVO	+	+

n= 3

(+) = POSITIVO

Debido al hallazgo tan relevante y a la vez poco común del caso 3, además de serología también se realizaron diversos análisis parasitológicos en líquido cefalorraquídeo, sangre completa, médula ósea y biopsia de hueso, con el fin de proporcionar un diagnóstico más completo (tabla 6).

Tabla 6. Hallazgos serológicos y parasitológicos correspondientes al caso 3

METODOLOGÍA	RESULTADO
Líquido Cefalorraquídeo	
Examen directo	POSITIVO
Tinción con Giemsa	POSITIVO
TESA	POSITIVO
Cultivo en medio LIT	POSITIVO
Cultivo celular en fibroblastos	POSITIVO
Sangre completa	
Hemocultivo	POSITIVO
Otros	
Cultivo de médula ósea	NEGATIVO
Tinción con Giemsa de médula ósea	NEGATIVO
Cultivo biopsa de hueso	NEGATIVO
Tinción con Giemsa de biopsa de hueso	NEGATIVO

LIT= Liver infusion triptose

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A nivel mundial, se han reportado muy pocos estudios y por lo tanto muy pocos casos de

infección oportunista de *Trypanosoma cruzi* en pacientes con VIH/SIDA. Por ello es necesario tomar en cuenta todas aquellas variables que conllevan a presentar este comportamiento y así mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Con el fin de establecer la importancia de esta infección en Guatemala, en este estudio se incluyeron 300 pacientes ambulatorios y 1 paciente hospitalizado. Aún cuando se había determinado previamente que ambos tipos de pacientes formarían la muestra poblacional, se trabajó con un número mayor de pacientes ambulatorios debido a su mejor accesibilidad, a que asistían voluntariamente a consulta y a que éstos se encontraban en completas facultades físicas y mentales para firmar el consentimiento que permitía recopilar datos a través de una entrevista para luego obtener la muestra de sangre. Por todo lo anterior, se incluyó 168 pacientes que asistían por primera vez y que recientemente se les había comunicado el resultado positivo para la prueba de VIH, así como 133 que con anterioridad habían sido diagnosticados como VIH/SIDA positivos y asistían a su consulta periódica.

De acuerdo con los resultados demográficos en lo que se refiere a lugar de origen y residencia, se encontró que del número total (301), 115 (38%) eran del interior del país, de los cuales solo 32 (28%) pertenecían al área endémica para la enfermedad de Chagas (El Progreso, Chiquimula, Jalapa, Jutiapa y Santa Rosa) y aún cuando son la minoría de la población estudiada, se encontró que los 2 casos positivos para *T. cruzi* eran originarios de Santa Rosa y Jalapa.

Por otro lado aunque el tipo de material de las viviendas varió, solamente en 1 de los 2 casos reportados se encontró que la pared de la casa era de adobe, mientras que el piso y el techo eran materiales de mejor calidad, por lo que aún así lo hace un lugar propicio para la propagación y la convivencia de la chiche picuda con las personas que habitan dicha vivienda.

Es importante mencionar que ambos casos expresaron convivir con los mismas especies de animales como son palomas, perros y gatos; coincidentemente también refirieron haber sido sometidos a transfusiones sanguíneas en alguna ocasión, por lo que de acuerdo a lo anterior, estas dos situaciones pueden considerarse como factores de riesgo para adquirir la enfermedad de Chagas en alguna etapa de la vida de estas dos personas.

Otro aspecto evaluado fue el conocimiento del vector y la enfermedad, encontrándose que del número total solo 32 (11%) pacientes han escuchado de la chinche picuda y 20 (7%) expresaron conocer dicho vector; lamentablemente ninguno refirió recordar si alguna vez fueron picados por la chinche. Únicamente 13 (4%) aseguraron haber escuchado de la enfermedad de

Chagas, mientras que 6 (2%) afirmaron conocer sobre esa enfermedad, por lo que estos resultados demuestran el poco conocimiento que posee toda la población guatemalteca sobre la enfermedad y el vector. Podría asegurarse que los pacientes provenientes del área endémica fueron los que presentaron el mayor porcentaje de respuestas afirmativas sin embargo, esta misma población desconoce mucho sobre programas de control epidemiológico, a la vez, este dato refleja el alto riesgo de los habitantes de ser picados por la chinche y desarrollar la enfermedad.

Respecto a las manifestaciones clínicas que presentaron los pacientes al momento de su participación en el estudio, la mayoría se encontraban asintomáticos tanto para el VIH/SIDA (82%), 38% presentaron dificultad para respirar al realizar un esfuerzo mínimo y 29% dolor de pecho. Estos dos síntomas han sido reportados en pacientes con enfermedad de Chagas crónico, ya que la disnea de esfuerzo se correlaciona con el comienzo del deterioro cardíaco (3), sin embargo solamente uno de los dos casos positivos para *T. cruzi* presentó dolor de pecho, mientras que el otro se encontraba asintomático para ambas condiciones patológicas. El paciente con dolor de pecho reportó también un proceso meníngeo severo el cual también es referido como un síntoma de la etapa crónica, en donde además de la alteración cardíaca pueden observarse, aunque algunos de menor significación, trastornos en el sistema nervioso central, periférico y autónomo (3). También es importante mencionar que de acuerdo a la definición y clasificación de SIDA según la OMS (Anexo 1), uno de estos dos casos ha sido clasificado como VIH positivo (estado clínico 1) y el otro como VIH/SIDA positivo (estado clínico 4) debido a las manifestaciones clínicas encontradas en cada uno.

En lo referente a las pruebas serológicas, se utilizaron 5 métodos para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*, cuatro de ellos de diferente principio inmunológico. Todas las muestras fueron tamizadas con las pruebas de HAI y GPAT, ambas con el mismo principio inmunológico pero que presentaron discordancia, ya que en la prueba de HAI fueron encontradas 3 (0.99%) muestras positivas de las 301 totales mientras que para GPAT únicamente 2 (0.66%) (tabla 4). Estas tres muestras fueron procesadas para confirmar a través de las pruebas de ELISA, IFI y TESA en donde se obtuvo una concordancia del 66%, ya que de las 3 muestras seropositivas por HAI únicamente 2 lograron confirmarse. Las 2 muestras positivas para GPAT lo fueron también por ELISA, IFI y TESA obteniéndose una total concordancia (100%) entre estas pruebas; este dato es muy significativo para considerar las muestras serológicamente positivas, ya que estas son pruebas serológicas cuyo principio inmunológico es distinto.

A pesar de encontrar tres casos positivos por la prueba de HAI, únicamente el caso 2 y 3 fueron considerados positivos, debido a que estos también lo fueron para las siguientes pruebas confirmatorias (tabla 5). De estas dos muestras positivas, solamente una, resultó ser positiva para anticuerpos de tipo IgM por ELISA, IFI y TESA, mientras que la otra muestra lo fue únicamente para IgG, este paciente al momento del estudio se encontraba asintomático con respecto a la enfermedad de Chagas y para el VIH/SIDA. En el caso 3, cuyo paciente es IgM positivo, la presencia de tripanosomiasis pudo haber sido una infección recientemente adquirida o por una reactivación de la enfermedad ya que existe la probabilidad de haber sido picado por la chinche a edad temprana, permanecer asintomático y actualmente bajo un proceso de inmunosupresión manifestar síntomas sugestivos de la enfermedad como lo es la meningoencefalitis. Sin embargo esto todavía no es un criterio claro, pues se necesita investigar más a fondo todos los factores que pueden llevar a determinar el tipo de infección. Es importante mencionar que éste, es el único que demostró total asociación con respecto a variables: lugar de origen, manifestaciones clínicas y pruebas serológicas positivas para *T. cruzi*.

Los resultados de este estudio demuestran que la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en la población estudiada es de 0.66% (2/301). En pacientes VIH seropositivos se encontró 1/247 para anticuerpos de tipo IgG y 1/54 en pacientes con VIH/SIDA tanto para anticuerpos IgM como para IgG, ninguno de estos datos confirmó la hipótesis del estudio, la cual estimaba dicha prevalencia en mayor a 1.88% con respecto al de la población guatemalteca en general.

X. CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos demuestran que el *Trypanosoma cruzi* debe ser considerado un agente oportunista en pacientes con VIH/SIDA.
2. La prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en pacientes VIH/SIDA no es mayor a la de la población guatemalteca en general.
3. La aglutinación con partículas de gelatina (GPAT) y las pruebas de inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y antígenos de excreción-secreción de tripomastigotes de *T. cruzi* (TESA), demostraron tener una excelente concordancia en los resultados obtenidos.

XI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda un control periódico del paciente VIH/SIDA para evaluar potencial reactivación y/o desarrollo de la fase aguda de la infección chagásica.

2. Todo paciente proveniente de zona endémica para la enfermedad de Chagas y que cursa cualquier situación de inmunosupresión debe ser rigurosamente evaluado en forma periódica. Este seguimiento no solo deberá ser clínico sino fundamentalmente se realizará por medio de exámenes de laboratorio que intensifiquen la búsqueda de *T. cruzi* y las modificaciones serológicas (seroconversión o incrementos del título de anticuerpos).
3. Se recomienda que al momento de establecer la presencia de la coinfección (Chagas-VIH/SIDA) se inicie prontamente el tratamiento y determinar si existe una respuesta favorable.
4. Se recomienda ampliar el programa educacional sobre la enfermedad de Chagas y el vector en las zonas endémicas del país, con el fin de que la información llegue a la mayoría de las personas de esa región y prevenir el aumento de casos positivos de la enfermedad.

VII. REFERENCIAS

1. Laurence T, *et al.* Diagnóstico y Tratamiento clínico. 29ed. México: Manual Moderno. 1994. 1,500p (p1,069-1,090).
2. Stites D, *et al.* Inmunología básica y clínica. 8ed. México: Manual Moderno. 1996. 1,099p (p881-895).
3. Tratado de Medicina Interna de Cecil. 20ed. México: McGraw-Hill Interamericana. 1996. 2,585p. Vol. II (p2,118-2,194).

4. Walzer P, *et al.* Parasitic Infections in the comprised Host. 1ed. EUA: Marcel Dekker INC. 1989. 532p. (p6-8, 179-187).
5. Quan R. Desarrollo de un programa de vigilancia epidemiológica hospitalaria para pacientes con VIH/SIDA en la clínica de la Asociación Guatemalteca de control y prevención del SIDA en el Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis Graduación de Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1998. (p68).
6. The Traveler with HIV infection or AIDS. *Infect. Clín. N Am.* 1998. 12:369-412.
7. Berkow R. El Manual Merck de Diagnóstico y Terapéutico. 9ed. España: Mosby/Doyma Libros. 1994. 3,122p. (p82-92).
8. Arriaza L. Frecuencia de Candidosis oral en pacientes inmunocomprometidos. Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis Graduación de Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1995. (p53).
9. Boburg F. Determinación de la prevalencia de Infecciones pulmonares causadas por *Pneumocystis carinii* en pacientes inmunocomprometidos. Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis Graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1993. (p48).
10. Arathoon E, *et al.* *Mycobacterium tuberculosis* y VIH/SIDA. *Revista de la Facultad de Medicina. Universidad Francisco Marroquín.* Julio –Dic. 1999. 4(2): 84-92.
11. Rippon J. Tratado de Micología Médica. 3ed. México: Nueva Editorial Interamericana, S.A. 1990. 855p. (p670-672).
12. Cuéllar N. Prevalencia de Infecciones Intestinales causadas por Coccidios: *Cryptosporidium sp.*, *Cyclospora cayetanensis* e *Isoospora belli* en pacientes con SIDA. Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis Graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1997. (p71).
13. Aguilar F. Parasitología Médica. 3ed. Guatemala: L. Delgado S.A. 1997. 364p (p250-261).
14. Guhl F, *et al.* Manual de procedimientos para el Diagnóstico de la enfermedad de Chagas. 1ed. Colombia. Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical. Universidad de los Andes. 2001. 98p. (p19-25).
15. Novack R, *et al.* Effect of *Trypanosoma cruzi* infection on activation of HIV-1 in U1 cells. 4th. Conf Retro and Opportun Infect. 1997. Jan 86: 22-26.
16. Da- Cruz A, *et al.* Chagas' Disease in HIV-infected Hemophiliacs: Clinical and Laboratory Follow-up. *Int Conf AIDS.* 1996. Jul 7-12, 11:2,447.
17. Pacheco R, *et al.* Chagas' Disease and HIV co-infection: Genotypic Characterization of the

Trypanosoma cruzi Strain. Coutinbo SG Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998. Mar-Apr. 93:2, 165-169.

18. Blood, a state of emergency in Bolivia. htm Gabriel Columba., Nov. 1998.
19. Gluckstein D, *et al.* Chagas' Disease: another cause of cerebral mass in the acquired immunodeficiency syndrome. Am J Med. 1992: 429-432.
20. Del Castillo M, *et al.* AIDS and Chagas' Disease with central nervous system tumor-like lesion. Am J Med. 1990. 88:693-4.
21. Ferreira M, *et al.* Acute fatal *Trypanosoma cruzi* meningoencephalitis in a human immunodeficiency virus- positive hemophiliac patient. Am J Trop Med Hyg. 1991. 45: 723-727.
22. Rosemberg S. Fatal meningoencephalitis caused by reactivation of *Trypanosoma cruzi* infection in a patient with AIDS. Neurology. 1992. 42: 640-642.
23. Ceriotto M, *et al.* *Trypanosoma cruzi*. Encephalitis (Chagas' Disease) in a patient with HIV infection. Int. Conf AIDS. 1996. Jul 7-12. 11:1, 301.
24. Gallo P. Acute central nervous system infection by *Trypanosoma cruzi* and AIDS. Arq. Neuropsiquiatr. 1992. 50: 375-377.
25. Oddó D. Acute Chagas' Disease (Trypanosomiasis americana) in acquired immunodeficiency syndrome. Report of two cases. Hum Pathol. 1992. 23: 41-44.
26. Leguizamon M, *et al.* Chagas' Disease in HIV patients in Paraguay. Int. Conf AIDS. 1998. 12: 1,143.
27. Marli A, *et al.* Folow-up of 18 patients with human immunodeficiency virus infection, and Chronic Chagas'Disease, with reactivation of Chagas' Disease causing Cardiac disease in three patients. Clin Infect Dis. 1998. 26:177-179.
28. Marín Ó, *et al.* Congenital HIV and Chagas' Disease: Case report. Int Conf AIDS. 1998. 12:43.
29. Opportunistic infections in AIDS, medscape.2001. Disponible en:
http: www.medscape/ID/txupdate/2000/tu03/public/toctu03/html (http//1.0 404).
30. Rocha A, *et al.* Pathology of patients with Chagas' Disease and Acquired Immunodeficiency Syndrome. Am J Trop Med Hyg. 1994. 50:3, 261-268.
31. Chagas' Disease. 6ed.The Columbia Encyclopedia.2001. Disponible en:
http: www.medscape/ID/txupdate/2000/tu02/public/toctu02/html (http// 3.0 308).
32. South & Central America-Chagas' Disease (American trypanosomiasis).2001. Disponible en: http: www.medscape/ID/txupdate/2000/tu02/public/toctu02/html (http// 2.0 416)

33. Marli A, *et al.* Simultaneous Occurrence of Acute Myocarditis and Reactivated Chagas' Disease in a patient with AIDS. *Clin infect. Dis.* 1995. June. 21:1,297-1,299.
34. Pérez L, *et al.* Clinical analysis and parasite genetic diversity in human immunodeficiency virus/ Chagas' Disease coinfections in Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1999. 61:2, 198-206.
35. Portela A, *et al.* *Trypanosoma cruzi* meningoencephalitis in patient with acquired immunodeficiency syndrome. Reporting a case. *IM & Lindoso. JAL.* 2,000.
36. Sartori A, *et al.* Reactivation of Chagas' Disease in a Human Immunodeficiency virus-infected patient leading to severe Heart disease with a Late positive direct microscopic examination of the Blood. *Am J Trop Med Hyg.* 1998. Nov. 59:5, 784-786.
37. Mazariegos I. Enfermedades Neurológicas Oportunistas del paciente con SIDA en el Hospital Roosevelt. Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis Graduación Facultad de Ciencias Médicas). 1998. (p55).
38. Statement on travellers and HIV/AIDS. *Canadian Medical Association Journal.* 1995. 152: 379-380.
39. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud. Programa Nacional de Prevención y Control de ITS/VIH/SIDA. Reporte Nacional de la Notificación de Personas con SIDA acumulados de 1,984 a Junio de 2003. Guatemala. Julio. 2003. 7p (p1,2,5).
40. Organización Mundial de la Salud: Serie de Informes Técnicos. Control de la Enfermedad de Chagas. Trad. Ginebra: OMS, Doc. Tec. No. 811, 1991. V1 + 102 p. (p32).
41. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud. Programa Nacional de Enfermedades transmitidas por Vectores. Sección Entomología Médica. Guatemala. Septiembre. 2003.
42. Manual de referencia para la aplicación de las normas de atención SIAS. Ministerio de Salud y Asistencia Social. Guatemala. 1999. (p19-22).
43. Paz M, *et al.* Diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en Santa María Ixhuatan. *Enfermedades Tropicales en Guatemala, memorias JICA.* Guatemala. 1995. (p33-38).

VIII. ANEXOS

	Página
Definición y clasificación de SIDA según OMS	45
Formulario de consentimiento	46
Boleta de Entrevista Epidemiológica	47
Evaluación de reactivos para determinación de <i>T. cruzi</i>	49

ANEXO 1

Definición y clasificación de SIDA según OMS

ESTADO CLINICO	MANIFESTACIONES CLÍNICAS
Estado Clínico 1	1. Asintomático
Estado Clínico 2	1. Pérdida de peso menor de 10% 2. Manifestaciones mucocutáneas menores 3. Infecciones recurrentes en tracto respiratorio superior 4. Herpes Zoster en los últimos 5 años.
Estado Clínico 3	1. Postrado en cama menos del 50% del día durante el último mes por enfermedad. 2. Pérdida de peso mayor del 10%. 3. Diarrea crónica inexplicable por más de 1 mes. 4. Fiebre constante o intermitente por más de 1 mes. 5. Candidosis vulvovaginal por más de 1 mes o con mala respuesta al tratamiento. 6. Leucoplasia oral vellosa. 7. Tuberculosis pulmonar en el último año. 8. Neumonía bacteriana severa. 9. Otras infecciones bacterianas severas.
Estado Clínico 4	1. Postrado en cama más del 50% del día durante el último mes por enfermedad. 2. Síndrome consuntivo o de desgaste. 3. Criptococosis extrapulmonar. 4. Neumonía por <i>Pneumocystis carinii</i> 5. Toxoplasmosis cerebral. 6. Encefalopatía, demencia. 7. Cándida en esófago, tráquea, bronquios o pulmones. 8. Criptosporidiosis con diarrea por más de 1 mes. 9. Isosporidiasis con diarrea por más de 1 mes. 10. Tuberculosis extrapulmonar. 11. Linforma 12. Herpes simple mucocutáneo por más de un mes o visceral. 13. Micobacteriosis atípica diseminada (MAC). 14. Septicemia por <i>Salmonella</i> no tífica. 15. Cualquier micosis endémica diseminada. 16. Sarcoma de Kaposi. 17. Enfermedad citomegálica de órganos que no sean hígado, bazo o ganglio linfático. 18. Leucoencefalopatía multifocal progresiva (PML).

Tomado de: Manual de referencia para la aplicación de las normas de atención SIAS. Ministerio de Salud y Asistencia Social. Guatemala. 1999. (p19-22).

ANEXO 2

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO

La **Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC)**, a través de los estudiantes de la carrera de **Química Biológica** y en colaboración con la Clínica Familiar **“Luis Ángel García”** del **Hospital General San Juan de Dios**, esta llevando a cabo un estudio sobre la determinación de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en pacientes con VIH/SIDA que acuden a su consulta en esta clínica. Las personas que así lo deseen podrán participara en el estudio y se garantiza salvaguardar la confidencialidad y privacidad de la información obtenida, ya que en ningún momento se utilizará el nombre de la persona en los informes o reportes del estudio y la papelería se guardará estrictamente.

Yo _____, estoy de acuerdo en particular con este estudio. Entiendo que se me harán algunas preguntas para tratar de determinar algunos indicios epidemiológicos, las cuales responderé libremente y también se utilizará la información del laboratorio sobre las muestras de sangre que se me ha extraído.

Firma del Paciente: _____

Fecha: _____

Nombre de Testigo: _____

Firma _____

Nombre del Investigador: _____

Firma: _____

ANEXO 3

BOLETA DE ENTREVISTA EPIDEMIOLOGICA

No. _____

Fecha _____

1. Identificación del paciente _____

2. Edad _____ 3. Género F _____ M _____

4. Tipo de Usuario Ambulatorio _____ Hospitalizado _____

5. Dirección actual _____

6. ¿Cuánto tiempo ha vivido en su casa actual? _____

7. Lugar de nacimiento _____

8. Estado civil S _____ C/U _____ D/S _____ V _____

9. No. de Hijos _____

10. Religión CATOLICO _____ PROTESTANTE _____ OTRA _____

11. Etnia INDIGENA _____ LADINO _____ GARIFUNA _____ OTRA _____

12. Escolaridad ANALFABETA _____ SECUNDARIA _____

ALFABETA _____ DIVERSIFICADO _____

PRIMARIA _____ SUPERIOR _____

13. ¿Trabaja actualmente? SI _____ NO _____

13.1 ¿En qué consiste su trabajo? _____

14. ¿Cuánto gana mensualmente? _____

15. ¿Fuma usted actualmente? SI _____ NO _____

16. ¿Consumo bebidas alcohólicas? SI _____ NO _____

17. ¿En alguna ocasión ha recibido transfusiones de sangre? SI _____ NO _____

18. ¿Qué animales tiene en su casa? _____

19. ¿Cuál es el material de construcción de su casa?

PARED: Block _____ Adobe _____ Ladrillo _____ Otro _____

PISO: Tierra _____ Cemento _____ Granito _____ Otro _____

TECHO: Lámina _____ Terraza _____ Teja _____ Otro _____

20. ¿Lugares donde ha vivido anteriormente y por cuánto tiempo?

21. ¿Conoce la chinche picuda? SI _____ NO _____

22. ¿Ha oído hablar sobre la chinche picuda? SI_____ NO_____
23. ¿Conoce la enfermedad de Chagas? SI_____ NO_____
24. ¿Ha oído hablar sobre la enfermedad de Chagas? SI_____ NO_____
25. ¿Algún integrante de su familia ha padecido de la enfermedad de Chagas? SI_____ NO_____
26. ¿Ha tenido dolor de pecho últimamente? SI_____ NO_____
27. ¿Tiene dificultad para respirar al realizar esfuerzos físicos mayores? SI_____ NO_____
28. ¿Tiene dificultad para respirar al permanecer acostado? SI_____ NO_____
29. ¿En alguna ocasión le han realizado ECG? SI_____ NO_____
30. ¿Padece usted otro tipo de enfermedad? SI_____ NO_____
- ¿Cuál?_____
31. Fecha Dx. VIH_____
- Fecha Dx. SIDA_____

ANEXO 4

Evaluación de reactivos para la determinación de antígenos y anticuerpos contra
Trypanosoma cruzi

VALOR	HAI (%)	GPTA (%)	IFI (%)	ELISA (%)	TESA* (%)
ESPECIFICIDAD	93.0	79.43	98.8	98.5	100
SENSIBILIDAD	100	97.3	73.4	98.3	100
VALOR PREDICTIVO POSITIVO	54.2	96.55	98.6	95.5	100
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO	95.2	83.20	85.6	88.6	96.3

Tomado de: Paz M, *et al.* Diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en Santa María Ixhuatán. Enfermedades Tropicales en Guatemala, memorias JICA. Guatemala. 1995. (p33-38).

*Tomado de: Umezawa ES, *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay with *Trypanosoma cruzi* excreted-secreted antigens (TESA-ELISA) for serodiagnosis of acute and chronic disease. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. Parasitology . 2001; 39: 169-176.