



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

FACULTAD DE CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
Y SALUD PÚBLICA
POSGRADOS EN SALUD PÚBLICA

TESIS

**RIESGO RESIDUAL DE TRANSMISIÓN DE
Trypanosoma cruzi POR DONADORES DE
SANGRE DEL CENTRO ESTATAL DE LA
TRANSFUSIÓN DE SANGRE DE CHIAPAS,
MÉXICO**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS
EN SALUD PÚBLICA**

PRESENTA:

M en C. Martín Velázquez Gómez

DIRECTOR:

Dr en C. Juan Carlos Nájera Ortiz

Por la Cultura de mi Raza

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Diciembre de 2020



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas a 24 de noviembre de 2020
Oficio No. DGIP/CP/0183/2020
Asunto: Autorización de impresión de tesis

C. Martín Velázquez Gómez
Candidato al Grado de Doctor en Ciencias en Salud Pública
Facultad de Ciencias Odontológicas y Salud Pública-UNICACH
P r e s e n t e

Con fundamento en la **opinión favorable** emitida por escrito por la Comisión Revisora que analizó el trabajo terminal presentado por usted, denominado **“RIESGO RESIDUAL DE TRANSMISIÓN DE *Trypanosoma cruzi* POR DONADORES DE SANGRE DEL CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSIÓN DE SANGRE DE CHIAPAS, MÉXICO”**, cuyo director de tesis es el Dr. Juan Carlos Nájera Ortiz, quien avala el cumplimiento de los criterios metodológicos y de contenido; esta Dirección General a mi cargo **autoriza** la impresión del documento en cita, para la defensa oral del mismo, en el examen que habrá de sustentar para obtener el **Grado de Doctor en Ciencias en Salud Pública**.

Es imprescindible observar las características normativas que debe guardar el documento impreso, así como realizar la entrega en esta Dirección General de un ejemplar empastado.

Atentamente
“Por la Cultura de mi Raza”

Lic. Aurora Evangelina Serrano Roblero
Directora General



C.c.p. C.D. Oscar de J. Sarmiento Mandujano, Director de la Facultad de Ciencias Odontológicas y Salud Pública, UNICACH. Para su conocimiento.
Dr. Juan Carlos Nájera Ortiz, Coordinador de Posgrado, FCOySP, UNICACH. Para su conocimiento.
*AESR/igp/rags/gtr Expediente



Libramiento Norte Poniente No. 1150, Colonia Lajas Maciel
CP 29039, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas
Tel: (961)6170440 Ext. 4360
investigacionyposgrado@unicach.mx

GLOSARIO Y ABREVIATURAS

BFS: Siglas de Buffer Fosfato Salino.

CMIA: Siglas de Inmunoanálisis Quimioluminiscente por Microparticulas.

DGE: Siglas de la Dirección General de Epidemiología.

Especificidad: Capacidad para detectar a los sanos.

Estadístico Kappa: Es un coeficiente estadístico que se emplea para cuantificar el grado de acuerdo entre los observadores, corrige el factor azar. Es el estudio de fiabilidad por equivalencia o concordancia entre observadores.

Exacerbación: Aumento de la gravedad de una enfermedad.

Falsos Negativos (FN): Es un error por el cual al realizar una exploración física o una prueba complementaria (un análisis de sangre, etc.) su resultado es normal o no detecta la alteración, cuando en realidad hay una enfermedad en el paciente.

Falsos Positivos (FP): Es un error por el cual al realizar una prueba complementaria (un análisis de sangre, etc.) su resultado indica una enfermedad, cuando en realidad no la hay.

FITC: Siglas de Isotiocianato de Fluoresceína.

Incidencia (I): Es el número de casos nuevos personas confirmadas de una enfermedad durante un periodo de tiempo, dividido por la población total.

LESP: Siglas de Laboratorio Estatal de Salud Pública.

Porcentaje de Acuerdo:

Prevalencia: Es el número total personas que presentan síntomas o padecen una enfermedad durante un periodo de tiempo, dividido por la población con posibilidad de llegar a padecer dicha enfermedad.

RPM: Siglas de Revoluciones por Minuto.

Sensibilidad: Capacidad del test para detectar la enfermedad.

Valor Predictivo Negativo (VPN): Es la probabilidad de que un sujeto con un resultado negativo en la prueba esté realmente sano.

Valor Predictivo Positivo (VPP): Es la probabilidad de padecer la enfermedad si se obtiene un resultado positivo en el test.

RESUMEN

La enfermedad de Chagas es ocasionada por la infección del parásito *Trypanosoma cruzi*, transmitido por vía vectorial, transfusión sanguínea, transplacentaria, por trasplantes y oral; es curable en la fase aguda pero puede llegar a ser incurable en fase indeterminada o crónica. En México, y específicamente en el Estado de Chiapas, a todos los donantes de sangre se tamizan serológicamente contra ésta infección y cuando resultan reactivos se envían a confirmación para establecer un seguimiento epidemiológico. El objetivo fue determinar el riesgo residual de transmisión y evaluar la prueba de tamizaje para Chagas. En este trabajo de investigación se analizaron a un total de 113,587 donantes de sangre (649 reactivos a Chagas) correspondientes a 4 años (2012-2015) atendidos en el Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea, donde 90.6% fueron hombres y 9.4% mujeres. El 30.2% de los casos reactivos fue población joven de 23 a 27 años de edad, el 77.8% fueron donadores de primera vez, la prevalencia de la enfermedad fue de 0.28 (IC; 0.25-0.31), la incidencia resultó de 23.24 casos por cada 10,000 donadores. El riesgo residual de transmisión de la enfermedad fue de 16% en función al número de transfusiones (Cerisola, 1972), 0.84 unidades por cada 100 donaciones ó 5.94 por cada 10,000 donaciones (Cerisola, 1982) y 1 unidad (0.28%) por cada 354 transfusiones (probabilidad de infección). La prueba de tamizaje BIOFLASH (quimioluminiscencia) resultó con una sensibilidad de 25%, una especificidad de 100%, un VPP de 100%, un VPN de 13% y un valor Kappa de 0.1 (acuerdo insignificante) al ser evaluada contra IFIFLUOR (inmunofluorescencia indirecta). A mayor captación de donantes, mayor es la identificación de casos de Chagas en Chiapas, especialmente en población joven que es la que mayormente dona sangre.

Palabras claves: Chagas, donadores de sangre, riesgo residual, sensibilidad, especificidad, kappa

SUMMARY

Chagas disease is caused by infection with the Trypanosoma cruzi parasite, transmitted by vector, blood transfusion, transplantation and oral; it is curable in the acute phase but can become incurable in the indeterminate or chronic phase. In Mexico, and specifically in the State of Chiapas, all blood donors are serologically screened against this infection and when they are reactive they are sent for confirmation to establish epidemiological follow-up. The objective was to determine the residual risk of transmission and to evaluate the screening test for Chagas. In this research work, a total of 113,587 blood donors (649 reactive to Chagas) corresponding to 4 years (2012-2015) attended at the State Center for Blood Transfusion were analyzed, where 90.6% were men and 9.4% women. 30.2% of the reactive cases were young population between 23 and 27 years of age, 77.8% were first-time donors, the prevalence of the disease was 0.28 (CI; 0.25-0.31), the incidence was 23.24 cases per every 10,000 donors. The residual risk of disease transmission was 16% depending on the number of transfusions (Cerisola, 1972), 0.84 units per 100 donations or 5.94 per 10,000 donations (Cerisola, 1982) and 1 unit (0.28%) for every 354 transfusions (probability of infection). The BIOFLASH (chemiluminescence) screening test resulted in a sensitivity of 25%, a specificity of 100%, a PPV of 100%, a NPV of 13% and a Kappa value of 0.1 (negligible agreement) when evaluated against IFIFLUOR (immunofluorescence hint). The greater the recruitment of donors, the greater the identification of Chagas cases in Chiapas, especially in the young population, which is the one that mostly donates blood.

Keywords: Chagas disease, blood donors, residual risk, sensitivity, specificity, kappa

DEDICACIÓN

DEDICO ÉSTA TESIS A MI ESPOSA, MI HIJO Y MIS PADRES:

Por el apoyo constante que fue fundamental, han estado conmigo incluso en los momentos más turbulentos. Gracias Erika por la fuerza, el sentirte orgullosa de mi y mis proyectos, a ti Jaziel por el honor de convertirme en padre, a ustedes, Mamá y Papá, por la confianza que depositaron desde el inicio de mi carrera profesional, por formarme con reglas y con algunas libertades, pero al final de cuentas, me motivaron constantemente para alcanzar mis anhelos, por alegrarse con mis triunfos y apoyarme en los momentos de necesidad de mi vida.

Éste logro es para ti:

*Erika Patricia,
Martín Jaziel,
Mamá,
Papá y
Carlos Daniel;*

Los amo

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Juan Carlos Nájera Ortiz, mi agradecimiento muy especial por guiarme en todo momento en el diseño, realización, análisis, informe y presentación de ésta tesis; y por ser mi director tanto profesional como personalmente.

A la Dra. Rosa Margarita Durán García, al Dr. Roberto Elías Capote Mir (en paz descanse) y al Dr. Fernando Ruiz Balbuena; mi agradecimiento también muy especial por ser mis maestros y enseñarme no solo durante mi formación en el posgrado sino también por los consejos para enfrentarme en la vida y defender mis ideas y/o conocimientos ante cualquier situación o instancia que se presente.

Al Dr. Julio Cesar Vera Vázquez, le agradezco infinitamente el apoyo y el acceso que me brindó al permitirme realizar el trabajo de campo en el banco de sangre Domingo Chanona Rodríguez de Tuxtla Gutiérrez; del Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea de Chiapas.

A todos mis demás maestros, por contribuir cada uno en su área de especialidad durante mi formación y a mis compañeros y amigos del doctorado por la conciencia y oportunidad de compartir éste camino que se volvió un logro en nuestras vidas.

Finalmente a todos mis compañeros de trabajo que indudablemente fueron participe del procesamiento de las muestras y registro de información fidedigna que sin duda alguna fueron factores importantes en la realización, análisis y conclusiones de ésta investigación, adscritos a las áreas de hemovigilancia, serología infecciosa y fraccionamiento de éste mismo establecimiento.

PREFACIO

El trabajo que se presenta, es el resultado del esfuerzo de un grupo de químicos y administrativos, que se encuentran involucrados en el procesamiento y confirmación de muestras reactivas; así mismo representa el manejo de información confidencial de un establecimiento público que atiende a poblaciones presuntamente sanas, que al ser identificados como portadores de una enfermedad activa o que la presentó en algún momento, genera un grado de discriminación; no solo familiar, sino ante la sociedad misma, por lo que es de suma importancia garantizar la confiabilidad de los resultados y la confirmación de los mismos.

El estudio se desarrolló en el Banco de Sangre Dr. Domingo Chanona Rodríguez del Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea del Estado de Chiapas, México; y consta de siete capítulos además de anexos y tablas derivados del mismo. El capítulo uno se refiere al planteamiento del problema y la importancia del trabajo de investigación, en el capítulo dos se plasma una información basta sobre la enfermedad de Chagas y el agente causal, las diferentes tecnologías que se utilizan en el diagnóstico de ésta enfermedad infecciosa, principalmente la quimioluminiscencia e inmunofluorescencia, aspectos importantes sobre banco de sangre y seguridad transfusional, así como la evaluación de pruebas diagnósticas. El capítulo tres son los objetivos generales y específicos a alcanzar, el capítulo cuatro es la metodología utilizada que permitieron el logro de los objetivos, el capítulo cinco son los resultados sobre la epidemiología de la enfermedad de Chagas en donantes de sangre en función al sexo, grupo de edad, tipo de donador, el riesgo residual de transmisión de acuerdo a tres maneras para determinar y su análisis, así como la evaluación de las dos pruebas de diagnósticas abordadas en éste trabajo (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, estadístico kappa) clasificados en tablas para su análisis. Finalmente los capítulos seis y siete corresponden a las discusiones, conclusiones y recomendaciones que se generaron del análisis de los resultados, donde se expone la importancia del estudio realizado y sobre todo de los hallazgos encontrados.

CONTENIDO

GLOSARIO Y ABREVIATURAS.....	2
RESÚMEN.....	3
DEDICACIÓN.....	5
AGRADECIMIENTOS.....	6
PREFACIO.....	7
CONTENIDO.....	8
LISTA DE TABLAS.....	11
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....	12
1.1. Planteamiento del problema justificación.....	13
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO.....	17
2.1. Agente etiológico y enfermedad.....	18
2.1.1. Clasificación taxonómica de <i>Trypanosoma cruzi</i>	18
2.1.2. Ciclo biológico y genoma.....	21
2.1.3. Enfermedad de Chagas.....	23
2.1.3.1. Fase aguda.....	23
2.1.3.2. Fase indeterminada.....	25
2.1.3.3. Fase crónica.....	25
2.1.3.4. Fase cardiaca.....	25
2.1.3.5. Fase digestiva.....	27
2.1.4. Epidemiología.....	28
2.1.5. Vías de transmisión.....	31
2.1.5.1. Vectorial.....	31
2.1.5.2. Transfusional.....	32
2.1.5.3. Trans-placentaria.....	32
2.1.5.4. Por trasplantes.....	33
2.1.5.5. Transmisión oral.....	33
2.1.6. Diagnóstico.....	34

2.1.6.1. Métodos directos parasitológicos.....	34
2.1.6.2. Métodos indirectos parasitológicos.....	35
2.1.6.3. Métodos serológicos.....	36
2.1.6.4. Métodos moleculares.....	36
2.2. Banco de sangre y seguridad transfusional.....	39
2.2.1. Selección de donantes.....	40
2.2.2. Procesamiento de muestras y unidades sanguíneas.....	40
2.2.3. Hemovigilancia.....	41
2.2.4. Riesgo residual de transmisión.....	41
2.3. Evaluación de pruebas diagnósticas.....	42
CAPÍTULO 3. OBJETIVOS.....	44
3.1. Objetivo general.....	45
3.2. Objetivos específicos.....	45
CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	46
4.1. Población de estudio.....	47
4.1.1. Criterios de inclusión.....	48
4.1.2. Criterios de exclusión.....	48
4.2. Variables de estudio.....	48
4.2.1. Definición conceptual y operacional de variables.....	49
4.3. Recolección y procesamiento de muestras para Chagas Bioflash.....	50
4.3.1. Interpretación de resultados.....	51
4.4. Confirmación de muestras reactivas mediante IFIFLUOR CHAGATEST WIENER.....	52
4.5. Fuente de datos e instrumentos de recolección.....	55
4.6. Control de calidad.....	55
4.7. Aspectos éticos del trabajo de investigación.....	56
4.8. Análisis de datos.....	57
CAPÍTULO 5. RESULTADOS.....	60

5.1. Caracterización epidemiológica de la enfermedad de Chagas en donantes de sangre de Chiapas.....	61
5.2. Estimación del riesgo residual de transmisión de Chagas en Chiapas.....	64
5.3. Evaluación de la prueba diagnóstica <i>BIOFLASH Chagas</i>	66
CAPÍTULO 6. DISCUSIONES.....	68
CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	77
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
ANEXOS.....	93
Anexo 1. Formato de confidencialidad de la información CETS Chiapas.....	93
Anexo 2. Dictamen del Comité de ética en Investigación del CETS Chiapas....	94
Anexo 3. Autorización para ejecución del jefe del CETS Chiapas.....	95
CURRICULUM VITAE DEL AUTOR.....	96

Lista de tablas

Tabla 1. Distribución de casos de *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre por sexo, grupo de edad y tipo del donador del CETS, Chiapas, periodo 2012-2015

Tabla 2. Frecuencia, prevalencia e incidencia de *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre del CETS, Chiapas, periodo 2012-2015

Tabla 3. Distribución de casos de *Trypanosoma cruzi* según variables socioeconómicas en donadores de sangre del CETS, Chiapas, 2015

Tabla 4. Riesgo residual de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre del CETS, Chiapas, periodo 2012-2015

Tabla 5. Análisis y evaluación de la prueba *BioFlash Chagas Biokit* (QLM) frente a *IFIFLUOR Chagatest de Wiener* (IFI) en el CETS Chiapas, 2015

Tabla 6. Comparación entre la prueba de tamizaje *BioFlash Chagas Biokit* y la confirmatoria *IFIFLUOR Chagatest de Wiener*, en el CETS Chiapas, 2015

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del problema y justificación

La enfermedad de Chagas, también llamada tripanosomiasis americana, es una enfermedad potencialmente mortal causada por el parásito protozoo *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), se calcula que en el mundo hay entre 6 y 7 millones de personas infectadas y con riesgo de infección de unos 110 millones en 21 países endémicos de Latinoamérica. Su importancia radica en su elevada prevalencia, su incurabilidad, las grandes pérdidas económicas por incapacidad laboral, y la muerte repentina de personas aparentemente sanas. Se contempla dentro de la lista de las principales "enfermedades desatendidas" (OMS, 2017, Salazar-Schettino et al., 2016).

La problemática actual para ésta enfermedad es prevenir la transmisión mediante la transfusión sanguínea y el trasplante de órganos, problema que afecta a la población. Las consecuencias de transfundir una unidad de sangre falsamente negativa, es muy alta y grave; ya que a pesar que se tamiza con tecnología moderna (quimioluminiscencia y/o ELISA), el periodo de ventana radica entre 7 y 15 días, pero los donantes de sangre que pudieran estar infectados acuden en fase crónica donde los parásitos se encuentran enquistados en células musculares y el sistema inmunológico no los identifica y por consecuencia los niveles de anticuerpos son bajos o nulos.

El uso indiscriminado y deficiente solicitud de los productos sanguíneos, tanto en los países donde el mal de Chagas es endémico como en aquellos donde no lo es; la implicación de la transfusión sanguínea como riesgo de adquirir la enfermedad, se ha estudiado en diversos países de América Latina, variando los resultados entre el 2.1% y 46.7% (Rohwdder, 2000), del mismo modo existe una falta de cultura y cumplimiento de leyes y/o normas para promover la identificación y evaluación de las pruebas diagnósticas más adecuadas para aumentar el tamizaje y el diagnóstico de la infección. El riesgo de transmisión fluctúa entre 5.6% y 68.3%, dependiendo del número de transfusiones recibidas, que normalmente se calcula de 1 a 20 por paciente (Cerisola, 1972). En México, mucho menos en el estado de Chiapas, no existen reportes, ni oficiales ni extraoficiales, de una transmisión de Chagas por transfusión; solamente un

estudio realizado en los años '80s describió un caso, sin embargo en países como Argentina, Colombia y Brasil el sistema de hemovigilancia ha identificado casos por ésta vía.

En México, datos publicados indican una prevalencia que van desde 1.4 hasta 32%, correspondiente a 1.1 millones las personas infectadas, de acuerdo a las cifras oficiales de la Organización Mundial de la Salud (OMS), aunque existen otras estimaciones que van de 1 a 6 millones (Hotez et al., 2013). Ésta variación depende del tipo de población evaluada, métodos de laboratorio utilizados y la región del país en que se realizó el estudio (Sánchez B., et al; 2001).

La infección con *T. cruzi* casi se encuentra en la totalidad del país, también existe la presencia de varias especies de *Leishmania* y otros parásitos antigénicamente similares que favorecen las reacciones cruzadas y difícil identificación con pruebas de laboratorio convencionales. Sin embargo las pruebas que se utilizan en los bancos de sangre, como auxiliar en la identificación de donadores infectados, son las mismas que se utilizan a población abierta o los laboratorio clínicos comunes, ya que se carece de una prueba única de avanzada tecnología que permita identificar y diferenciar dicha enfermedad de otras similares serológicamente.

En la República Mexicana son pocos los estudios que se han realizado al respecto (Goldsmith et al, 2008), quizá por esto solamente se sabe de un caso de enfermedad de Chagas postransfusional (Salazar y Col, 1998). En el caso de Chiapas la seroprevalencia es de 19%, el cual es aceptable toda vez que un estudio comparable en cuatro zonas geográficas del estado (Mazariegos et al, 2001) y otro más en una comunidad rural indígena (Capps y Begoña, 2004) además de la información presentada en el V Foro para la Seguridad en Banco de Sangre, indicaron que la seroprevalencia en Chiapas oscila entre 3 y 28%.

En el Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea y Banco de Sangre Dr. Domingo Chanona Rodríguez del Estado de Chiapas (CETS-BSDDCR), en los últimos 5 años se

han captado anualmente 8532, 14543, 18215, 29806 y 31706 unidades de sangre (2010-2014 respectivamente). En dichas unidades se han identificado 26 (0.30%), 53 (0.36%), 143 (0.79%), 153 (0.51%) y 170 (0.54%) donadores reactivos a *T. cruzi* en el periodo mencionado. (*Informes de ingreso y egresos de sangre y hemocomponentes, CETS; 2010-2014*).

Desde el 2010, en el CETS-BSDDCR se utiliza la prueba de *ELISA* (*enzyme-linked immunosorbent assay* o ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas; por sus siglas en inglés) para detectar anticuerpos de la clase IgG anti-*T. cruzi*, la que emplea como antígenos un extracto citoplasmático y de la membrana de *T. cruzi*.

La confirmación de infección por *T. cruzi* debe apegarse al criterio de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 1990, que establece la reactividad mediante dos técnicas distintas, el apartado 9.4.14 de la NOM-253-SSA1-2012, establece además que se debe usar una prueba con una sensibilidad y especificidad mayor o igual a 95%, las cuales pueden ser *ELISA*, aglutinación directa, tira reactiva u otras; para la confirmación se deberá utilizar una prueba de detección de anticuerpos que contenga un formato distinto a la prueba empleada en el tamizaje y que tenga una especificidad superior.

La importancia de éste trabajo de investigación radica en los siguientes puntos:

- 1) En México y desde luego en Chiapas se carece información sobre los riesgos de transmisión de agentes infecciosos por transfusión sanguínea, especialmente Chagas, que es una enfermedad endémica, y además existen registros múltiples transfusiones que oscilan entre 1 a más de 20 unidades en algunos casos.
- 2) Realizar hallazgos de importancia en la transmisión de enfermedades, toda vez que se pueden encontrar portadores del parásito no detectables por serología.
- 3) Generar información valiosa que permita a la comunidad médica utilizar transfusiones de hemocomponentes con racionalidad y/o suma necesidad para disminuir riesgos residuales de transmisión de enfermedades.

- 4) El CETS-BSDDCR fue el primer establecimiento del Instituto de Salud en el Estado en obtener un Certificado ISO 9001; por lo que a tres años debe contar métodos validados para buscar la acreditación técnica, especialmente de los agentes infecciosos que se pueden transmitir.

El riesgo de recibir una unidad infectada con *T. cruzi* se incrementa en proporción a la prevalencia de la infección en los donantes de sangre. Se ha estimado que el riesgo de infección después de una transfusión con una unidad infectada varía del 14 al 49% (Wendwel S., 1995). Este riesgo depende del estado inmunológico del receptor, del número de unidades de productos sanguíneos infectados transfundidos, de la concentración del parásito en la unidad transfundida y de la cepa del parásito.

Estimar el riesgo de transmisión de infecciones por vía transfusional resulta de gran utilidad para monitorear la seguridad de las transfusiones sanguíneas y para proveer información que facilite la decisión médica para que un paciente reciba una transfusión alogénica o para utilizar otras medidas terapéuticas. Por último, la seguridad de la transfusión dependerá de lo acertada que sea la indicación del producto sanguíneo que se prescriba y así disminuir al máximo el riesgo residual de transmisión, no solo para Chagas si no para diversos agentes infecciosos que se transmiten por transfusión.

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1. Agente etiológico y enfermedad

T. cruzi, agente causal de la enfermedad de Chagas, es un parásito complejo que incluye una amplia población de aislados con variabilidad a nivel biológico, bioquímico y genético. La heterogeneidad del parásito ha sido ampliamente estudiada, dando lugar a la agrupación de los diferentes aislados de *T. cruzi* en seis unidades discretas de tipificación; DTU I-VI (por su siglas en inglés *Dyscrete Typing Unit*) (Zingales et al., 2009).

T. cruzi es un parásito protozoo descrito por primera vez por Carlos Chagas en 1909, perteneciente al phylum Euglenozoa, orden Kinetoplastida, familia Trypanosomatidae, género *Trypanosoma*, sección Stercoraria y subgénero Schizotrypanum. Este parásito presenta tres formas morfológicas principales durante su ciclo de vida; 1) los tripomastigotes presentes en el torrente sanguíneo del hospedero mamífero y los tripomastigotes metacíclicos en la ampolla rectal del insecto vector, 2) los amastigotes que se multiplican intracelularmente en las células del hospedero y 3) los epimastigotes que se encuentran en el tubo digestivo del insecto vector con capacidad de replicación celular. Las diferentes formas de *T. cruzi* se diferencian entre sí por la posición del cinetoplasto en relación al núcleo y por la presencia o ausencia de la membrana ondulante y flagelo (Miles et al., 1999).

2.1.1. Clasificación taxonómica

T. cruzi es un parásito protozoo flagelado, que se clasifica de la siguiente manera:

- Reino: *protista* (Goldfuss, 1818; Owen, 1858)
- Phylum: *Euglenozoa* (Cavalier-Smith, 1981)
- Clase: *Kinetoplastea* (Cavalier-Smith, 1981)
- Familia: Trypanosomatidae (Doflein, 1901)
- Género: *Trypanosoma* (Gruby, 1843)
- Subgénero: *Schizotrypanum* (Chagas, 1909)

- *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909)

T. cruzi es una especie heterogénea compuesta por una amplia población de cepas o aislados que circulan entre los hospederos mamíferos e insectos vectores. La heterogeneidad del parásito ha sido ampliamente estudiada por métodos biológicos, bioquímicos y moleculares.

Basados en las observaciones del comportamiento biológico y morfológico en algunos aislados de *T. cruzi* en modelos animales, se propuso la clasificación de estos en biotemas.

- a) Biotema I, constituido por aislados de rápido crecimiento *in vitro*, alta parasitemia y mortalidad en el modelo murino. Las formas infectivas tripomastigotas se caracterizan por ser delgadas, con extrema virulencia y tropismo por células del sistema fagocítico.
- b) Biotema II, constituido por formas infectivas gruesas mitóticas de baja virulencia, crecimiento lento *in vitro* y picos de parasitemias irregulares.
- c) Biotema III, poseen multiplicación lenta y picos de parasitemia retardados hasta de 20 a 30 días post-inoculación en los ratones y baja mortalidad hasta de 50 días post-infección. Las formas infectivas son morfológicamente gruesas y con tropismo por el músculo esquelético (Devera et al., 2003).

La caracterización bioquímica de *T. cruzi* por isoenzimas llevada a cabo inicialmente por Miles y colaboradores a finales de la década de los 70, permitió la clasificación del mismo en tres Zimodemas: Z1, Z2, Z3, de los cuales el Zimodema Z1 prevalece en los hábitats domésticos y selváticos en regiones del norte de la amazonia, los aislados Z2 están correlacionados con el ciclo de transmisión doméstica en los países del cono sur, mientras que los del Z3 están asociados al ciclo de transmisión silvestre en la región amazónica (Miles et al., 1977, 1980; Tibayrenc et al., 1986; Gaunt y Miles, 2000).

Métodos moleculares como electroforesis de enzimas multialélicas (MLEE) y análisis por amplificación al azar de ADN polimórfico (RAPD, siglas en inglés de *Random Amplified Polymorphic DNA*) permitieron la agrupación de aislados de *T. cruzi* en los linajes 1 y 2 (Tibayrenc et al., 1993, 1995; Barnabé et al., 2000), los cuales agrupa en el linaje 1 a el zimodema Z1, en tanto que en el 2 los zimodemas Z2 y Z3.

Paralelamente, Souto et al. (1996), estudiando las secuencias del gen 24S α ARNr y del gen miniexón del parásito, propusieron una clasificación similar en linajes 1 y 2, con una asociación diferente a los zimodemas Z2 y Z1, respectivamente.

Estudios realizados mediante genotipificación por análisis de multilocus revelaron seis unidades discretas de tipificación "DTU" divididas en dos grandes subdivisiones DTU I y II (Tibayrenc, 1998; Satellite Meeting, 1999).

Estudios realizados por Brisse et al. (2000) mediante MEEL y RAPD determinan que la DTU II era más heterogénea que la DTU I, la cual fue subdividida en 5 subgrupos designados desde IIa a IIe, en donde el zimodema Z3 se relaciona con los subgrupos IIa y IIc.

Recientemente, en la segunda reunión de expertos en la enfermedad de Chagas realizada en Buzios, Brasil en Agosto de 2009, la nueva nomenclatura de *T. cruzi* corresponde a seis DTU conservando el linaje Tc I la antigua nomenclatura *T. cruzi* I, mientras *T. cruzi* II corresponde al anteriormente denominado Tc IIb, *T. cruzi* III a Tc IIc, *T. cruzi* IV a Tc IIa, *T. cruzi* V a Tc IIe y *T. cruzi* VI a Tc IIe (Zingales et al., 2009).

En México los estudios de caracterización de cepas de *T. cruzi* mediante métodos moleculares como el RAPD han mostrado que las cepas aisladas tanto en el ciclo selvático, peridoméstico y doméstico son del genotipo Tc I (Gómez et al., 2011). Además se han reportado diferencias en el comportamiento biológico de las cepas pertenecientes a una misma región, tanto en las manifestaciones clínicas como en las infecciones experimentales (Barrera-Pérez et al., 2001).

Por otra parte, con el fin de explicar la variabilidad genética de las poblaciones de *T. cruzi* se han propuesto dos teorías, la primera basada en la evolución clonal del parásito, en donde cada aislado está conformada por un número finito de clones y los cuales van seleccionando dependiendo de la especie del hospedero mamífero y la especie de insecto vector involucrado en la transmisión, proliferando aquellos clones que mejor se adapten (Tibayrenc et al., 1986). La segunda teoría se basa en la existencia de posibles eventos de intercambio genético entre los aislados de *T. cruzi* y clones, constituyendo así una población heterogénea del parásito (Sturm y Campell, 2009). De esta forma las DTU III-VI correspondían a híbridos resultantes de varios eventos superpuestos de intercambio genético (Tibayrenc et al., 2002; Westenberger et al., 2005; Subileau et al., 2009; lenne et al., 2010), en donde se sugiere que las DTU parentales *T. cruzi* I y *T. cruzi* II dieron lugar a *T. cruzi* III y *T. cruzi* IV y el intercambio adicional entre *T. cruzi* II y III originó las DTU *T. cruzi* V y *T. cruzi* VI. Así, mientras *T. cruzi* I solo participó en el primer evento de hibridación, *T. cruzi* II ha participado en eventos más recientes.

2.1.2.Ciclo biológico y genoma

T. cruzi es transmitido al hombre a través de las heces de insectos hematófagos infectados de la familia Reduviidae, subfamilia Triatominae. Estos insectos vectores colonizan las grietas de las paredes de las viviendas construidas principalmente con bahareque (lodo con paja), y emergen durante la noche para alimentarse de la sangre de los habitantes de las mismas. Las formas epimastigotas flageladas se multiplican en el tracto digestivo del intestino, con posterior diferenciación en la forma infectiva, el tripomastigote metaciclístico, el cual es depositado con las heces en el momento de la picadura del triatomo vector. Estas formas metaciclísticas tienen la capacidad de internarse *in vivo* en las células del hospedero, dentro de las cuales se diferencian en su estadio no flagelado, el amastigote. Las formas intracelulares amastigotas, tras varias rondas de replicación se diferencian en tripomastigotes, los cuales son liberados al torrente sanguíneo por ruptura de la célula infectada. El ciclo de *T. cruzi* se completa

cuando el insecto vector ingiere durante su comida las formas tripomastigotas sanguíneas y estas se diferencian dentro del mismo en epimastigotes (Tanowitz et al., 2009; Rassi et al., 2010).

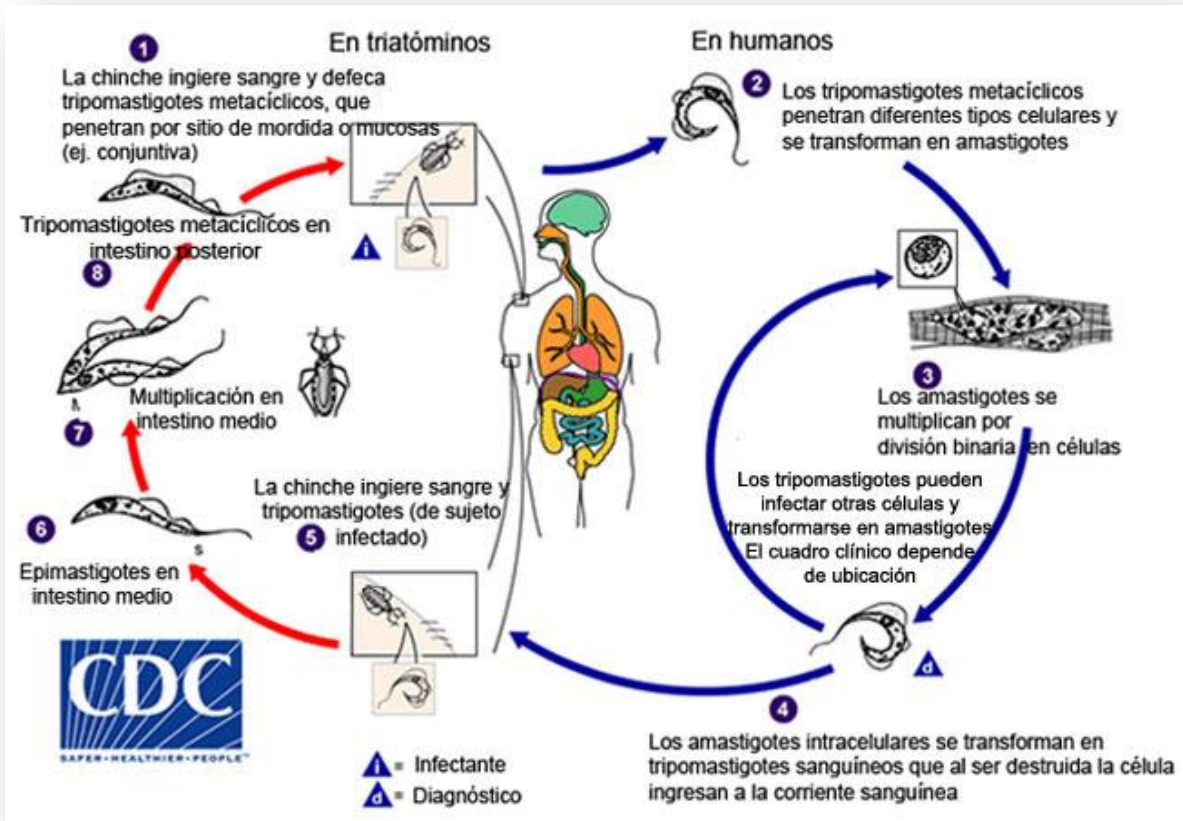


Imagen 1. Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi* en triatóminos (chinchas besuconas) y en el humano. Fuente: CDC modificado.

A partir de la información obtenida del proyecto genoma de *T. cruzi*, donde se usó el aislado CL-Brener (*T. cruzi* VI), se estableció que el tamaño de su genoma estaba entre 106,4 y 110,7 Mb con un número estimado de 22,570 genes codificantes. Al menos el 50% del genoma del parásito está constituido por secuencias repetidas, tales como familias de genes codificantes para proteínas de superficie tales como las asociadas a mucinas (MASP), trans-sialidas (Ts), mucinas y la glicoproteína de Superficie GP63. Entre otras repeticiones se encuentran las subteloméricas, el elemento repetido SIRE, el ADN satélite de 195 pb y los retrotransposones VIPER (*vestigial interposed*

retroelement), CZAR, L1Tc, NARTc y DIRE (EL-Sayed et al., 2005; Thomas et al., 2010).

Los genes de *T. cruzi* se encuentran en grupos o familias arreglados en tándem con secuencias intergénicas y sin intrones. Sin embargo también encuentran genes de única copia arreglados en tándem junto a genes diferentes, cada uno flanqueado por secuencias únicas (Arner et al., 2007).

2.1.3. Enfermedad de Chagas

En la enfermedad de Chagas, actualmente incluida dentro de las 13 enfermedades tropicales más desatendidas de América Latina, se evidencian tres fases importantes: aguda, indeterminada y crónica (Hotez et al., 2009).

2.1.3.1. Fase aguda

En ésta etapa se presenta malestar general con variedad de manifestaciones clínicas que se pueden manifestar de 1 a 2 semanas después del contacto con insectos triatominos infectados o el consumo de alimentos contaminados con el parásito o a pocos meses después de la transfusión con sangre infectada o trasplante de órganos. En la transmisión congénita, el recién nacido puede ser asintomático y desarrollar la enfermedad en las siguientes semanas. En los pacientes chagásicos trasplantados se puede dar una reactivación de la enfermedad con un cuadro agudo entre los primeros meses a 1 año post-trasplante (OMS, 2002; Bacal et al., 2010; Rassi et al., 2010).

Los síntomas son por lo general moderados y atípicos, como son fiebre, hepatoesplenomegalia, edema generalizado y se pueden observar algunos signos característicos como una lesión inflamatoria en el sitio de entrada conocida como chagoma y lifadenopatía a nivel local o a nivel de la conjuntiva conocido como el signo de Romaña. Con menos frecuencia se pueden presentar náusea, vómito, diarrea, anorexia y exantema generalizado. Finalmente, la muerte puede sobrevenir en el 5-10%

de los casos, generalmente niños, alrededor de la cuarta a sexta semana por complicaciones asociadas a la miocarditis o meningoencefalitis o la enfermedad puede evolucionar a un estado crónico (Brener, 1994; OMS, 2002; Tanowitz et al., 2009).

Los parásitos en la fase aguda se replican asincrónicamente dentro de las células del sistema reticuloendotelial, destruyéndolas y reinfectando nuevas células. Posteriormente, los parásitos se replican intracelularmente en formas amastigotas, para luego diseminarse por vía sanguínea como formas tripomastigotas, alcanzando el pico de parasitemia alrededor del décimo día después de la infección (Tanowitz et al., 2009; Rassi et al., 2010).

La enfermedad en la fase aguda es tan solo reconocida en el 1 al 2% de los pacientes debido a los síntomas inespecíficos presentes. Aunque se puede desarrollar en cualquier edad, en las áreas endémicas se ha visto que los niños menores de diez años son los más propensos a padecerla, presentándose la sintomatología más severa en niños menores de dos años, los cuales pueden desarrollar miocarditis o meningoencefalitis que puede ser en muchos casos fatal (Tanowitz et al., 1992; OMS, 2002).



Imagen 2. Signo temprano de Romaña

Autoras: Dra. Paz Ma. Salazar Schettino y Dra. Martha Bucio Torres

Facultad de Medicina, UNAM

2.1.3.2. Fase indeterminada

Una vez establecida la infección por *T. cruzi*, esta puede durar toda la vida del individuo. La mayoría de personas infectadas no desarrollan síntomas de la enfermedad, encontrándose así en la etapa indeterminada o crónica asintomática (OMS, 2002; Tanowitz et al., 2009).

Durante esta fase, las personas se sienten saludables y por lo general presentan tanto radiografías de tórax como electrocardiogramas normales. Sin embargo, las pruebas serológicas permanecen positivas y pueden ser identificados cuando los individuos asisten a un centro de donación de sangre. Adicionalmente, los individuos ignoran la infección que padecen durante esta fase, constituyendo así un reservorio importante de la infección y contribuyendo a mantener el ciclo de vida del parásito (OMS, 2002).

2.1.3.3. Fase crónica

Alrededor de la cuarta etapa de la vida, del 10-30% de las personas crónicamente infectadas, comienzan a dar manifestaciones clínicas relacionadas a patologías del corazón, esófago, colon o la combinación de éstas; por lo cual se han agrupado en tres afecciones principales: cardíaca, digestiva y cardiodigestiva (Tanowitz et al., 2009; Rassi et al., 2010).

2.1.3.4. Fase cardíaca

La forma cardíaca es la más importante en la enfermedad de Chagas (Moncayo et al., 2003). Esta forma presenta un amplio espectro de manifestaciones clínicas desde arritmias leves hasta falla cardíaca y muerte súbita. La inflamación con acompañamiento de fibrosis en el miocardio resulta en lesiones severas del corazón. A medida que la lesión miocárdica avanza compromete ambos ventrículos con predominio de insuficiencia del ventrículo derecho. Posteriormente, se dilata el corazón y se altera la función de conductividad por insuficiencia de la válvula mitral y tricúspide. Como otras

consecuencias del agrandamiento del corazón, a menudo se generan trombos los cuales son la fuente principal de embolias pulmonares y embolias en otros órganos, principalmente cerebro, bazo y riñón, y otras complicaciones como son edema general y hepatomegalia congestiva (OMS, 2002; Rosas et al., 2005). Los pacientes que progresan a insuficiencia cardiaca pueden requerir trasplante de corazón (Bochi et al., 2001; Gómez et al., 2007).



Imagen 3. [Extrasístole ventricular polifocal](#)

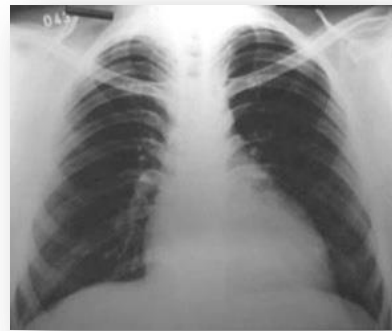


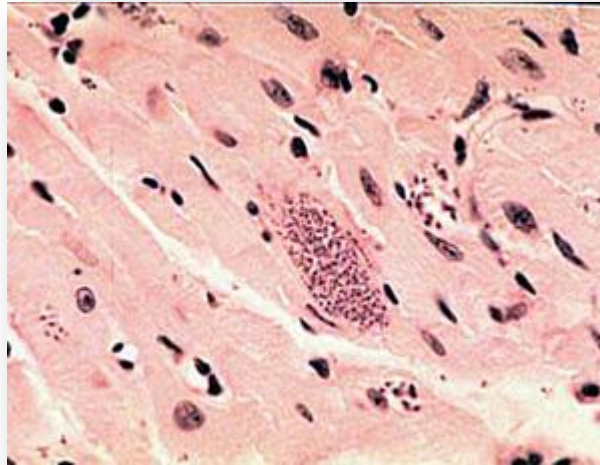
Imagen 4. [Radiografía torácica](#)

(Enfermedad avanzada de Chagas) Fuente: WHO/TDR/Crump

Después de un trasplante de corazón, los pacientes chagásicos corren alto riesgo de presentar reactivación temprana de la infección debido a las condiciones de inmunosupresión a que se ven sometidos para tal procedimiento (Almeida et al., 1996; Phan et al., 2006; Bacal et al., 2010), de manera que es de gran importancia disponer de un método óptimo de seguimiento que permita detectar oportunamente una posible reactivación en los pacientes e iniciar el tratamiento antiparasitario (Urinovsky et al., 2003).

Basados en la severidad de las afecciones cardiacas medidas por diferentes ayudas diagnósticas, como el electrocardiograma que permite detectar las lesiones o alteración en el miocardio y la radiografía de tórax, los pacientes chagásicos han sido clasificados en diferentes grados de acuerdo al grado severidad de la enfermedad (Kuschnir et al., 1985):

- a) Grupo 0 (G0): Incluye individuos seropositivos con hallazgos normales en el electrocardiograma y radiografía de tórax.
- b) Grupo 1 (G1): Incluye individuos seropositivos con hallazgos normales en la radiografía de tórax pero hallazgos anormales en los electrocardiogramas.
- c) Grupo 2 (G2): Incluye individuos seropositivos con hallazgos anormales en los electrocardiogramas y cardiomegalia en la radiografía de tórax.
- d) Grupo 3 (G3): Incluye individuos seropositivos con hallazgos anormales en los electrocardiogramas, cardiomegalia en la radiografía de tórax y evidencia clínica o radiológica de falla cardíaca.



[Imagen 5. Músculo cardíaco con nido de amastigotes](#)

[Fuente: WHO/TDR/ Stammers](#)

2.1.3.5. Fase digestiva

La forma digestiva se presenta con mayor frecuencia en los países del Cono Sur tales como Argentina, Brasil y Chile, probablemente por el tropismo de los aislados que circulan en estas regiones (Campell et al., 2004). Esta forma se presenta con la dilatación del esófago (Megaesófago) y del colon (Megacolon) desarrollándose entre el 10-15% de los individuos infectados. En estos síndromes se presenta un peristaltismo desordenado como resultado de la destrucción de los ganglios nerviosos ubicados dentro de las paredes viscerales (Tanowitz et al., 1992; Brener, 1994; OMS, 2002).



[Imagen 6. Megacolon chagásico](#)

[Fuente: WHO/TDR](#)

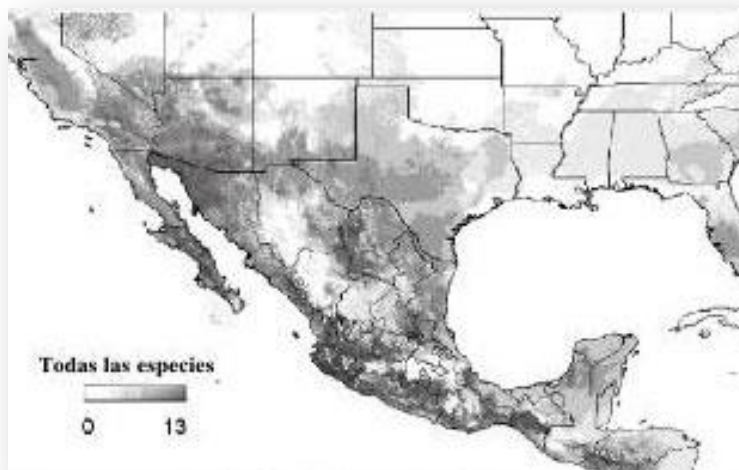
2.1.4. Epidemiología

La enfermedad de Chagas es un problema de salud pública en el continente americano, donde se estima que hay alrededor de 10 millones de individuos infectados (OMS, 2010). Durante mucho tiempo se consideró un padecimiento endémico de América, por ello fue llamado tripanosomiasis americana. Sin embargo, en los últimos años se ha demostrado la presencia de individuos infectados (principalmente migrantes americanos) en países de Europa, Asia y Australia.

Es una enfermedad crónica que afecta la salud y el bienestar de un gran número de seres humanos, además de ser una causa de mortalidad y morbilidad en América Latina, se estima que 16-18 millones de personas se encuentran infectadas y el 25% de la población de América Central y Sudamérica en riesgo de adquirir la enfermedad (Memorias Chagas, 2009).

En México, los datos publicados muestran seroprevalencias entre el 1.4-32%. La variación observada depende del tipo de población evaluada, los métodos utilizados y la región del país en que se realizó el estudio (Sánchez et al., 2001). Actualmente, se considera que en la República Mexicana existen 3 millones de personas infectadas y 10 millones que están en riesgo de contraer la infección (DGE, 1984-2006). Además de existir en nuestro país más de 32 especies de triatóminos, vectores pertenecientes a 7 géneros, las principales especies transmisoras son *T. logipennis*, *T. dimidiata*, *T. padillepenis*, *T. rubida*, *T. rhodnius* y *T. prolixus* (Mazzotti, 1936).

La seroprevalencia y la presencia de la enfermedad de Chagas dependen de un conjunto de factores, es decir, de la abundancia de triatóminos vectores, el grado de la infección natural, el tipo de vivienda, higiene, las condiciones ambientales y las necesidades de transfusiones de sangre en las diferentes poblaciones. Esta enfermedad a diferencia de otras afecciones parasitarias, se relaciona con el desarrollo socioeconómico del país y frecuentemente se asocia a enfermedades parasitarias. Se estima que existe un gran número de vectores potenciales del agente etiológico de la enfermedad de Chagas, de ahí la importancia de los estudios a realizar en cada región geográfica (Ortega et al., 1976).



[Imagen 7. Mapa de México que muestra la densidad de triatóminos](#)

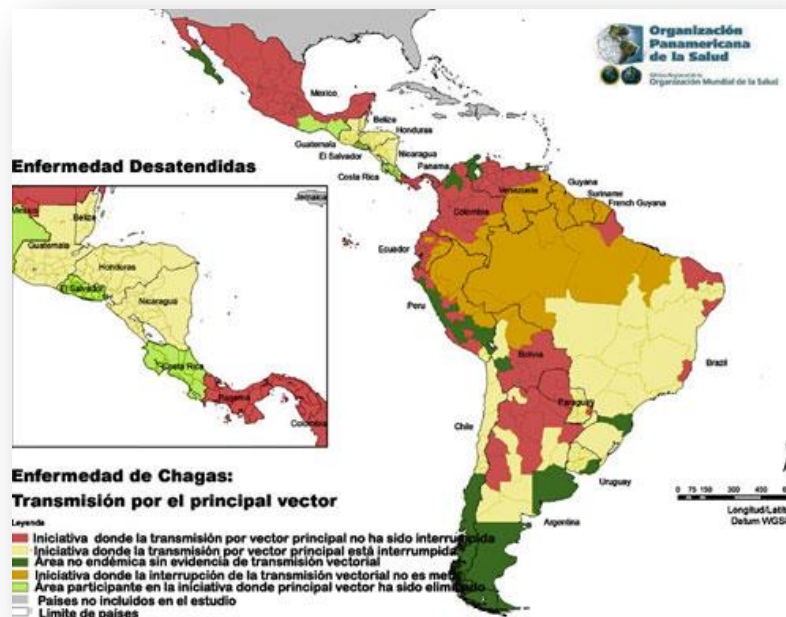
[Autor: Víctor Sánchez-Cordero, Instituto de Biología, UNAM](#)

[Gaceta UNAM, 31 de enero, 2011](#)



[Imagen 8. Distribución de la enfermedad de Chagas en América del Norte](#)

[Hotez PJ, et al., 2013](#)



[Imagen 9. Enfermedades desatendidas: Enfermedad de Chagas.](#)

[Transmisión por el principal vector. PAHO, 2014](#)

2.1.5. Vías de transmisión

2.1.5.1. Vectorial

Existen alrededor de 137 especies reportadas, agrupadas en 6 tribus y 17 géneros, de los cuales solo los géneros *Rhodnius*, *Triatoma* y *Panstrongylus* son los responsables de la transmisión vectorial de estos parásitos (Galvao et al., 2003). Las especies predominantes de vectores varían entre los diferentes países, es así como en Colombia y Venezuela, por ejemplo predomina el *Rhodnius prolixus* y *Triatoma dimidiata*, mientras que en Brasil, Argentina, Perú, Bolivia, Uruguay, Guatemala y Chile, predomina la especie *T. infestans* (Corredor et al., 1990; Molina et al., 2000).

Los vectores viven tanto en el ambiente extra como intradomiciliario del hombre; los más comunes son: *Triatoma infestans*, principal vector desde la línea ecuatorial hacia el Sur, y *Rhodnius prolixus* y *Triatoma dimidiata* al norte de la línea ecuatorial (Ibídem). En México se ha descrito a *Triatoma gerstaeckeri*, *T. neotomae*, *T. lecticularia*, *T. protracta*, *T. dimidiata*, *T. infestans*, *Dipetalogaster maximus* (Molina Garza et al, 2007, Guzmán et al, 1999, Jiménez y Palacios, 1999).

La mayoría de estos insectos se distribuyen en el área silvestre encontrándose asociados con una variedad de hospederos vertebrados, como son mamíferos que tienen hábitats aéreos y también algunas aves, y terrestres como los armadillos.

Además, se encuentran en áreas peridomésticas como las palmas, gallineros y corrales. En el caso de algunas especies como *R. prolixus* y *T. infestans* se han domiciliado en viviendas en donde encuentran condiciones apropiadas, tales como techo de palma y paredes de bahareque (Guhl, 1998; Schofield et al., 1999).

2.1.5.2. Transfusional

Esta es la segunda forma de transmisión de *T. cruzi* más importante. El parásito puede sobrevivir hasta dos meses en las unidades de sangre refrigeradas, lo que significa un gran riesgo para las personas receptoras de este material durante una transfusión (Botero y Restrepo, 2003). Desde 1993 en México los bancos de sangre realizan el tamizaje obligatorio de donantes mediante pruebas serológicas, lo que ha disminuido sensiblemente la transmisión de la infección por esta vía (Beltrán et al., 2005).

2.1.5.3. Transplacentaria

T. cruzi puede ser transmitido de la madre infectada al feto *in útero* a través de la placenta. La infección intrauterina puede ocurrir tanto en la etapa aguda como en la crónica de la infección materna y afectar embarazos sucesivos y gemelares (OMS, 2002). Sin embargo, no todas las madres embarazadas infectadas transmiten la enfermedad. Los recién nacidos infectados en su gran mayoría son asintomáticos y un pequeño porcentaje son sintomáticos presentando manifestaciones clínicas características del síndrome de TORCH, tales como prematurez, bajo peso para la edad gestacional, hepatomegalia, esplenomegalia, ictericia, anemia, fiebre y edemas (OMS, 2002). En algunos casos los cuadros pueden ser graves, incluso mortales (Lorca et al., 2005).

Esta vía de transmisión ha adquirido creciente importancia en los últimos años en donde la incidencia en los países del Cono Sur oscila entre 1 y 10% en diferentes zonas geográficas (Freilij y Altchek, 1995; Blanco et al., 2000; Rosa et al., 2001; Luquetti et al., 2006).

La transmisión congénita no solo ha tomado importancia en los países endémicos sino también en países en donde no existe transmisión vectorial, como por ejemplo, Estados Unidos y algunos países de Europa, en donde las migraciones de mujeres chagásicas en edad fértil se ha aumentado en los últimos años (Bern et al., 2008; Schmunis, 2007).

2.1.5.4. Por trasplantes

Los receptores de trasplantes poseen un alto riesgo de recibir órganos de donantes infectado con *T. cruzi* por lo cual deben recibir tratamiento específico y seguimiento durante todo el tiempo de inmunosupresión al que se ven sometidos (OMS, 2002). Por otra parte, en los pacientes chagásicos crónicos debido a que el daño originado en el tejido en esta fase de la enfermedad es irreversible, el trasplante de corazón reviste una opción importante para estos pacientes. Sin embargo, los individuos corren un alto riesgo de reactivación de la enfermedad debido al estado de inmunosupresión inducida para tal procedimiento (Benvenuti et al., 2005; Almeida et al., 2006; Phan et al., 2006; Bacal et al., 2010). Después de un trasplante, se debe realizar un adecuado seguimiento de los pacientes que permita detectar una posible reactivación de manera temprana y así poder administrar el tratamiento adecuado (Urinovsky et al., 2003).

2.1.5.5. Transmisión oral

Las personas y los animales pueden infectarse con formas infectivas de *T. cruzi*, a través de la ingesta de alimentos y bebidas contaminadas con heces de los vectores infectados, orina de marsupiales infectados o ingesta de animales con alta parasitemia o presencia de amastigotes.

Recientemente se han registrado varios brotes que se atribuyen a este tipo de transmisión en diferentes regiones de Brasil, por ejemplo por la ingesta de jugo de caña de azúcar contaminado (Camandaroba et al., 2002; Coura et al., 2006). En Caracas (Venezuela) en el año 2009 en una escuela se presentó un brote oral por la ingesta de jugo de guayaba contaminado con el parásito. La población afectada fueron 105 niños de los cuales 75 desarrollaron cuadros agudos de la enfermedad y un caso mortal (Alarcón de Noya et al., 2010).

2.1.6. Diagnóstico

Para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas existen diferentes métodos, los cuales son utilizados dependiendo de la fase de la enfermedad en la que se encuentra el paciente y la vía de transmisión.

Durante la fase aguda de la infección los niveles de parasitemia son altos por lo que es fácil la visualización directa del parásito. En la fase crónica las bajas parasitemias no permiten fácilmente la detección directa y la sensibilidad del hemocultivo y xenodiagnóstico disminuyen. Por esta razón el diagnóstico se debe realizar por dos pruebas serológicas con principios diferentes que demuestren la presencia de anticuerpos IgG específicos (OMS, 2002).

Además, para hacer un adecuado diagnóstico de la enfermedad de Chagas es necesario tener información clínica y epidemiológica disponible del paciente con hallazgos clínicos compatibles, resultados de análisis de laboratorio positivos y una historia epidemiológica de exposición (Rosas et al., 2005).

2.1.6.1. Métodos directos parasitológicos

El examen directo se efectúa con la observación al microscopio de una preparación en fresco entre porta y cubreobjetos de sangre periférica. Esta técnica permite observar los movimientos del parásito entre las células sanguíneas (Guhl y Nicholls, 2001).

Los extendidos de sangre en gota fina o gruesa coloreados con Giemsa o coloración de Field permiten observar características morfológicas del parásito, permitiendo así la diferenciación de la especie de *Trypanosoma*. Sin embargo estas técnicas pierden sensibilidad cuando los niveles de parásitos no son suficientemente altos, así que se requiere utilizar métodos de concentración (OMS, 2002). Los métodos más utilizados son el de Strout en donde se centrifuga la muestra de sangre y el sedimento del suero obtenido es observado al microscopio.

Otro método de concentración es el microhematocrito, frecuentemente utilizado en muestras de sangre de recién nacidos de madres seropositivas para *T. cruzi*. Este análisis consiste en tomar una muestra con un capilar heparinizado y posterior a su centrifugación, observar al microscopio la fase leucocitaria en donde se encuentran las formas tripomastigotas del parásito (Luquetti, 2005).

2.1.6.2. Métodos indirectos parasitológicos

El hemocultivo y el xenodiagnóstico, métodos indirectos clásicos, son altamente específicos pero presentan baja sensibilidad (50-74%), exigen altos requerimientos técnicos, invierten mucho tiempo y por lo general no se comercializan en el mercado, de manera que su ejecución se lleva a cabo en laboratorios especializados (Luquetti, 2005).

El hemocultivo puede presentar una sensibilidad alta en casos agudos de enfermedad de Chagas y hasta un 40% de sensibilidad en casos crónicos. Las muestras de sangre de los pacientes son cultivadas en medios como el LIT (triptosa de infusión de hígado) o BHI (infusión cerebro-corazón). Los cultivos son revisados semanalmente hasta aproximadamente 6 meses (Guhl y Nicholls, 2001).

El xenodiagnóstico consiste en la demostración de la presencia de *T. cruzi* utilizando insectos vectores sanos, libres de infección los cuales se alimentan de sangre del paciente. Posteriormente, se examina en el microscopio las heces y contenido intestinal de los vectores en búsqueda de epimastogotes y/o tripomastigotes metacíclicos, a los 10- 20 días en los casos agudos y de 30 -60 días en los casos crónicos (Maguire, 1999).

Otro método menos utilizado es la inoculación de ratones y cobayos, a los cuales se les inocula sangre anticoagulada del paciente. Aproximadamente desde el día 12 post-

inoculación hasta aproximadamente 4 semanas se toma una muestra de sangre del animal y se observa al microscopio en busca de formas tripomastigotas de *T. cruzi*.

2.1.6.3. Métodos serológicos

Estas técnicas permiten detectar la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi*, siendo las más utilizadas la hemaglutinación indirecta (HAI), inmunofluorescencia indirecta (IFI) e inmunoensayo enzimático (ELISA). Según las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud, un individuo se considera positivo para la infección por *T. cruzi* si tiene positivas dos pruebas serológicas basadas en principios diferentes (OMS, 2002). En caso de discordancia entre las pruebas se debe efectuar una tercera de principio inmunológico diferente.

Las pruebas serológicas son sensibles y de gran ayuda en el diagnóstico de pacientes chagásicos crónicos, sin embargo existen algunos inconvenientes como son los resultados falsos positivos debido a la reactividad cruzada con antígenos de otros parásitos como *Leishmania spp* y *T. rangeli* o falsos negativos asociados, a la ventana inmunológica post-infección y al estado inmunológico del paciente (Maguire, 1999; Gutiérrez et al., 2004).

2.1.6.4. Métodos moleculares

Las pruebas de PCR por su poder de detección y especificidad constituyen un método diagnóstico complementario para la detección de *T. cruzi* en diversas muestras biológicas (Schijman et al., 2011). Sin embargo, algunas pruebas de PCR específicas del parásito presentan ciertas desventajas como amplificación de fragmentos polimórficos (Dorn et al., 1999; Grisard et al., 1999), amplificación de bandas de tamaños similares tanto en *T. cruzi* como en *T. rangeli*, (Murthy et al., 1992; Silber et al., 1997; Souto et al., 1999), desviación de la prueba hacia *T. cruzi* en el caso de infecciones mixtas con *T. rangeli* (Vallejo et al., 1999; Vargas et al., 2000) y posible integración del kDNA del parásito en el genoma humano (Hecht et al., 2010).

Entre las pruebas de PCR más utilizadas como ayuda diagnóstica para *T. cruzi*, se encuentra la que utiliza los iniciadores S35-S36, los cuales amplifican el ADN del cinetoplasto con una sensibilidad de hasta 0,015 fg de ADN desnudo del parásito. Esta prueba ha sido utilizada en el diagnóstico de pacientes chagásicos crónicos, siendo capaz de detectar hasta un parásito en 20 ml de sangre total. No obstante, éstos iniciadores también amplifican los minicírculos del ADN del cinetoplasto de *T. rangeli*, siendo un problema para la identificación de ambos parásitos en los casos de una infección mixta (Sturm et al., 1989; Vallejo, 1998, Vargas et al., 2000; Pavia et al., 2007).

Otra de las pruebas de PCR frecuentemente utilizadas es la que amplifica la secuencia repetida de 195 pb del parásito. Se han diseñado diferentes iniciadores en base a esta secuencia como son los cebadores TcZ1-TcZ2, los cuales permiten una detección hasta de 8 parásitos en 100 µl de sangre humana. Estos iniciadores han sido utilizados en el diagnóstico de pacientes chagásicos crónicos y en madres y recién nacidos (Moser et al., 1989; Barbosa et al., 2002; Marcon et al., 2002; Virreira et al., 2003; Chipman et al., 2006). De igual forma, Liarte et al. (2009) diseñaron una PCR múltiple con tres iniciadores la que permite la amplificación de esta secuencia repetida de 195 pb y a su vez diferenciar los aislados de *T. cruzi* pertenecientes a las DTU I y DTU II-VI por la presencia de polimorfismos en la secuencia. La prueba tiene un poder de detección de hasta 10 fg de ADN desnudo del parásito y ha sido utilizada en muestras de insectos vectores y en sangre de pacientes chagásicos.

En el laboratorio de Parasitología Molecular de la Pontificia Universidad Javeriana, se diseñó y estandarizó la prueba de PCR TcH2AF-R específica para *T. cruzi*, la cual tiene un poder de detección de hasta de 0,1 fg de ADN desnudo del parásito (Pavia et al., 2003). Esta técnica amplifica los nucleótidos 16-255 del elemento repetido SIRE de *T. cruzi* y no presenta señal de amplificación en *T. rangeli*. Ensayos en triatominos infectados, natural y experimentalmente, con *T. cruzi*, mostraron que la PCR TcH2AF-R permitió la identificación del parásito en todos los especímenes infectados, con un

desempeño igual al de los iniciadores S35-S36, considerados como unos de los más sensibles para la identificación de *T. cruzi* (Pavia et al., 2007). Así mismo en muestras de sangre de pacientes chagásicos, se observó que de 156 muestras, 84 (53,8%) fueron positivas con ambas pruebas, mientras que 89 (57%) fueron positivas por IFI y ELISA (Gil et al., 2007).

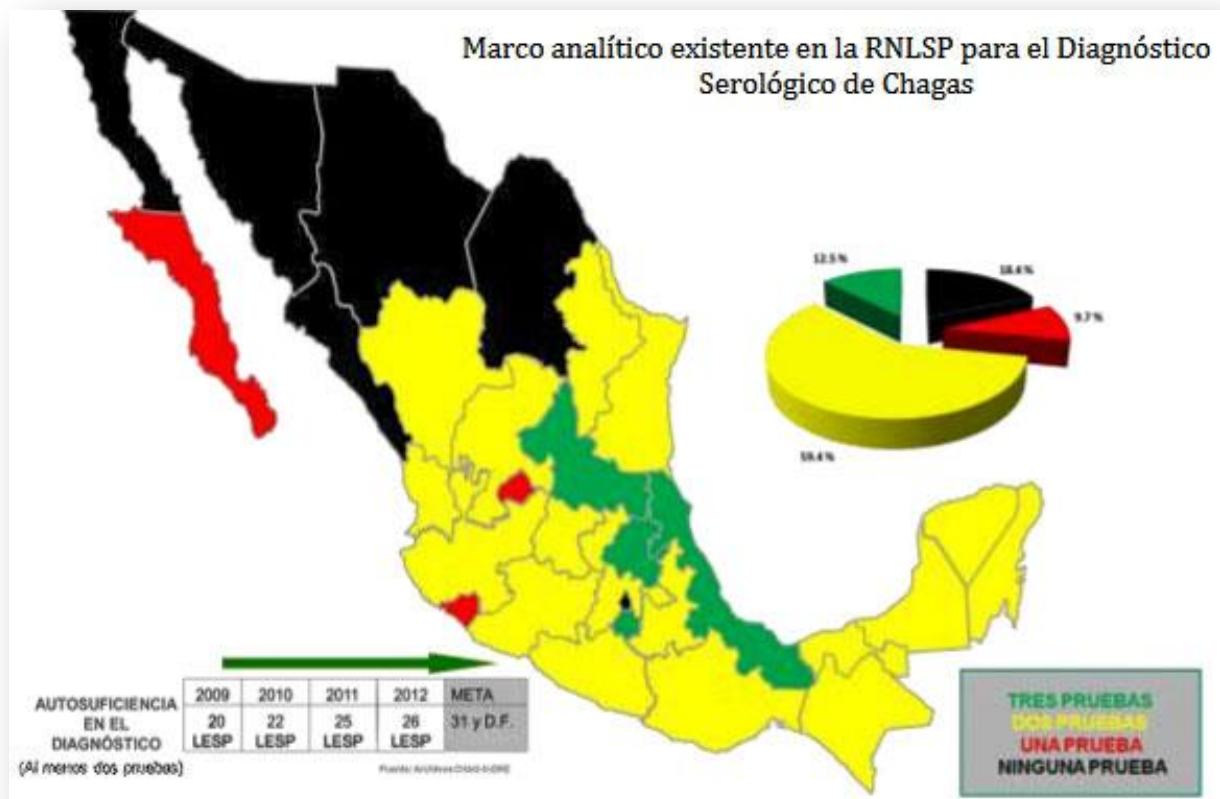
Por otra parte, en los últimos años se han desarrollado diferentes protocolos de PCR en tiempo real para la identificación y carga del parásito en muestras de sangre y tejido de pacientes chagásicos haciendo uso de las tecnologías SybrGreen y TaqMan (Marcon et al., 2002).

Existen estudios en materia de Medicina Transfusional, como la del Dr. Angeles Chimal del Laboratorio de Medicina Transfusional Experimental de la facultad de medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México, que detectó la presencia del linaje TC-II de *T. cruzi* en donadores de sangre humana no reactivos por ELISA (Ángeles-Chimal, 2014), aplicando pruebas moleculares de PCR.

Diagnóstico de la enfermedad de Chagas de acuerdo a criterios clínicos y epidemiológicos (principalmente con ayuda de métodos parasitológicos o serológicos)

Parásitos cualquier método	Serología Dos Pruebas	Sintomatología	Criterio Diagnóstico de Caso
+	+	+	Agudo
+	-	+	Agudo
-	+	+	Agudo
+	+	-	Indeterminado
-	+	-	Indeterminado
-	+	+	Crónico
-	-	+	No caso

Fuente: Lineamientos para la Vigilancia por Laboratorio de Enfermedad de Chagas. InDRE–RNLSP. Versión .01, emitida en Octubre 2012.



[Imagen 10. Estados de México que cuentan con pruebas serológicas para el diagnóstico de Chagas](#)

Fuente: Lineamientos para la vigilancia epidemiológica de Chagas por laboratorio.
DGE-InDRE-RNLSP. 2015

2.2. Banco de sangre y seguridad transfusional

Uno de los objetivos de los bancos de sangre es proveer sangre segura y de calidad. La seguridad se basa en tres pilares: la selección de donantes, el procesamiento de muestras y unidades sanguíneas y la implantación de un sistema de hemovigilancia desde el donante hasta uso en los receptores. La suma de todos es crucial para mantener un sistema de riesgo mínimo de transmisiones de enfermedades infecciosas conocidas o emergentes a través de la transfusión.

2.2.1. Selección de donantes

La *International Society of Blood Transfusion* (ISBT) y la OMS recomiendan que los donantes de sangre sean voluntarios, altruistas y no remunerados. En diferentes estudios de riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas, se ha observado que aumenta si la sangre procede de donadores que reciben una remuneración o realizan donaciones por reposición directa, en comparación de aquellos donantes voluntarios. Además de lo anterior, para reducir el riesgo de transmisión se debe realizar una adecuada selección de los donantes mediante una entrevista médica antes de la donación aplicando las normatividad vigente en cada país, donde se valoran factores de riesgos más importantes asociados al contagio y transmisión de enfermedades (msssi, 2004). En Europa y EUA la donación es 100% voluntaria, situación que no sucede en Latinoamérica, donde menos del 25% de las donaciones son voluntarias y altruistas; esto se debe a que existe incentivos económicos o la presión que significa tener que donar, lo cual conlleva a que se omitan u oculten datos para evitar ser excluidos, temporal o definitivamente, aumentando con ello el riesgo de transmisión de enfermedades.

2.2.2. Procesamiento de muestras y unidades sanguíneas

Las muestras sanguíneas obtenidas a los donantes son analizadas para la identificación de agentes patógenos transmisibles por transfusión, bajo un estricto protocolo y aplicación de controles de calidad internos y externos, apegados a la normatividad oficial de cada país, así como metodología de avanzada generación en las pruebas de ELISA, Quimioluminiscencia, Hemaglutinación y pruebas de ácidos nucleicos (NAT). Pero a pesar de ello existe el riesgo de no identificar un patógeno por la variabilidad biológica de cada donante o los periodos de ventana de los agentes infecciosos. El procesamiento de las unidades comprende desde su obtención, fraccionamiento y almacenamiento. En las últimas décadas, la tecnología ha avanzado demasiado con la finalidad de reducir el riesgo asociado a la transfusión, preservando al máximo la calidad y viabilidad de los productos sanguíneos, desde la extracción

mediantes equipos de aféresis, la leucorreducción, radiación, cámaras de refrigeración y congelación. Algunos estudios han revelado que *T. cruzi* se mantuvo infectante hasta por 24 horas a temperatura ambiente, hasta 14 días entre 2 a 8 °C, y hasta por 1 año a -80°C (Hardwick CC et al, 2004).

2.2.3. Hemovigilancia

Un sistema de hemovigilancia comprende todos los procesos destinados a detectar rápidamente la propagación de enfermedades transmisibles por transfusión sanguínea y fomentar la mejora de la seguridad transfusional. Dentro de ellos incluye los estudios retrospectivos denominados *look-back* (“mirar atrás”), que consiste en investigar receptores de unidades de sangre de donantes que hayan seroconvertido en donaciones subsecuentes o volver a analizar la sangre de un donante cuando un receptor manifiesta una enfermedad infecciosa post-transfusión (msssi, 2004).

En el caso de la enfermedad de Chagas, es importante la hemovigilancia principalmente en receptores inmunodeprimidos que presenten infecciones agudas graves que pueden ocasionar la muerte. En pacientes inmunocompetentes también pueden haber casos de transmisión de *T. cruzi*, pero leves o incluso asintomáticos de algunas de las formas o fases de la enfermedad.

2.2.4. Riesgo residual de transmisión

La transmisión de infecciones por vía transfusional es una complicación de gran importancia en relación con la morbimortalidad en receptores de sangre. La trascendencia de la infección radica en que donantes aparentemente sanos pueden tener infecciones, sobre todo virales, y en que frecuentemente no existe disponibilidad de tratamientos.

A lo largo del tiempo se fueron incrementando las medidas para disminuir el riesgo de transmisión de estas infecciones y en la actualidad, en los países desarrollados, es muy

baja la posibilidad de desarrollar una enfermedad infecciosa como resultado de una transfusión, particularmente cuando se la compara con otros riesgos derivados de las prácticas médicas.

Existen cuatro razones por la que puede existir dicha transmisión; el periodo de ventana propia del agente infeccioso, donantes asintomáticos portadores crónicos, mutaciones o cepas no detectables y los errores técnicos de laboratorio.

El riesgo potencial de transmisión de enfermedades por vía transfusional se puede estimar revisando los registros de las donaciones de sangre, los procedimientos de tamizaje realizados y la prevalencia de los marcadores en las poblaciones estudiadas. Por ejemplo, de acuerdo a la sensibilidad analítica de la prueba para Hepatitis B, se estima un riesgo residual de transmisión de 1:250,000 unidades, de acuerdo al periodo de ventana e incidencia de la enfermedad existe un riesgo residual de 1:63,000 unidades. Para hepatitis C 1:103,000; VIH oscila en 1,2% (1:450,000 a 1.660,000) por unidad transfundida, hoy en día que se usa el p24 se calcula de 1:9,000,000; para la enfermedad de Chagas se ha calculado que el riesgo oscila entre 14 a 49% (Pérez A, Segura E, 1989).

2.3. Evaluación de pruebas diagnósticas

Evaluar las pruebas diagnósticas es un diseño transversal, hoy en día catalogadas dentro de los diseños analíticos, en el que se seleccionan dos grupos de individuos, un grupo que padece la enfermedad y otro sin ella, y se comparan los resultados obtenidos con la nueva prueba diagnóstica en dichos individuos con un estándar de oro (o criterio de referencia o patrón de referencia). La validez diagnóstica se determina por distintos parámetros: la sensibilidad, especificidad y valores predictivos. Estos parámetros permiten cuantificar la capacidad de la prueba para clasificar correcta o erróneamente a una persona, según la presencia o ausencia de una enfermedad (López EA, 2001).

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica se hace a través de pruebas serológicas para la detección de los anticuerpos del parásito. Una sola prueba no es lo suficientemente sensible y específica para hacer el diagnóstico. Por esta razón, el procedimiento estándar es realizar dos o más pruebas que usen diferentes técnicas y detectan los anticuerpos de diferentes antígenos. Dos técnicas frecuentemente utilizadas son el enzimoimmunoanálisis de adsorción (elisa), la prueba de anticuerpos inmunofluorescentes (IFA) y quimioluminiscencia. Para aumentar la precisión del diagnóstico, se tiene que prestar especial atención a los antecedentes médicos del paciente para identificar posibles riesgos de infección que puedan ser de utilidad en la evaluación (CDC, 2016).

CAPÍTULO 3

OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- Determinar el riesgo residual de transmisión de la enfermedad de Chagas y evaluar la prueba diagnóstica *BIOFLASH Chagas* en el Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea de Chiapas, en el 2015.

3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar epidemiológicamente de los casos de enfermedad de Chagas en donadores de sangre de Chiapas
- Estimar el riesgo residual de transmisión de Chagas en el Estado
- Evaluar la prueba diagnóstica *BIOFLASH Chagas* para el tamizaje de donadores reactivos a *T. cruzi*.

CAPÍTULO 4

MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo de investigación se llevó a cabo en el Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea (CETS), dependencia del Instituto de Salud del Estado de Chiapas (ISECH), donde se recolectan, analizan, fraccionan, almacenan y distribuyen sangre y sus componentes, específicamente en el Laboratorio de Serología Infecciosa, siguiendo los lineamientos de la NOM-253-SSA1-2012; Norma Oficial Mexicana para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

Se realizó un diseño de estudio de tipo transversal y un diseño analítico de evaluación de pruebas diagnósticas; destinadas para determinar el riesgo residual de transmisión de la enfermedad de Chagas mediante la fórmula propuesta por Cerisola: Probabilidad de infección (P_{inf})= 1 - probabilidad de no infección ($P_{no\ inf}$) por transfusión; de donde $P_{no\ inf}$ es $= (1 - X)^n$, donde X = índice de infección de los donadores de ese banco y n = número de transfusiones recibidas (registradas en fracción); así también mediante el cálculo de proporciones en función al número de unidades captadas y las incidencias de casos identificados mediante el laboratorio. La validez y seguridad de la prueba *BIOFLASH Chagas* se determinó a través de los parámetros de Sensibilidad, Especificidad, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y el índice Kappa.

4.1. Población de estudio

La población de estudio estuvo integrada por los donadores efectivos de sangre total y plaquetas reactivos (R), zona gris (ZG) y No reactivos (NR) a *T. cruzi* que acudieron al CETS-BSDDCR y los puestos de sangrado integrados a la red estatal del año 2012 al 2015 para el análisis de riesgo y del periodo enero a diciembre del 2015 para la evaluación de la prueba.

Se consideró un 10% de muestras no reactivas seleccionadas aleatoriamente, de acuerdo a lo establecido en la NOM-032-SSA2-2010, el apartado 7.3.2.5 sobre control de calidad en el diagnóstico de la enfermedad, de ésta manera determinar las variables de validez y seguridad de la prueba *BIOFLASH Chagas*.

Para estimar el riesgo residual de transmisión de *T. cruzi*, se incluyeron los donadores repetitivos (2 o más donaciones en el periodo de estudio) y los donadores nuevos (primera donación en el periodo de estudio) que hayan donado en el periodo de estudio; calculando la incidencia y prevalencia de enfermedad con un 95% de significancia a partir de los casos confirmados y el total de donaciones efectivas, números de transfusiones promedios de los establecimientos con mayor demanda de hemocomponentes sanguíneos en el estado de Chiapas.

Se excluyeron muestras de donadores que por algún motivo no se logró obtener, por bolsa rota, muestra insuficiente, muestra contaminada, y otras.

4.1.1. Criterios de inclusión:

Todos los donadores de sangre que pasaron la valoración médica y los requisitos de biometría hemática considerados como aptos para donar.

4.1.2. Criterios de exclusión:

Donadores de sangre que hayan sido excluidos por aumento o descenso de los parámetros de la biometría hemática.

4.2. Variables de estudio

- Edad
- Grupo etario
- Sexo
- Ocupación
- Escolaridad
- Estado civil

Definición conceptual y operacional de variables

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	CATEGORÍA O DIMENSIONES
Edad	Cuantitativa Ordinal	Tiempo en años que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento	Edad reglamentaria para donación de sangre y sus componentes, cuyo dato se obtendrá de la historia clínica de acuerdo a lo declarado por el donante y se obtendrá del expediente clínico, de acuerdo a lo declarado por el (la) donante.	Edad en años (18 a 65)
Grupo etario	Cualitativa Nominal	Grupo de personas que tienen la misma edad	Grupo de personas con la misma edad que se ubican dentro un rango especificado, cuyo dato se obtendrá de la historia clínica de acuerdo a lo declarado por el donante y se obtendrá del expediente clínico, de acuerdo a lo declarado por el (la) donante.	Grupos de edad en años: 18 a 22 23 a 27 28 a 32 33 a 37 38 a 42 43 a 47 48 a 52 52 o más
Sexo	Cualitativa Nominal	Condición orgánica, masculina o femenina, de los animales y las plantas	Sexo declarado por el donador de sangre o aféresis, cuyo dato se obtendrá de la historia clínica o el sistema informático SABS.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hombre ▪ Mujer
Escolaridad	Cualitativa Nominal	Conjunto de cursos académicos culminados de un individuo realizado en un establecimiento docente	Máximo grado de estudio oficial declarado por el donante al momento de ser registrado en el sistema informático SABS, cuyo dato se obtendrá de la historia clínica	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sin escolaridad ▪ Primaria ▪ Secundaria ▪ Preparatoria ▪ Licenciatura ▪ Posgrado
Ocupación	Cualitativa Nominal	Trabajo, empleo, oficio que desempeña una persona por el cual recibe una remuneración económica	Situación laboral declarado por el donante al momento de su registro en el sistema informático SABS, cuyo dato se obtendrá de la historia clínica	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Empleado ▪ Desempleado ▪ Negocio propio
Estado civil	Cualitativa Nominal	Situación de las personas físicas determinada por sus relaciones de familia, que establece ciertos derechos y deberes.	Condición civil que manifiesta o expone el donante al momento de otorgar sus datos personales, cuyo dato se obtendrá de la historia clínica	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Soltero ▪ Unión libre ▪ Casado (a) ▪ Divorciado ▪ Separado ▪ Viudo

4.1. Recolección y procesamiento de muestras para *BIOFLASH Chagas*

La recolección y registro incluyó datos desde el año 2012 al 2015, y las muestras a partir del día 01 del mes enero de 2015 culminando el día 31 del mes de diciembre del mismo año.

Todas las muestras de sangre se tomaron mediante el sistema de extracción al vacío en tubos nuevos, estériles y de 6 mililitros, el flebotomista estaba capacitado y tenía experiencia en tomas de muestras lo que permitió evitar la hemólisis de las mismas por traumatismo en la zona de punción; se dejaron de 15 a 20 minutos en reposo para que se llevara a cabo la coagulación completa, posteriormente se centrifugaron por 10 minutos a 3500 RPM (revoluciones por minuto).

Se procedió a separar el suero en dos contenedores; 1 mililitro de suero en un tubo Eppendorf para congelarla a -20 °C y el resto de suero en un tubo seco y limpio de vidrio de 13 x 75 cc (centímetros cúbicos), para el procesamiento en el equipo *BIOFLASH* (*método quimioluminiscencia*) según manual de operaciones y cursos de capacitación que recibió el personal adscrito al área de Serología Infecciosa, por parte del proveedor del analizador.

Antes de cada corrida se procesaron los controles positivo y negativo propios de la prueba *BIOFLASH Chagas*, para validar la corrida. Las muestras que resultaron reactivas se procesaron por duplicado obteniéndose dos lecturas.

El descongelamiento de las muestras resguardadas en los tubos *Eppendorf* se realizó a temperatura ambiente por 15 a 20 minutos, se homogeneizaron por inversión del tubo por 10 veces y se ultra centrifugaron nuevamente a 13,000 RPM durante 10 minutos, antes de ser procesados por la prueba confirmatoria IFIFLUOR CHAGATEST WIENER (FTA-ABS) en el Laboratorio Estatal de Salud Pública (LEPS), considerada como estándar de oro.

Las muestras que resultaron reactivas por la prueba *BIOFLASH Chagas* fueron enviadas al LESP para su confirmación mediante la prueba IFIFLUOR CHAGATEST WIENER (FTA-ABS), junto con las muestras no reactivas que se seleccionaron de manera aleatoria para su procesamiento.

BIO-FLASH Chagas permitió una detección específica y de alta sensibilidad de los anticuerpos anti-*T. cruzi* mediante el uso de antígenos recombinantes. Las micropartículas paramagnéticas se mezclaron e incubaron con la muestra, donde los anticuerpos presentes contra *T. cruzi* se combinaron con los antígenos específicos, después de una separación magnética y lavado para eliminar la muestra residual, se añadió un trazador que consiste en anticuerpos anti-IgG y anti-IgM humanas marcados con *Isoluminol* que se unen a los anticuerpos capturados por las micropartículas. Tras una segunda incubación, separación magnética y otro lavado, se añadieron los reactivos que activan la reacción quimioluminiscente. El luminómetro del *BIO-FLASH* midió la luz emitida como unidades relativas de luz (URL), que son directamente proporcional a la concentración de anticuerpos específicos frente a *T. cruzi* en la muestra.

El *BIO-FLASH Chagas* utiliza un método de reducción de datos con ajuste a una curva logística de 4 parámetros (4PLC) para generar una Curva de Calibración Maestra (CCM). Esta curva viene predefinida, depende del lote y se almacena en el instrumento a través del código de barras del cartucho. Con la medición de los calibradores (que se suministran en un kit aparte), la CCM predefinida se transforma en una Curva de Calibración de Trabajo (CCT) nueva y específica para el instrumento.

4.1.1. Interpretación de resultados

La cantidad de analito en cada muestra se determinó a partir de la luz emitida (URL), mediante interpolación en la Curva de Calibración de Trabajo almacenada. Los resultados de *BIO-FLASH Chagas* se expresaron como S/CO (Señal de la

muestra/Valor de corte). Como el ensayo es cualitativo, el valor numérico del resultado sólo es indicativo de la cantidad de anticuerpo presente. La determinación de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* con el ensayo *BIO-FLASH* Chagas se interpretó de la siguiente manera:

- a) Las muestras con un resultado $< 0,90$ S/CO se consideraron no reactivas (negativas).
- b) Las muestras con un resultado $\geq 0,90$ y $< 1,00$ S/CO se consideraron indeterminadas (zona gris).
- c) Las muestras con un resultado $\geq 1,00$ S/CO se consideraron reactivas (positivas).

4.2. Confirmación de muestras reactivas mediante IFIFLUOR CHAGATEST WIENER (FTA-ABS)

❖ Reconstitución del buffer fosfato salino (BFS)

Se disolvió el sobre del buffer en 1 litro de agua destilada. Dicho preparado es estable conservándolo en refrigeración hasta 4 semanas.

❖ Dilución de las muestras

El suero problema se inactivó por 30 minutos a 56°C y luego se realizó una dilución 1/5 en sorbente (0.02 mL de suero en 0.08 mL de sorbente). Se diluyeron los controles del equipo en la misma forma, utilizando sorbente. Se dejó absorber las muestras y los controles 20 minutos (no menos de 5 minutos y no más de 30 minutos).

❖ Preparación de las improntas

- a) Se retiraron los portaobjetos del envase, dejando secar a temperatura ambiente.

- b) Se sembraron los sueros controles positivos, negativos y muestras a procesar teniendo precaución de no tocar con la pipeta las áreas reactivas, dejando caer suavemente la gota de la dilución sobre el área reaccionante.

❖ **Incubación de las muestras**

Se incubaron tanto las muestras como los controles por 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C), tapando la cámara húmeda para evitar la evaporación de las mismas.

❖ **Lavado de las muestras**

Se retiraron los portaobjetos de la cámara húmeda y se lavaron con abundante BFS derramando con una pipeta el líquido directamente sobre cada área para evitar la contaminación entre las mismas. Se sumergieron los portaobjetos 5 minutos en BFS en un frasco tipo Coplin agitando suavemente. Se eliminó por decantación el BFS del Coplin y se reemplazó por BFS limpio, dejando en reposo 5 minutos más. El lavado puede prolongar más tiempo sin afectar los resultados.

❖ **Incubación con Antigamma globulina humana marcada con Isotiocianato de fluoresceína (FITC).**

(Se diluyó previamente con BFS según rótulo).

Se extrajeron los portaobjetos del baño con BFS. Se secaron con papel filtro entre las áreas y se cubrieron con la antigamma. Se incubaron a temperatura ambiente por 20 minutos. La cámara húmeda debe estar tapada para evitar la evaporación de la anti-gamma. Al final se lavaron nuevamente las muestras repitiendo el paso anterior. Se cubrieron las áreas reactivas con la solución de Azul de Evans durante 2 minutos, nuevamente se lavaron con BFS y se secaron suavemente con papel filtro alrededor de las áreas reactivas.

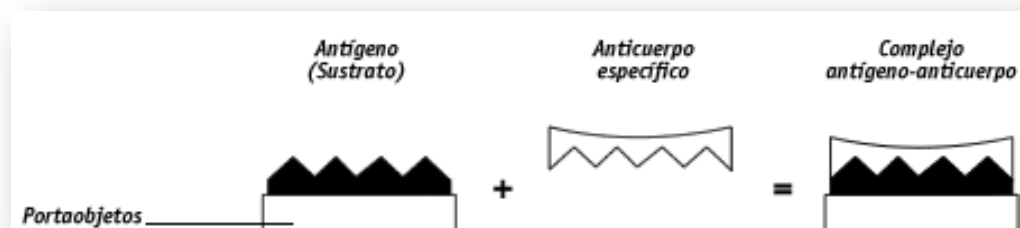
❖ Montaje de las muestras

Se procedió a sacudir suavemente los portaobjetos sobre papel filtro. Secando entre las áreas cuidando de no tocar las áreas reactivas. Se realizó el montaje con cubreobjetos de 20 x 50 mm limpios, nuevos y una gota de resina para montaje. Se cubrieron los portaobjetos suavemente evitando la formación de burbujas que dificultan la lectura.

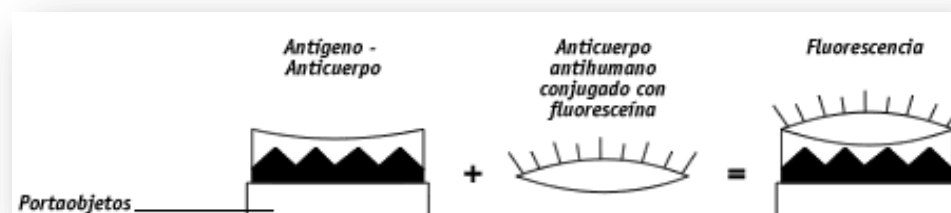
❖ Lectura e interpretación de resultados

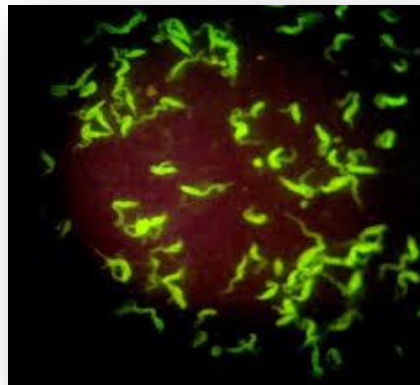
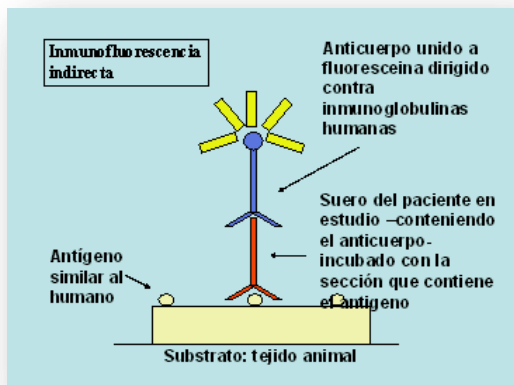
Se procedió a leer las laminillas dentro de las primeras horas, con el objetivo de 400x y aceite de inmersión en el microscopio de Fluorescencia en campo oscuro. Una muestra se consideró **POSITIVA** al observar nítidamente fragmentos color verdoso y fluorescente, se consideró **NEGATIVA** aquella que no mostró dicha característica.

Etapa 1 de la Inmunofluorescencia



Etapa 2 de la Inmunofluorescencia





Característica de la reacción y Observación al Microscopio de Fluorescencia.

4.3. Fuentes de datos e instrumentos de recolección

Las diferentes fuentes de información para llevar a cabo éste estudio fueron los siguientes: programa computacional SABS 2000 (*Sistema para la administración de bancos de sangre versión 2000*), historia clínica de donadores, informes de ingresos y egresos de sangre y sus componentes, libro de ingresos y egresos de sangre y sus componentes, libreta de serología infecciosa (interna y foráneas), impreso de resultados del *BioFlash* donde se procesa la prueba de Chagas, registro de confirmaciones a resguardo por el área de Hemovigilancia, manual de operaciones del equipo automatizado *BioFlash*, Inserto del reactivo para la prueba de Chagas. Para la recopilación y concentración de datos de interés se diseñó el formato que se encuentra en apartado de Anexos.

4.4. Control de calidad

El control para asegurar la calidad de la información y/o datos recolectados estuvo sujetos a los establecidos e implementados en los diferentes ensayos o pruebas diagnósticas y los procedimientos o protocolos diseñados por los establecimientos que los ejecutan y fueron plasmados en los instrumentos de recolección destinados para

ello. Toda actividad apegada a la normatividad aplicable a servicios de sangre y enfermedades transmitidas por vector.

4.5. Aspectos éticos del trabajo de investigación

El protocolo de investigación de esta tesis, antes de ser puesta en ejecución fue evaluado, revisado y autorizado por el Comité de ética en investigación del CETS Chiapas, cuyo número de folio de dictamen fue CETS/BSDDCR/142/2015, además de que todos los procedimientos fueron adecuados a las recomendaciones para la investigación biomédica de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (WMA, 2000) y a la Ley General de Salud de México (SSA, 1994), este estudio es de riesgo mínimo, como lo estipula la mencionada ley.

De esta manera, el autor de ésta tesis manejó todos los aspectos que tuvieran que ver con la privacidad del donador, la orientación para búsqueda de tratamiento en caso de ser confirmado positivo con el apoyo del área de Hemovigilancia, el procedimiento de la toma de muestras fue realizado por personal capacitado, experiencia en flebotomía y los requisitos establecidos en la NOM-253-SSA1-2012, además se utilizó el formato F-CF-00, denominado Carta de confidencialidad interno/externo (propia del CETS-BSDDCR), donde se solicita el compromiso a resguardar, mantener la confidencialidad y no hacer mal uso de los documentos, expedientes, reportes, estudios, actas, resoluciones, oficios, correspondencia, acuerdos, directivas, directrices, circulares, contratos, convenios, instructivos, notas, memorandos, archivos físicos y/o electrónicos, estadísticas o bien, cualquier otro registro a que tenga acceso generado en el ejercicio de las funciones bajo la responsabilidad de la institución denominada “Banco de Sangre Dr. Domingo Chanona Rodríguez”.

Dicho trabajo de investigación se limitó solamente al uso de datos sobre el marcador infeccioso, número de unidad, resultados obtenidos por tamizaje y confirmatorio, omitiendo nombres de donadores. Sin embargo los donantes confirmados positivos, personal de Hemovigilancia, realizó su localización vía telefónica, correo electrónico y

en algunos casos por escrito, además de su notificación a la jurisdicción sanitaria correspondiente.

4.6. Análisis de datos

Los datos fueron analizados empleando una hoja de cálculo del programa Microsoft Excel, en una tabla de 2 x 2 para calcular Sensibilidad, Especificidad, VPP, VPN, coeficiente Kappa, el número de donantes reactivos confirmados (viejos y nuevos), número donantes efectivos que sirvieron en el cálculo de la tasa de incidencia, prevalencia y riesgo residual, así como el periodo de ventana de la enfermedad de Chagas, el % de casos incidentes y número de transfusiones promedio intrahospitalario de acuerdo a las siguientes fórmulas de Cerisola propuesta en los años 1972 y 1982.

a) *Fórmula primaria de Cerisola mediante probabilidades de infección (1972):*

$$P_{\text{inf}} = 1 - P_{\text{no inf}}$$

Donde; P_{inf} = probabilidad de infección; $P_{\text{no inf}}$ = probabilidad de no infección

$$P_{\text{no inf}} = (1 - X)^n$$

Donde; X = % casos nuevos confirmados; n= número de transfusiones promedio diarias (fracción)

b) *Fórmula de Cerisola 1982, en función a número de donaciones*

$$RRs = I \times WP$$

Donde; RRs= Riesgo residual (transmisión de Chagas por 10,000 donaciones)

I= Tasa de incidencia (10,000 donadores); casos incidentes (nuevos) en %

WP= Periodo de ventana de la infección por Chagas referida como fracción de año

P= Prevalencia (%)

DPNC= donadores positivos nuevos confirmados

DPVC= donadores positivos viejos confirmados

TDE= Total donadores efectivos

$$P = \frac{DPNC + DPVC}{TDE} \times 100 \quad I = \frac{DPNC}{TDE} \times 10000$$

c) Para evaluación de pruebas diagnósticas

Resultados de la prueba Bioflash CHAGAS	Resultados de la prueba IFIFLUOR Chagatest Wiener		
	Positivo	Negativo	
Reactivo	Verdaderos positivos (VP)	Falsos negativos (VN)	TPPA
No Reactivo	Falsos positivos (FP)	Verdaderos negativos (VN)	TNPA
	TPPB	TNPB	TOTAL

Donde: **TPPA**= Total positivos de la prueba Bioflash
TNPA= Total negativos de la prueba Bioflash
TPPB= Total positivos de la prueba Chagatest
TNPB= Total negativos de la prueba Chagatest
TOTAL= Gran total

$$\text{Sensibilidad Neta} = VP / (VP + FN) * 100$$

$$\text{Especificidad Neta} = VN / (VN + FP) * 100$$

$$\text{Valor Predic Positivo (VPP)} = VP / (VP + FP) * 100$$

$$\text{Valor Predic Negativo (VPN)} = VN / (VN + FN) * 100$$

$$\text{Acuerdo Esperado (AE VP)} = (TPPA \times TPPB) / \text{TOTAL}$$

$$\text{Acuerdo Esperado (AE VN)} = (TNPA \times TNPB) / \text{TOTAL}$$

$$\% \text{ de Acuerdo Esperado (\% AE)} = (AE VP + AE VN) / \text{TOTAL} * 100$$

$$\% \text{ de Acuerdo Observado (AO)} = (VP + VN) / \text{TOTAL} * 100$$

$$\text{Kappa} = (\% AO - \% AE) / (100 - \% AE)$$

Para conocer el grado de concordancia entre la prueba de tamizaje BIOFLASH Chagas (QLM) y la prueba estándar de oro IFIFLUOR Chagatest WIENER (IFI), es decir, hasta qué punto ambos coinciden en su medición, se utilizó el coeficiente kappa (*k*) como herramienta estadística para determinar el grado de concordancia, cuyos valores oscilan entre -1 y +1. Mientras más cercano a +1, mayor es el grado de concordancia y

mientras más cercano a -1, mayor es el grado de discordancia. Un valor $k=0$ refleja que la concordancia observada es precisamente la que se espera a causa exclusivamente del azar (Cerdeja JL y Col., 2008).

Una de las primeras interpretaciones del valor kappa fue propuesta por *Cohen* en 1960, donde establece la proporción de acuerdos observados y los esperados, en dos sucesos o eventos independientes descritos en porcentaje %; pero *Landis y Koch* en 1977 acuñan el acuerdo corregido debido al azar y desde entonces el valor de “*k*” se establece mediante un índice en función a la unidad.

Valoración del coeficiente kappa (*Landis y Koch, 1977*)

kappa (k)	Grado de acuerdo
<0,00	Sin acuerdo
0,00 a 0,20	Insignificante
0,21 a 0,40	Mediano
0,41 a 0,60	Moderado
0,61 a 0,80	Sustancial
0,81 a 1,00	Casi perfecto

Así también se analizaron a través del programa estadístico SPSS versión 24, asumiendo una significancia al 95% y uso de la Chi cuadrada para la comparación de métodos y distribución de los datos.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS

5.1. Caracterización epidemiológica de los casos de enfermedad de Chagas en donantes de sangre de Chiapas

Durante el periodo de estudio (2012-2015) se captaron un total de 113,587 unidades de sangre de los cuales 649 (0,57%) resultaron reactivas a *T. cruzi*, donde 588 (90,6%) fueron hombres y 61 (9,4%) mujeres, con una edad promedio de 31,5 ± 10,5 años, siendo donadores de primera vez, en su mayoría (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución de casos de *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre, por sexo, grupo de edad y tipo de donador del CETS Chiapas, periodo 2012 - 2015

Variable	2012		2013		2014		2015		Total
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Sexo									
Hombre	63	92,6	134	87,5	136	85,0	255	95,1	588 (90,6%)
Mujer	5	7,4	19	12,5	24	15,0	13	4,9	61 (9,4%)
Total	68		153		160		268		649
Grupo de edad (años)									
18 a 22	13	19,1	25	16,1	14	8,7	37	13,8	89 (13,7%)
23 a 27	21	30,9	49	32,1	35	21,7	81	30,2	186 (28,7%)
28 a 32	10	14,7	27	17,9	28	17,4	44	16,4	109 (16,8%)
33 a 37	5	7,4	11	7,1	7	4,3	26	9,7	49 (7,6%)
38 a 42	6	8,8	16	10,7	42	26,1	37	13,8	101 (15,6%)
43 a 47	4	5,9	8	5,4	14	8,7	12	4,5	38 (5,9%)
48 a 52	3	4,4	8	5,4	14	8,7	19	7,1	44 (6,8%)
52 o más	6	8,8	8	5,4	7	4,3	12	4,5	33 (5,1%)
Total	68		153		160		268		649
Tipo de donador									
1a vez	64	94,1	109	71,4	120	75,0	212	79,1	505 (77,8%)
Repetición	4	5,9	44	28,6	40	25,0	56	20,9	144 (22,2%)
Total	68		153		160		268		649

Fuente: elaboración propia

En la tabla 2 se observa un incremento anual de casos reactivos identificados en función al número de donadores captados. El número de casos confirmados es mayor

en el 2014 (129 casos), con una prevalencia de 0.41% (IC 95%; 0.34-0.48) y una incidencia de 34.06 nuevos casos de Chagas por cada 10,000 donadores.

Tabla 2. Frecuencia, prevalencia e incidencia de *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre del CETS Chiapas; periodo 2012-2015

Año	Total donadores	Reactivos	H	M	Confir- mados	Prevalencia (IC 95%)	Incidencia
2012	18,215	68	63 92,6%	5 7,4%	43	0,24 (0,17 - 0,31)	17,02
2013	29,806	153	134 87,6%	19 12,4%	82	0,28 (0,22 - 0,34)	23,82
2014	31,706	160	136 85,0%	24 15,0%	129	0,41 (0,34 - 0,48)	34,06
2015	33,860	268	255 95,1%	13 4,9%	67	0,20 (0,15 - 0,25)	15,95
Total	113,587	649	588	61	321	0,28 (0,25 - 0,31)	23,24

Fuente: elaboración propia

H= Hombres

M= Mujeres

Prevalencia (%); IC 95%

Incidencia (por cada 10,000 donadores)

En el último año de estudio, se identificaron 268 (P= 0,79%) casos reactivos de *T. cruzi* por Quimioluminiscencia (QLM), de los cuales el 95,1% (255 casos) fueron hombres, 4,9% (13 casos) fueron mujeres, el rango de edad con mayor frecuencia de casos es de 23 a 27 años de edad con 81 casos (30.2%), el producto sanguíneo de mayor donación por los casos reactivos fue la sangre total con 264 unidades (98.5%), 118 casos (44.2%) manifestaron tener secundaria terminada, el 60.5% (162 casos) se encuentran empleados con remuneración económica, y el 48.1% (129 casos) se encuentran casados (Tabla 3).

Tabla 3. Distribución de casos de *Trypanosoma cruzi* según variables socioeconómicas, en donadores de sangre del CETS Chiapas, 2015

Variable	Frecuencia	%
Sexo		
Hombre	255	95,1
Mujer	13	4,9
Grupo Edad		
18 a 22	37	13,8
23 a 27	81	30,2
28 a 32	44	16,4
33 a 37	26	9,7
38 a 42	37	13,8
43 a 47	12	4,5
48 a 52	19	7,1
53 o más	12	4,5
Producto sanguíneo		
Sangre total	264	98,5
Aferesis	4	1,5
Escolaridad		
Sin escolaridad	19	7,0
Primaria	69	25,6
Secundaria	118	44,2
Preparatoria	25	9,3
Licenciatura	37	14,0
Posgrado	0	0,0
Ocupación		
Desempleado	75	27,9
Empleado	162	60,5
Negocio propio	31	11,6
Estado civil		
Soltero (a)	69	25,6
Unión libre	53	19,8
Casado (a)	129	48,1
Divorciado (a)	3	1,1
Separado (a)	12	4,7
Viudo (a)	2	0,7

Fuente: elaboración propia

5.2. Estimación del riesgo residual de transmisión de Chagas en el estado de Chiapas

El riesgo residual de transmisión en función al número promedio de transfusiones diarias (Cerisola 1972) y al número de donaciones (Cerisola 1982), se determinó de la siguiente manera:

a) *De acuerdo a Cerisola 1972, para el año 2015*

En base a 80,8 unidades promedio diarias transfundidas (0,808) por los hospitales de mayor concentración en el estado de Chiapas (de acuerdo a los informes de ingresos y egresos de CETS Chiapas, 2010 a 2015, enviados al CNTS en su apartado 2 sobre número de unidades transfundidas y apartado 6.5 unidades suministradas al sector público o privado), se determinó lo siguiente:

$$P_{\text{no inf}} = (1 - 0,20)^{0,808} = \mathbf{0,84}$$

$$P_{\text{inf}} = 1 - 0,84 = \mathbf{0.16}$$

$$P_{\text{inf}} = 0,16 \times 100 = \mathbf{16,0 \%}$$

Por tanto; el riesgo de transmisión de Chagas en función al número de transfusiones promedio diarias en el Estado de Chiapas es de **16,0 %**.

b) *De acuerdo a Cerisola 1982, para el año 2015*

Considerando que el periodo de ventana de la enfermedad de Chagas es de 0,3; referida como fracción de año (98 días promedio de incubación en aparecer los primeros síntomas y estimulación de producción de anticuerpos) (Werner A., et al, 2008)

DPNC= 67 nuevos confirmados

DPVC= 254 viejos confirmados

TDE= 33,860 donadores efectivos

$$P = \frac{(67 + 254)}{33,860} \times 100 = \mathbf{2,79}$$

$$I = \frac{67 \times 10000}{33,860} = \mathbf{19,8}$$

Por tanto; en función a la prevalencia:

$$\mathbf{RRs} = 2,79 \times 0,3 = \mathbf{0,84 \text{ por cada 100 donaciones}}$$

En función a la Tasa de Incidencia:

$$\mathbf{RRs} = 19,8 \times 0,3 = \mathbf{5,94 \text{ por cada 10,000 donaciones}}$$

Finalmente, considerando la proporción de unidades efectivas captadas en el año de estudio y los casos nuevos de donadores positivos confirmados a Chagas; en la tabla 4 observamos que el riesgo residual de transmisión por transfusión de la enfermedad de Chagas es de 1 unidad por cada 354 transfusiones realizadas (0,28% de probabilidad de infección).

Tabla 4. Riesgo residual de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre del CETS Chiapas; periodo 2012-2015

Año	Total donaciones	TDP (fracción)	No. Casos	Confir-mados	% casos confir-mados (P)	CNI	I	RRT 1972	RRT 1982	Relación No. Casos/No. Donaciones
2012	18,215	54,1 (0,541)	68	43	0,24	31	17,02	14,0	7,08	1 : 424
2013	29,806	63,4 (0,634)	153	82	0,28	71	23,82	19,0	8,25	1 : 363
2014	31,706	74,7 (0,747)	160	129	0,41	108	34,06	33,0	12,20	1 : 246
2015	33,860	80,8 (0,808)	268	67	0,20	54	15,95	16,0	5,94	1 : 505
Total	113587	273 (2,73)	649	321	0,28	264	23,24	60,0	6,97	1 : 354

Fuente: elaboración propia

TDP= transfusiones diarias promedio

CNI= casos nuevos incidentes

I= incidencia (por cada 10,000 donaciones)

RRT 1972= riesgo residual de transmisión por transfusiones diarias, Cerisola 1972

RRT 1982= riesgo residual de transmisión por 10,000 donaciones, Cerisola 1982

5.3. Evaluación de la prueba *BIOFLASH Chagas*

Para el análisis y evaluación de la prueba *BIOFLASH Chagas*, se enviaron a confirmación 268 muestras reactivas y 30 muestras no reactivas seleccionadas al azar durante el año 2015 (correspondientes a un 10% de acuerdo a lo establecido en la NOM-032-SSA2-2010, el apartado 7.3.2.5 sobre control de calidad en el diagnóstico de la enfermedad).

En la tabla 5 se observa que de las 268 muestras reactivas se confirmaron 67 (25%) como VP, 201(75%) FP; de las 30 muestras no reactivas todas fueron confirmadas como VN (100%), ninguna FN. La evaluación de la prueba de tamizaje *Bioflash Chagas* arrojó una sensibilidad (S) de 25,0%; lo cual significa que dicha prueba solamente tiene esa capacidad de detectar a donantes de sangre con anticuerpos para *T. cruzi* (*Reactivos*); una especificidad del 100% para detectar a donantes de sangre libres de anticuerpos (*No Reactivos*). La probabilidad de que un donador reactivo a *T. cruzi* realmente tenga la enfermedad de Chagas es de 100% (VPP) y la probabilidad de un no reactivo de estar libre de la enfermedad es de solo 13,0%(VPN).

Tabla 5. Análisis y evaluación de la prueba BioFlash Chagas Biokit (QLM) frente a IFIFLUOR Chagatest de Wiener (IFI) en el CETS Chiapas, 2015

Bioflash Chagas Biokit (QLM)	IFI FLUOR Chagatest WIENER (IFI)		Total
	Positivo	Negativo	
Reactivos	67	201	268
No Reactivos	0	30	30
Total	67	231	298

QLM: Quimioluminiscencia; IFI: Inmunofluorescencia indirecta

El acuerdo esperado estadísticamente entre las dos pruebas era de 28,0%, el análisis en éste estudio arrojó un acuerdo de 32,0% con solamente un 60,3% del acuerdo esperado para los verdaderos positivos. Con base en la clasificación de *Landis y Koch*

(1997); la prueba *BIOFLASH Chagas* y la prueba IFIFLUOR Chagatest Wiener presentaron una concordancia insignificante como pruebas diagnósticas, debido a que el valor del Índice Kappa de concordancia fue de 0.1 (Tabla 6).

Tabla 6. Comparación entre la prueba de tamizaje *BioFlash Chagas* BioKit y la confirmatoria IFIFLUOR Chagatest de Wiener, en el CETS Chiapas; 2015.

Parametro de evaluación	Bioflash Chagas (QLM)	Chagatest Wiener (IFIFLUOR)	Evaluación (%)
Sensibilidad (S)	99.0	98.0	25,0
Especificidad (E)	99.7	100.0	100,0
Valor predictivo positivo (VPP)	-	-	100,0
Valor predictivo negativo (VPN)	-	-	13,0
Acuerdo esperado de positivos (AEP)	-	-	60,3
Acuerdo esperado de negativos (AEN)	-	-	23,3
% Acuerdo esperado de la prueba (%AE)	-	-	28,0
% Acuerdo observado de la prueba (%AO)	-	-	32,6
Estadístico Kappa "Concordancia" (k)		0,1	

Fuente: elaboración propia

QLM= Quimioluminiscencia

IFIFLUOR= Inmunofluorescencia indirecta

CETS= Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea

CAPÍTULO 6

DISCUSIONES

El CETS Chiapas, se inaugura en agosto del 2010, en lo que hoy son las nuevas instalaciones, generando una productividad promedio de 10,500 unidades anuales (ingresos y egresos, 2010). A principios del año 2012, se crea un equipo de trabajo para diseñar e implementar un sistema de gestión de calidad (SGC) en base a la norma Internacional ISO 9001. Durante nueve meses se establecieron los criterios y los procedimientos normalizados para gestionar y garantizar la calidad y seguridad de los productos sanguíneos obtenidos, así como un sistema de hemovigilancia que comprende desde la atención del donador de sangre hasta la utilización y riesgos que conlleva la transfusión en el paciente o receptor.

A finales del 2012, se evalúa ese SGC por una entidad certificadora internacional y se obtiene el certificado de calidad ISO 9001, donde se demuestra la calidad en la atención de los usuarios (manual de organización CETS, 2012) y se observa que el CETS, durante los cuatro años siguientes, incrementó en más del 85,0% su captación de donadores de sangre, lo que con ello incrementó también la oportunidad de identificar más casos reactivos y positivos confirmados de la mayoría de los agentes infecciosos tamizados a los donantes. Entre ellos Chagas, que en 2012 de 18,215 donaciones se detectaron 68 casos reactivos (0,37%), en 2013 de 29,806 hubo 153 casos (0,51%), en 2014 se captó 31,706 donadores y se identificaron 160 casos (0,50%), y finalmente en 2015 de 33,860 donantes resultaron 268 casos reactivos (0,79%). Si bien en el 2015 se confirmaron menos comparado a los casos reactivos, esto corresponde a la instalación y puesta en operación del nuevo equipo de Quimioluminiscencia *BIOFLASH Chagas*, el cual como analizaremos más adelante tiene una especificidad analítica del 100%.

La donación de sangre en el CETS se debe en su mayoría (90%) al sexo masculino, el cual es la población con mayor cumplimiento de los criterios de donación, a diferencia del sexo femenino, donde el criterio de números de embarazos de 2 o más por la NOM-253-SSA1-2012, es el principal factor para ser descartadas por la aloimmunización que se genera en cada embarazo; en Chiapas de acuerdo a los datos de la CONAPO del 2015, el promedio de embarazos para cada mujer es de 2.63 hijos. En éste trabajo se observó la donación de sangre en una relación de 1:9, es decir, por cada mujer donan

nueve hombres y la edad promedio es de 31,5 años (indicadores de calidad CETS, 2015). La donación de sangre en Chiapas y a nivel nacional, es un campo de suma importancia para estudiar a la población masculina, en los aspectos de salud, comportamientos y estilos de vida, lo cual permite conocer a ésta población y establecer criterios de donación que permitan un mejor aprovechamiento y control de los productos sanguíneos, y respecto a la población femenina, es aún más importante analizar y establece programas o políticas de salud para aumentar la captación de sangre en éste grupo poblacional.

La reactividad a infección por *T. cruzi* experimentó un aumento durante el periodo en estudio (2012-2015) conforme la captación de donantes se incrementó. Éste comportamiento se observa en todos los puestos de sangrado ubicados en los diferentes puntos del Estado de Chiapas, de acuerdo al informe mensual de ingresos y egresos en los años de estudio. Sin embargo, en el 2015, año en que el sistema *BIOFLASH Chagas* se instala, se observa que hay una mayor reactividad a éste agente infeccioso, pero su confirmación es mucho más baja respecto a los años anteriores. Es en esta punto donde radica la importancia de la evaluación de la prueba cada que se instala y pone en marcha un nuevo equipo de laboratorio especialmente en el diagnóstico de enfermedades infecciosas.

Respecto a la caracterización epidemiológica de los casos de Chagas en los donantes de sangre como resultado de éste estudio, analizando dos estudios publicados sobre anticuerpos para *T. cruzi* realizados en donadores de sangre en 1991 por *Ramos-Echavarría y Col.*, y otro en el 2001 por *Ramos-Ligonio y Col.*, realizados en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez en la Ciudad de México DF y el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en Orizaba Veracruz, con 1,076 y 420 donadores respectivamente, arrojaron una reactividad de 18 positivos (1,68%) y 2 casos (0,48%) en cada estudio, el grupo de edad con mayor afectación fue entre los 20 a 35 años, los cuales son muy parecidos a los que se obtuvieron en éste trabajo de investigación, donde el rango de edad con mayor casos es de los 23 a 32 años y la edad promedio de donantes con enfermedad de Chagas es de 35,1 años, la prevalencia obtenido fue de 0,28% (IC; 0,25 – 0,31) con una incidencia de 23,24 casos por cada 10,000

donaciones. La diferencia entre los estudios mencionados y el trabajo realizado, radica en que nuestro estudio utiliza los casos confirmados con un equipo automatizado evaluado y validado contra una prueba estándar que permite observar las variabilidades analíticas (control de calidad interno, externo) y biológicas (sexo, edad, ocupación), el cual es de relevancia médica y requisito de normas internacionales como la ISO 15189 (Terrés-Speziale, 2003).

De igual manera *Blanco-Arreola FG y Col.*, en un estudio realizado a 3,345 donadores de sangre en un hospital de San Cristóbal de Las casas Chiapas, durante los años 2014 y 2015; observó que el grupo etario con mayor afectación es de 26 a 45 años con una prevalencia de 1,2%; cabe mencionar que los datos analizados en ese estudio corresponden a los obtenidos por primera instancia al tamizaje y no a los confirmados. Por normatividad (nacional e internacional), todos los bancos de sangre tamizan a los donantes de sangre y aquellos que se identifican como Reactivos, deben ser confirmados mediante una prueba suplementaria o complementaria que permita catalogar a ese donante reactivo como un verdadero positivo, por tanto, las prevalencias e incidencias de casos de agentes infecciosos transmisibles por transfusión deben representar a casos confirmados.

Ahora bien, analizando las variables de productos sanguíneos, la escolaridad, ocupación y el estado civil de los donantes; observamos que en éste estudio, como en todo banco de sangre, que el producto sanguíneo con mayor donación es el de sangre total (98,5%), seguido por las plaquetas (1,5%) obtenidas por aféresis (CNTS, 2013). Los concentrados eritrocitarios (CE) provenientes de la sangre total junto al plasma fresco congelado (PFC), son los productos sanguíneos más utilizados en la práctica médica, en cirugías, trasplantes, exanguinotransfusiones, infecciones, entre otros (OMS, 2001). Respecto al nivel de escolaridad, el 69,8% de la población participante cuenta con un nivel básico (primaria y secundaria), así también el 60,5% se encuentra empleado en un oficio y el 48,1% declaró estar casado. De acuerdo a lo anterior, identificar la reactividad a Chagas, confirmar la infección, determinar el tipo de producto sanguíneo donado y transfundido, si el donante tiene esposa, hijos, vive solo o acompañado, entre otras, permite analizar tanto al individuo como a su entorno

familiar, con el fin de buscar más casos sospechosos principalmente los congénitos o los transmitidos por el propio vector, identificando factores de riesgo como hospitalizaciones previas con transfusiones, sintomatologías características a la enfermedad, las condiciones de vivienda y estilos de vida, recordando que ésta enfermedad es atribuible a la pobreza y marginación (OMS, 2002).

Respecto al análisis sobre el riesgo residual de transmisión de Chagas, tal y como ya se expresó en apartados anteriores, existen tres formas publicadas para este fin. La primera es la propuesta por el Dr. JA Cerisola en 1972, donde analiza el número de transfusiones realizadas por los hospitales, el segundo también propuesto por Cerisola pero 10 años más tarde, en 1982, donde considera la prevalencia de la enfermedad, la incidencia por cada 10,000 donaciones y el periodo de ventana del agente transmisible; y la tercera forma es la relación entre el número de casos infectados confirmados y la donación total de sangre. Estas formas de análisis de riesgo, por si solo son datos aislados, pero en conjunto permiten realizar un diagnóstico situacional sobre el uso, manejo, abuso y seguridad de las transfusiones sanguíneas en los hospitales e implementar mejoras en la hemovigilancia (cadena transfusional desde la obtención hasta la transfusión) dentro de los bancos de sangre.

A nivel mundial se han realizado estudios de riesgo residual de transmisión de agentes patógenos por transfusión pero principalmente para VIH, hepatitis B y C; sin embargo son escasos los estudios que consideran éste riesgo para Chagas, los cuales no son recientes. Por ejemplo en 1993, se reportó para América Latina que en Bolivia se presentaba el mayor riesgo de recibir una unidad infectada por *T. cruzi*, seguida por Colombia, El Salvador y Paraguay; donde el riesgo de transmisión era de 1:45, 1:126, 1:286 y 1:526 donaciones de sangre (Schmuñis GA, 1999).

Por otra parte, en cuanto a la normatividad que establecen los criterios para el procesamiento y uso de la sangre en función a las enfermedades endémicas, para el caso de América, a excepción del Salvador y Nicaragua, todos los países poseen leyes. Sin embargo, la migración a zonas urbanas ha generado que exista un 60% más de riesgo de infección por Chagas, por tanto en países no endémicos de ésta enfermedad

como EUA, Canadá, Australia, Japón y otros de Europa, no se están obligados normativamente a realizar la serología para *T.cruzi*, aumentando drásticamente el riesgo de transmisión a medida que aumentan las transfusiones sanguíneas. En la actualidad con la modernización y el avance tecnológico, esos riesgos deberían estar más controlados e implementados los sistemas de hemovigilancia con mayor eficacia, pero el uso indiscriminado y las transfusiones masivas hacen que éste riesgo persista o aumente cada vez más (Thomas MC y Col., 2010).

En México no hay datos recientes sobre riesgo de transmisión de Chagas por transfusiones de sangre, solamente un estudio realizado en 1995 y publicado en la *Revista Biomédica*, realizada en donantes de sangre de un Hospital de Yucatán donde se concluyó que el riesgo de transmisión obtenido empleando la fórmula propuesta por Cerisola de 1972 fluctuó entre 5,60% y 68,3%, dependiendo del número de transfusiones recibidas, que en el hospital estudiado varió de 1 a 20 por paciente (Rodríguez-Felix EA y Col, 1995), comparando esos datos de hace más de dos décadas, para Chiapas en el año de estudio, 2015, existe el 16% de probabilidad de transmisión de Chagas. Por tanto, ésta tesis demuestra como las transfusiones masivas aumentan el riesgo residual de transmisión de la enfermedad.

En Chiapas no existen datos publicados o estudios que se hayan realizado para analizar el riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas. Éste trabajo identificó que el riesgo de transmisión es de 60,0% (Cerisola, 1972) calculado en los últimos 4 años (2012-2015), solo para 2015 fue de 16% y 6,97 por cada 100,000 donaciones (Cerisola, 1982) o 1 por cada 354 transfusiones realizadas y que cuando aumenta el número de transfusiones, en muchas ocasiones no necesarias, aumenta el riesgo de transmitir Chagas u otras enfermedades.

Estos datos deben ser notificados a cada puesto de sangrado y aquellos hospitales que realizan transfusiones masivas a consecuencias de cirugías mayores o traumatismos complejos donde a cada paciente le transfunden entre 20 a 25 unidades durante la intervención quirúrgica más las requeridas durante la estancia de recuperación o

convalecencia hospitalaria, con el fin de tomar medidas de riesgo-beneficio o alternativas de transfusión que permitan mayor seguridad y evitar infectar a los pacientes.

Es la primera vez que se lleva a cabo un trabajo de investigación utilizando dos pruebas diagnósticas; una de tamizaje y otra confirmatoria, así como el análisis del número de transfusiones promedio por los hospitales de mayor concentración, involucrándose dos establecimientos del Instituto de Salud del estado de Chiapas, el Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea y el Laboratorio Estatal de Salud Pública. También es el primer estudio en el estado, que permite evaluar una prueba diagnóstica de suma importancia en el tamizaje serológico de población donante de sangre, comparar los resultados obtenidos a las condiciones de nuestras instalaciones, operatividad y soporte técnico, que el fabricante emite en sus cartas u hojas de seguridad de los reactivos, con ellos tomar decisiones al momento de contratar el servicio de un proveedor y la adquisición de un equipo automatizado.

Los fabricantes del equipo automatizado *BIOFLASH Chagas* indican a través de estudios realizados con donadores negativos y positivos a Chagas, que el reactivo tiene una Sensibilidad del 99,0% y una especificidad de 100%, sin embargo nuestro estudio demuestra que posee un 25% de capacidad para detectar a los enfermos pero 100% de detectar a los sanos. El equipo Bioflash desde su instalación y puesta en marcha en las instalaciones, presentó un mayor aumento en la identificación de casos reactivos para Chagas, el cual ameritaba una evaluación; sin embargo la causa principal identificada fue la presencia de lipemia o turbiedad y hemolisis de las muestras, al tratarse de una tecnología muy sensible, cualquier partícula presente en la muestra era motivo de una emisión relativa de luz y una absorbancia igual o mayor al punto de corte de la prueba.

En los bancos de sangre, de acuerdo a recomendaciones emitidas por la OMS y la NOM-253-SSA1-2012, se requiere que los equipos y metodologías sean capaces de detectar a las personas libres de la enfermedad. Evaluar una prueba diagnóstica, no se limita solo a la Sensibilidad y Especificidad, sino también a conocer los valores

predictivos y concordancias con otras pruebas (índice kappa), requerimientos que los fabricantes de reactivos no realizan, o al menos eso se interpreta ya que no aparecen en los insertos o fichas técnicas de los equipos, sin embargo no están obligados a plasmar dicha información pues la norma oficial solamente les exige la sensibilidad, la especificidad, la impresión y exactitud de sus ensayos. En éste trabajo se analizó además el VPP (100%), que nos indica la eficacia de la prueba Bioflash con un alto grado de probabilidad de ser confirmado por una prueba estándar, en cambio el VPN para el Bioflash nos permite decir que solamente el 13% de los donantes no reactivos deberían ser confirmados.

El índice o coeficiente Kappa es un valor que permite determinar la concordancia entre dos pruebas u observaciones distintas, a través de los porcentajes observados y los esperados que analizan el total de los casos positivos y negativos de la prueba 1 (tamizaje) y la prueba 2 (confirmatoria) en función a los verdaderos positivos y verdaderos negativos. En éste trabajo de investigación el valor kappa resultante fue de 0.1, que de acuerdo a la escala establecida por Landis y Koch en 1977 corresponde a un grado insignificante entre la prueba de quimioluminiscencia (BIOFLASH) y la inmunofluorescencia indirecta (IFIFLUOR CHAGAS TEST). Esto sucede cuando una prueba posee un alto número de falsos positivos o negativos; la prueba BIOFLASH es muy sensible por lo que los falsos positivos son muy comunes. En medicina transfusional, en lo que respecta a serología infecciosa los falsos positivos es bueno pero no los falsos negativos, por tanto, a pesar de no existir buena concordancia se logran identificar a los verdaderos positivos a la enfermedad de Chagas.

Para éste estudio se tomaron en cuenta diversos factores que podrían afectar los resultados, tales como la calidad de las muestras, donde se incluyeron aquellas que libre de lipemia, ictericia y hemolisis; el mantenimiento del equipo *Bioflash*, el número de lote de los controles y reactivos, los turnos y analistas que procesaron las muestras, lo cual esto se controla a través del manual de procedimiento del área de serología infecciosa así como contar con el personal que maneje el equipo, únicamente los que fueron capacitados para su operación por el proveedor del equipo.

Cabe mencionar, que factores como el manejo de las muestras para su confirmación en el laboratorio de referencia, estuvieron fuera de nuestro control, pero el hecho de ser un laboratorio de calidad acreditado en sus procesos en las normas ISO y contar con equipo altamente capacitado permitió validar los resultados emitidos.

En éste estudio se analiza solamente un agente infeccioso trasmisible por transfusión (Chagas), desde el comportamiento epidemiológico en una población aparentemente sana (donadores de sangre), pasando por el riesgo de transmisión en función al número de casos confirmados y el número de transfusiones, hasta la evaluación de la metodología y tecnología aplicada en el laboratorio bajo estrictas normas de calidad y seguridad, sin embargo falta analizar en función a los demás agentes infecciosos que pueden transmitirse por productos sanguíneos, los cuales son temas de investigación a futuro para conocer la realidad en cuanto a seguridad sanguínea en el Estado de Chiapas y que permitan a futuro diseñar e implementar un sistema de hemovigilancia eficaz y eficiente.

CAPÍTULO 7
CONCLUSIONES Y
RECOMENDACIONES

La enfermedad de Chagas es un problema grave de salud pública y de mucha atención en la población donante. Éste trabajo de investigación demuestra la importancia de un seguimiento epidemiológico eficaz a los donantes de sangre positivos confirmados, el número de transfusiones realizadas en los hospitales y desde luego a la familia del donante y receptor.

De igual manera, los resultados de éste estudio ponen en evidencia que el 44,2% (125 casos) de los donantes reactivos a *T. cruzi*, pertenecen a población joven y en edad productiva (23 a 32 años de edad) y el 48,1% (129 casos) están casados y con hijos.

En el periodo que se incluyó para el estudio (2012 a 2015), la identificación de casos nuevos de enfermedad de Chagas fue en aumento, 22,2 casos por cada 10,000 donantes efectivos (95% IC; 22.9 – 23.5 por cada 10,000 donantes).

La prevalencia de la enfermedad ha manifestado una tendencia a la alta a cómo va en aumento la captación de donantes efectivos, 0,28% en el periodo de estudio (95% IC; 0.25 – 0.31), comparado con la prevalencia estatal en población abierta de 12,75% y a nivel nacional de 4,91%, datos según A. Carabarin-Lima y Cols (2013).

La prevalencia de Chagas en el estado de Chiapas es de 0,28%, el riesgo de transmisión en función a los casos nuevos por cada 10,000 donaciones es de 6,76, equivalente a 1 unidad por cada 354 transfusiones realizadas. Éste último dato es alarmante considerando a Chiapas un estado líder a nivel nacional en donación voluntaria, así también como uno de los estados con un Banco de Sangre modelo a nivel nacional.

Finalmente podemos observar que la tecnología *BioFlash* (Quimioluminiscencia) que se realiza para tamizar a los donantes en el CETS posee una capacidad de detectar a los donantes con Chagas fue solamente del 25,0%, pero solo 100% de detectar a los verdaderos sanos. De acuerdo a la prevalencia de la enfermedad, la probabilidad de ser confirmado Positivo es de 100% (VPP). La prueba de tamizaje, tiene una insignificante

concordancia (0.00 – 0.20) con la valoración del coeficiente kappa de Landis y Koch, 1977 ($k=0.10$), por lo que se evidencia nuevamente que antes de introducir y poner en marcha un equipo de laboratorio para bancos de sangre, deben ser evaluados desde su calificación con equipos hasta la validez y seguridad en los resultados emitidos en función a una prueba estándar o de oro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón de Noya, B., Díaz-Bello, Z., Colmenares, C., Ruíz-Gueara, R., Mauriello, L., Zalvala-Jaspe, R., Suarez, J. A., Abate, T., Natanjo, L., Paiva, M., Rivas, L., Castro, J., Márquez, J., Mendoza, I., Acquatella, H., Torres, J., Noya, O. 2010. Large urban outbreak of orally acquired acute Chagas disease at a school in Caracas, Venezuela. *J. Infec. Dis.* 201:1308–1315.
- Almeida, D. R., Carvalho, A. C., Branco, J. N., Pereira, A. P., Correa, L., Vianna P. V., Buffolo, E., Martinez, E. E. 1996. Chagas' disease reactivation after heart transplantation: efficacy of allopurinol treatment. *J. Heart. Lung. Transplant.* 15: 988-992.
- Ángeles Chimal JS, 2014. Detección del linaje TC-II de *Trypanosoma cruzi* en Donadores de Sangre Humana del Estado de Morelos, Trabajolibre en XIII Congreso Internacional de AMMTAC, Cancún, Quintana Roo 2015
- Werner A, Heitmann G, Ingrid, Jercic L, M. Isabel, Jotré M, Leonor, Muñoz C. del V, Patricia, Noemí H, Isabel, San Martin V, Ana M, Sapunar P, Jorge, Torres H, Marisa, & Zulantay A, Inés. (2008). Guías clínicas de la enfermedad de Chagas: Parte IV. Enfermedad de Chagas en pacientes inmunocomprometidos. *Revista chilena de infectología*, 25(4), 289-292.
- Arner, E., Kindlund, E., Nilsson, D., Farzana, F., Ferella, M., Tammi, MT., Andersson, B. 2007. Database of *Trypanosoma cruzi* repeated genes: 20,000 additional gene variants. *BMC Genomics.* 8: 391.
- Bacal, F., Silva, C. P., Pires, P. V., Mangini, S., Fiorelli, Al., Stolf, N. G., Bocchi, E. A. 2010. Transplantation for Chagas' disease: an overview of immunosuppression and reactivation in the last two decades. *Clin. Transplant.* 24: E29-34.
- Barnabé, C., Brisse, S., Tibayrenc, M. 2000. Population structure and genetic typing of *Trypanosoma cruzi*, the agent of chagas disease: a multilocus enzyme electrophoresis approach. *Parasitol.* 120: 513-526.
- Barrera-Pérez, M. A., Rodríguez-Félix, Ma. E., Guzmán-Marín, E., Zavala-Velázquez, J., Dumonteil, E. 2001. Biological behaviour of three Straits of *Trypanosoma cruzi* from Yucatan, Mexico. *Revista Biomedica.* 12: 224-230.

- Beltrán, M., Bermúdez, M., Forero, M., Ayala, M. 2005. Control de la infección por *Trypanosoma cruzi* en donantes de sangre de Colombia. *Biomédica* 25: 527- 532.
- Bellotti, G., Bocchi, E. A., de Moraes, A. V, Higuchi, M. L., Barbero-Marcial, M., Sosa, E., Esteves-Filho, A., Kalil, R., Weiss, R., Jatene, A., Pileggi, F. 1996. In vivo detection of *Trypanosoma cruzi* antigens in hearts of patients with chronic Chagas' heart disease. *Am. Heart. J.*131:301-307.
- Benvenuti, L. A., Rogério, A., Sambiase, N. V., Fiorelli, A., Higuchi, Mde. L. 2005. Polymerase chain reaction in endomyocardial biopsies for monitoring reactivation of Chagas' disease in heart transplantation: a case report and review of the literature. *Cardiovasc. Pathol.* 14:265-268.
- Bern, C., Montgomery, S. P., Katz, L., Caglioti, S., Stramer, S. L. 2008. Chagas disease and the US blood supply. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 21: 476- 482.
- Blanco, S. B., Segura, E. L., Cura, E. N., Chuit, R., Tulián, L., Flores, I., Garbarino, G., Villalonga, J. F., Gürtler, R. E. 2000. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: an operational outline for detecting and treating infected infants in northwestern Argentina. *Trop. Med. Int. Health.* 5:293-301.
- Blanco-Arreola FG, Nájera-Ortiz JC, Ruíz-Balbuena F (2018). Frecuencia de serorreactividad a chagas en un hospital de Chiapas, México. *Rev Salud Publica Nutr.*;17(1):1-6.
- Blejer JL. 2002, Riesgo de transmisión de infecciones por vía transfusional. Buenos Aires Argentina, *MEDICINA (Buenos Aires)* 62: 259-278
- Bochi, E. A., Fiorelli, A. 2001. The paradox of survival results after heart transplantation for cardiomyopathy caused by *Trypanosoma cruzi*. First Guidelines Group for Heart Transplantation of the Brazilian Society of Cardiology. *Ann. Thorac. Surg.* 71:1833-1838.
- Botero, D., Restrepo, M. 2003. *Parasitosis humanas*, 4a Edición. CIUB Medellín, Colombia, pp:506.
- Brener, Z. 1994. The pathogenesis of Chagas disease: An overview of current theories in Chagas disease and nervous system. Panamerican Health Organization Scientific Publication 547: 30-46.

- Brisse, S., Dujardin, J. C. y Tibayrenc, M. 2000. Identification of six *Trypanosoma cruzi* lineages by sequence-characterized amplified region markers. *Mol. Biochem. Parasitol.* 111: 95-105.
- Brisse, S., Verhoef, J. y Tibayrenc, M. 2001. Characterization of large and small subunit rRNA and mini-exon genes further supports the distinction of six *Trypanosoma cruzi* lineages. *Int. J. Parasitol.* 31: 1218-1226.
- Camandaroba, E. L., Pinheiro Lima, C. M., Andrade, S. G. 2002. Oral transmission of Chagas disease: importance of *Trypanosoma cruzi* biotopes in the intragastric experimental infection. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 44: 97- 103.
- Campell, D. A., Westemberger, S. J., Sturm, N. R. 2004. The determinants of Chagas disease: connecting parasite and host genetics. *Curr. Mol. Med.* 4: 549-562.
- CANAPO (2015). Consejo Nacional de Población. Perfiles de salud reproductiva Chiapas. Disponible en http://www.conapo.gob.mx/work/models/CONAPO/perfiles_salud_reproductiva_estados/Perfiles_SR_07_CS.pdf
- Capps L, Begoña A. (2004). Chagas cardiomyopathy and serological testing in a small rural hospital in Chiapas, Mexico. *Pan Amer J Health*;15:337-340.
- Centros para control de enfermedades infecciosas CDC, 2016. Diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Disponible en: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/es/hcp/diagnostico.html>,
- Cerda JL y Villarroel PL (2008). Evaluación de la concordancia inter-observador en Investigación pediátrica: Coeficiente de Kappa. *Revista Chilena de Pediatría* 79(1):54-58
- Cerisola J, Rabinovich A, Alvarez M, Di Corleto C, Pruneda J. Enfermedad de Chagas y la transfusión de sangre. *Bol Of Sanit Panam*; 73:203-221
- Chagas, C. (2009). "Nova trypanozomíaze humana. Estudos sobre a morfologia e ciclo evolutivo do *Schizotripanum cruzi* n. gen. n. sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem." *Mem Inst Oswaldo Cruz*;1(2):159-218).
- CNTS (2013). Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea. Programa de acción específico 2013-2018, Disponible en: <http://cnts.salud.gob.mx/descargas/transfusionsanguineaversion5.pdf>

- Corredor, A., Santacruz, M, M., Paez, S. y Guatame, L.A. 1990. Distribución de los triatomos domiciliados en Colombia. Eds. Ministerio de Salud e Instituto Nacional de Salud, Bogotá, pp. 9-144.
- Coura, J. R. 2006. Transmission of chagasic infection by oral route in the natural history of Chagas disease. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 39: 113- 117.
- D'Alessandro, A., Saravia, N. 1999. *Trypanosoma rangeli*. In: Gilles, H.M. eds. *Protozoal Diseases*. Vol.1, Arnold Publisher, London, U.K, pp. 398-412.
- Devera, R., Fernandes, O., Coura, JR. 2003. Should *Trypanosoma cruzi* be called "cruzi" complex? A review of the parasite diversity and the potencial of selecting population after in vitro culturing and mice infection. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 98:1-12.
- Dirección General de Epidemiología-SOSA. Compendio de anuarios de morbilidad 1984-2006 [base de datos en línea]. Disponible en: <http://www.dgepi.salud.gob.mx/infoepi/index.htm>
- Dis. 43: 39-43.
- Dorn, P.L., Engelke, D., Rodas, A., Rosales, R., Melgar, S., Brahney, B., Flores, J. y Monroy, C. 1999. Utility of polymerase chain reaction in detection of *Trypanosoma cruzi* in Guatemalan Chagas disease in vectors. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 60: 740-745.
- Dorn, P.L., Engelke, D., Rodas, A., Rosales, R., Melgar, S., Brahney, B., Flores, J. y Monroy, C. 1999. Utility of polymerase chain reaction in detection of *Trypanosoma cruzi* in Guatemalan Chagas disease in vectors. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 60: 740-745.
- El-Sayed, N.M., Myler, P.J., Bartholomeu, D.C., Nilsson, D., Aggarwal, G., Tran, A.N., Ghedin, E., Worthey, E.D., Delcher, A.L., Blandin, G., Westenberger, S.J., 2005. The genome sequence of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas disease. *Science.* 309: 409-415.
- Freilij, H., Altcheh, J. Congenital Chagas disease: diagnostic and clinical aspects 1995. *Clin Infect Dis.* 21: 551- 555.
- Galvao, C., Carcavallo, R. U., Rocha, D. S. y Jurberg, J. 2003. A check-list of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919, (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa.* 202: 1-36.

- Gaunt, M., Miles, M. 2000. The ecotopes and evolution of triatomine bugs (triatominae) and their associated trypanosomes. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 95:557-565.
- Goldsmith R, Zarate R, Kagan I, Cedeño- Ferreira J, Galindo-Vasconcelos M, Paz E. (2008); El potencial de la transmisión en la enfermedad de Chagas por transfusión sanguínea: hallazgos serológicos entre donadores en el Estado de Oaxaca. *Salud pública Mex;* 20:439-444.
- Gómez, E. A., Senior, J. M., Vélez, S., Navarrete, S., Sánchez, D., Roa, N. L., Franco. C., Trout, G., Quintero, A., García, E., Negrete, A., Duque, M., Marí, J., Medina, L., Uribe, W., Granados, P., Martínez, S. 2007. Guías colombianas sobre la evaluación y el manejo de la falla cardíaca crónica del adulto. *Rev. Col. Cardiol.* 14: 13-50.
- Gómez-Hernández, C., Rezende-Oliveira, K., Nogueira-Nascentes, G. A., Rocha-Batista, L., Borgues-Kappel, H., Martínez-Ibarra, J. A., Trujillo-Contreras, F., Lages-Silva, E., Ramírez, L. E. 2011. Molecular characterization of *Trypanosoma cruzi* Mexican strains and their behavior in the mouse experimental model. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 44 (6): 684-690.
- Grisard, E. C., Campbell, D. A., Romanha, A. J. 1999. Mini-exon gene sequence polymorphism among *Trypanosoma rangeli* strains isolated from distinct geographical regions. *Parasitol.* 118: 375-382.
- Guhl, F., Nicholls, S. 2001. Manual de procedimientos para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Guhl, F., Nicholls, S eds. Universidad de los Andes, CIMPAT. Santa Fe de Bogotá, Colombia, pp 19-63.
- Guhl, F. 1998. Curso Taller sobre el Control de Tripanosomiasis Americana y Leishmaniosis: Aspectos Biológicos, Genéticos y Moleculares. F. Guhl y C. Jaramillo eds. Universidad de los Andes, CIMPAT. Santa Fe de Bogotá, Colombia, pp 1-4.
- Gutiérrez, R., Angulo, V. M., Tarazona, Z., Britto, C., Fernández, O. 2004. Comparison of four serological test for diagnosis of Chagas disease in a Colombian endemic area. *Parasitol.* 129: 439-444.
- Guzmán-Marín, E. del S., Barrera-Pérez, M. A., Rodríguez-Félix, M. E. 1999. Viabilidad del *Trypanosoma cruzi* en *Triatoma dimidiata* muertos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología.* 19 (3): 113-5.

- Hardwick CC, Herivel TR, Hernández SC, Ruane PH, Goodrich RP, 2004. Separation, identification and quantification of riboflavin and photoproducts in blood products using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: a method to support pathogen reduction technology. *Photochem photobiol.* 80:609-15.
- Hecht, M.M., Nitz, N., Araujo, P.F., Sousa, A.O., Rosa, A., Gomes, D.A., Leonardecz, E., Teixeira, A.R. 2010. Inheritance of DNA transferred from American trypanosomes to human hosts. *Plos One* 5, e9181.
- Hotez PJ, Dumonteil E, Heffernan MJ, Bottazzi ME. (2013). Innovation for the 'bottom 100 million': eliminating neglected tropical diseases in the Americas. *Adv Exp Med Biol.* 764:1-12.
- Hotez, P.J., Fenwick A., Savioli, L., Molyneux, D.H., 2009. Rescuing the bottom billion through control of neglected tropical diseases. *Lancet.* 373: 1570-1575.
- Indicadores de calidad (2015). Reportes a la dirección del SGC. Banco de Sangre Dr. Domingo Chanona Rodríguez, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México
- Informes de ingreso y egreso (2010). Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea. Concentrado mensual y anual de ingresos y egresos para CNTS. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.
- Instituto de Salud del Estado de Chiapas, Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea y Banco de Sangre Dr. Domingo Chanona Rodríguez, Informes de Ingresos y Egresos de sangre y sus componentes, 2010-2014.
- Jiménez, Ma. L. y C. Palacio. 1999. Incidencia de la chinche piedrera (*Dipetalogaster maximus*) (Hemiptera: Heteroptera: Reduviidae) vector de *Trypanosoma cruzi* en zonas urbanas de La Paz, Baja California Sur, México. *Anales del Instituto de Biología. Serie Zoología.* 70 (2): 215-221.).
- Kuschnir, E., Sgammini, H., Castro, R., Evequoz, C., Ledesma, R., Brunetto, J. 1985. Evaluación de la función cardíaca por angiografía radioisotópica, en pacientes con cardiopatía crónica chagásica. *Arq. Bras. Cardiol.* 45: 249-256.
- López EA et al 2001. *Medicina preventiva y salud pública.* Piedrola Gil, 10ª edición, Barcelona, España; Masson; disponible en: http://cv.uoc.edu/UOC/a/moduls/90/90_166d/web/main/m4/21d.html

- Lorca, M. 2005. Enfermedad de Chagas transplacentaria en América Latina. Experiencias de intervención en Chile. En: Primer Taller Internacional Sobre Control de la enfermedad de Chagas, Curso de Diagnóstico, Manejo y Tratamiento de la Enfermedad de Chagas, VI Reunión de la Iniciativa Andina para el Control de la Enfermedad de Chagas. Guhl, F. ed., Corcas Editores, Bogotá, Colombia, pp 237 - 240.
- Luquetti, A. O., Dias, J. C., Prata, A. 2006. Diagnosis and treatment of congenital infection caused by *Trypanosoma cruzi* in Brazil. *Parasitol. Res.* 99:379-383.
- Maguire, J. 1999. Chagas disease, clinical features, diagnosis and treatment en Gilles H, Protozoal Diseases. Editorial Arnold. New York, USA, pp: 336-350.
- Manual de Organización (2012). Banco de Sangre Dr. Domingo Chanona Rodríguez, equipo de trabajo del SGC, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México
- Marcon, G. E., Andrade, P. D., de Albuquerque, D. M., Wanderley Jda, S., de Almeida, E. A., Guariento, M. E., Costa, S. C. 2002. Use of a nested polymerase chain reaction (N-PCR) to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients and patients with doubtful serologist. *Diagn. Microbiol. Infect.*
- Martínez-Ibarra JA, Salazar_Schettino PM, and Córdoba-Aguilar A. (2016). Relationships between altitude, triatomine (*Triatoma dimidiata*) immune response and virulence of *Trypanosoma cruzi*, the causal agent of Chagas disease. *Medical and Veterinary Entomology*. doi: 10.1111/mve.12198
- Mazariego-Arana MA, Monteón-Padilla VM, Ballinas-Verdugo M, Hernández-Becerril N, Alexandre-Aguilar R, Reyes PA. (2001); Seroprevalence of human *Trypanosoma cruzi* infection in different geographical zones of Chiapas, México. *Rev Soc Bras Med Trop*;34:453-458
- Mazzotti L, 1936, Investigación sobre la existencia de la enfermedad de Chagas en el país. Demostración de los tripanosomas en los reduvídeos transmisores. *Med Mex.*282 (16) ,584-585.).
- Miles M. A, Lanham S. M, Souza A. A. y Pova M. 1980. Further enzymic characters of *Trypanosoma cruzi* and their evaluation for strain identification. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 74:221-237.

- Miles M.A, Toye P.J, Oswald S.C. y Godfrey D.G. 1977. The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain-groups of *Trypanosoma cruzi* circulating in a rural area of Brazil. *Trans. R. Soc. Med. Hyg.* 71: 217-225.
- Miles, M. A. 1999. Chagas Disease, The Agent. En Gilles H, *Protozoal Diseases*. Editorial Arnold. New York, USA, pp 313-322.
- Ministerio de sanidad de servicios sociales e igualdad de España, 2004. Cuestionario unificado de selección de donantes de sangre y componentes sanguíneos. P:28-31. Disponible en: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludpublica/medicinatransfusional1/acuerdos/docs/cuestionariounificado.pdf>
- Molina, J. A., Gualdrón, L. E., Bochero, H. L., Olano, V., Barrios, D., Molina, J. A., Gulh, F. 2000. Revisión de la distribución actual e importancia epidemiológica de las especies de triatominos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia. *Biomédica* 20:344-360.
- Molina-Garza, G. J., Rosales-Encina, J. L., Galaviz-Silva, L., Molina-Garza, D. 2007. Prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en triatominos silvestres de Nuevo León, México. *Salud Pública de México.* 49: 37-44.
- Moncayo, A. 2003. Chagas Disease: current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone Countries. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 98: 577-591.
- Moser, D. R., Kirchoff L.V., Donelson, J. E. 1989. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 27:1477-1482.
- Murthy, V. K., Dibbern, K. M. y Campbell, D.A. 1992. PCR amplification of minixon genes differentiates *Trypanosoma cruzi* from *Trypanosoma rangeli*. *Mol. Cell. Probes.* 6: 273-243.
- Murthy, V. K., Dibbern, K. M. y Campbell, D.A. 1992. PCR amplification of minixon genes differentiates *Trypanosoma cruzi* from *Trypanosoma rangeli*. *Mol. Cell. Probes.* 6: 273-243.
- NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes para fines terapéuticos, DOF Noviembre 2012, México, DF

NORMA Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2010, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vector, publicado en el DOF el 01/06/2011

OMS (2017), Centro de Prensa, “La enfermedad de Chagas”, Nota descriptiva Marzo 2017, Consultado en Julio 2017 en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>

Organización Mundial de la Salud, First WHO report on neglected tropical diseases 2010: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Geneva, Switzerland: 2010

Organización Mundial de Salud (OMS). 1991. Control of Chagas disease. Technical Report Series. 811: 95.

Organización Mundial de la Salud (2001). Equipo de seguridad de transfusión de sangre. El Uso clínico de la sangre: manual de bolsillo. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42433>

Organización Mundial de Salud (OMS). 2002. Control of Chagas disease, Second report of the WHO Expert Committee, Thechnical Report Series. 905: 39-40.

Organización Mundial de Salud (OMS). 2007. Report of the Scientific Working Group on Chagas Disease. Buenos Aires, Argentina, 17-20 April 2005. Update July 2007. World Health Organization, Geneva, Switzerland. http://www.who.int/tdroid/diseases/chagas/swg_chagas.pdf

Ortega M, Beltrán-Hernández F, Zavala-Velázquez JE. Enfermedad de Chagas en Chiapas Estudios Clínicos y Epidemiológicos, Salud Publica México. 1976;28(5), 837-847.).

Pavia, P., Vallejo, G.A., Montilla, M., Nichollos, R.S., Puerta CJ. 2007. Detection of Trypanosoma cruzi and Trypanosma rangeli infection in triatomine vectors by amplification of histone H2A and sno-RNA-CL1 genes. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 49: 23-30.

Pérez A, Segura E, 1989. Transfusión de sangre y transmisión de la infección chagásica en Argentina. Rev Arg Transf 15: 127-32.

- Phan, B. A., Laflamme, M. A., Otero, A. S., Limaye, A. P, Buckner, F. S., Levy, W. C. 2006. Confirmation of Chagas' cardiomyopathy following heart transplantation. *Heart Vessels*. 21:325-327.
- Ramos-Echavarría A y Col. (1993). Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre. *Salud pública de México* 35:56-64
- Ramos-Ligonio A y Col. (2006). Prevalencia de anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* en donantes de sangre del IMSS, Orizaba Veracruz, México. *Salud pública de México* 48:13-22
- Rassi Jr, A., Rassi, A., Marin-Neto, J.A. 2010. Chagas disease. *Lancet*. 375:1388-11402.
- Rodríguez Felix MA y Col. 1995. Riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas por donantes de sangre. *Rev Biomed*; 6:70-75.
- Rohwdder R (2009). Infección chagásica en donadores de sangre y las probabilidades de trasmitirlas por medio de la transfusión. *Bol Chil Parasit*; 24:88-93.
- Rosa, R., Basnadjian, Y., Gonzalez, M. M., Gonzalez, M., Salvatella, R. 2001. Actualización clínico-epidemiológica y terapéutica de la enfermedad de Chagas en Uruguay. *Rev. Med. Uruguay*. 17:125-132.
- Rosas, F., Velasco, V.M., Jumbo, L., Rodríguez, D., Guhl, F. 2005. Cardiopatía de Chagas en: Memorias del primer taller internacional sobre el control de la enfermedad de Chagas, curso diagnóstico, manejo y tratamiento de la enfermedad de Chagas y VI reunión de la iniciativa andina para el control de la enfermedad de Chagas. Editor Felipe Guhl, CIMPAT, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia, pp 223-231.
- Rosas, F., Velasco, V.M., Jumbo, L., Rodríguez, D., Guhl, F. 2005. Cardiopatía de Chagas en: Memorias del primer taller internacional sobre el control de la enfermedad de Chagas, curso diagnóstico, manejo y tratamiento de la enfermedad de Chagas y VI reunión de la iniciativa andina para el control de la enfermedad de Chagas. Editor Felipe Guhl, CIMPAT, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia, pp 223-231.
- Salazar P, Barrera M, Bucio M, (1998); Transmisión de *T. cruzi* por transfusión sanguínea. Primer caso humano en México. *Rev Mex Patol Clinic*; 36:2-4

- Sánchez B, Monteón V, Reyes PA, Espinoza B. Standardization of microenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and Western blot for detection of *Trypanosoma cruzi* antibodies using extracts from Mexican strains as antigens. *Arch Med Res.* 2001;32:382-8.).
- Satellite Meeting. 1999. Standardization of the nomenclature of *Trypanosoma cruzi* strains. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 94: 429-432.
- Schijman, A. D., Bisio, M., Orellana, L., Sued, M., Duffy, T., Mejia, A.M., Jaramillo, N., Cura, C., Auter, F., Veron, V., Qvarnstrom, Y., Deborggraeve, S., Hajar, G., Zulantay, I., Lucero, R. H., Velazquez, E., Tellez, T., Sanchez Leon, Z., Galvão, L., Nolder, D., Monje Rumi, M., Levi, J.E., Ramirez, J.D., Zorrilla, P., Flores, M., Jercic, M.I., Crisante, G., Añez, N., De Castro, A.M., Gonzalez, C.I., Acosta Viana, I., Yachelini, P., Torrico, F., Robello, C., Diosque, P., Triana Chavez, O., Aznar, C., Russomando, G., Buscher, P., Assal, A., Guhl, F., Sosa Estani, S., DaSilva, A., Britoo, C., Luquetti, A., Ladzins, J. 2011. International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *Neglet. Trop. Dis.* 5, e931.
- Schmuñis GA, 1999. Riesgo de transmisión de Chagas a través de las transfusiones en las Américas. *MEDICINA (Buenos Aires)*; 59 (Supl. II): 125-134
- Schofield, C. J. y Dujardin, J. P. 1999. Theories on the evolution of *Rhodnius*. *Actualidades Biológicas, Medellín.* 70: 183-197.
- Silber, A. M., Bua, J., Porcel, B. M., Segura, E. L. y Ruiz, A. M. 1997. *Trypanosoma cruzi*: specific detection of parasites by PCR in infected humans and vectors using a set of primers (BP1-BP2) targeted to a nuclear DNA sequence. *Exp. Parasitol.* 85: 225-232.
- Souto, R. P, Vargas, N. Zingales, B. 1999. *Trypanosoma rangeli*: discrimination from *Trypanosoma cruzi* based on a variable domain from the large subunit ribosomal RNA gene. *Exp. Parasitol.* 91: 306-314.
- SSA (1994). Ley General de Salud de México y disposiciones complementarias. Ciudad de México, México: Editorial Porrúa.
- Sturm, N., Campell, D. A. Alternative lifestyles: The population structure of *Trypanosoma cruzi*. 2009. *Acta. Trop.* 115: 35-43.

- Subileau, M., Barnabé, C., Douzery, E. J. P., Diosque, P., Tibayrenc, M. 2009. *Trypanosoma cruzi*: new insights on ecophylogeny and hybridization by multigene sequencing of three nuclear and one maxicircle genes. *Exp. Parasitol.* 122: 328-337.
- Tanowitz, H. B., Machado, F. S., Jelicks, L. A., Shirani, J., de Carvalho, A. C., Spray, D. C., Factor, S. M., Kirchhoff, L. V., Weiss, L. M. 2009. Perspectives on *Trypanosoma cruzi*-induced heart disease (Chagas disease). 51:524-539.
- Tanowitz, H. B., Machado, F. S., Jelicks, L. A., Shirani, J., de Carvalho, A. C., Spray, D. C., Factor, S. M., Kirchhoff, L. V., Weiss, L. M. 2009. Perspectives on *Trypanosoma cruzi*-induced heart disease (Chagas disease). 51:524-539.
- Tanowitz, H.B., Kirchhoff, L. V., Simon, D., Morris, S.A., Weiss, L.M. y Withner, M. 1992. Chagas' disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 5: 400-419.
- Terrés-Speziale AM (2003). Importancia de la variabilidad biológica y de la relevancia médica en la Norma ISO-15189. *Rev Mex Patol Clin*, Vol. 50, Núm. 3, pp 118-128
- Thomas, M.C., Macias, F., Alonso, C., López, M.C. 2010. The biology and evolution of transposable elements in parasites. *Trends. Parasitol.* 26: 350-362.
- Tibayrenc, M. 1995. Population genetics of parasitic protozoa and other microorganisms. *Adv. Parasitol.* 36: 47-115.
- Tibayrenc, M. 1998. Genetic epidemiology of parasitic protozoa and other infectious agents: the need for an integrated approach. *Int. J. Parasitol.* 28: 85-104.
- Tibayrenc, M., Ayala, F. J. 2002. The clonal theory of parasitic protozoa: 12 years on. *Trends. Parasitol.* 18:405-410.
- Tibayrenc, M., Neubauer, K., Barnabé, C., Guerrini, F., Skarenki, D. y Ayala, F. J. 1993. Genetic characterization of six parasitic protozoa: parity between random primer DNA typing and multilocus enzyme electroforesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90: 1335-1339.
- Tibayrenc, M., Ward, P., Moya, A., Ayala, F.J. 1986. Natural populations of *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease, have a complex multiclonal structure. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 83: 115-119.
- Urinovsky, F., Salomone, O., Cordoba, R., Zazu, A., Columbres, A., Zlocowsky, J., Alvarellos, T., Diller, A., Amuchastegui, M. 2003. Mortalidad de los pacientes con

cardiopatia chagásica y trasplante cardiaco. Experiencia inicial. Rev Arg Cariol. 71:325-331.

Vallejo, G.A., Guhl, F., Chiari, E. y Macedo, A. M. 1999. Species specific detection of Trypanosoma cruzi and Trypanosoma rangeli in vector and mammalian hosts by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA. Acta. Trop. 72: 203-212.

Vargas, N., Souto, R. P., Carranza, J. C., Vallejo, G. A. y Zingales, B. 2000. Amplification of a specific repetitive DNA sequence for Trypanosoma rangeli identification and its potential application in epidemiological investigations. Exp. Parasitol. 96: 147-159.

Vargas, N., Souto, R. P., Carranza, J. C., Vallejo, G. A. y Zingales, B. 2000. Amplification of a specific repetitive DNA sequence for Trypanosoma rangeli identification and its potential application in epidemiological investigations. Exp. Parasitol. 96: 147-159.

Wendel S. Current concepts on the transmission of bacteria and parasites by blood components. São Paulo Med J 1995; 113: 1036-52.


Westenberger, S.J., Barnabé, C., Campbell, D.A., Sturm, N.R. 2005. Two hybridization events define the population structure of Trypanosoma cruzi. Genetics. 171: 527-543.


World Medical Association (WMA) (2000). Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. Edinburgh.

Zingales, B., Andrade, S.G., Briones, M.R., Campbell, D.A., Chiari, E., Fernandes, O., Guhl, F., Lages-Silva, E., Macedo, A.M, Machado, C.R., Miles, M.A., Romanha, A.J., Sturm, N.R., Tibayrenc, M., Schijman, A.G., 2009. A new consensus for Trypanosoma cruzi intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 104: 1051-1054.

ANEXOS

Anexo 1. Formato de confidencialidad de la información CETS Chiapas

 GOBIERNO DEL ESTADO DE CHIAPAS
INSTITUTO DE SALUD
CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSION SANGUINEA
BANCO DE SANGRE "DR. DOMINGO CHANONA RODRIGUEZ"
DEPARTAMENTO DE GESTION DE CALIDAD



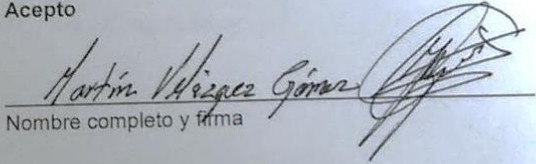
CARTA DE CONFIDENCIALIDAD (Interno/Externo) F-CF-00

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, a 03 de Febrero del 2015.

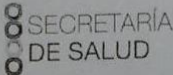


C. Marta Velázquez Gómez, (cargo) Gestor de Calidad
Con Registro Federal de Contribuyentes (número) VEGM-601103-793
con domicilio en 10ª Sur. ÷ 2ª y 3ª Pte. No. 254
Col. Barro Guadalupe Penante, Benito Juárez Chiapas.

me comprometo a resguardar, mantener la confidencialidad y no hacer mal uso de los documentos, expedientes, reportes, estudios, actas, resoluciones, oficios, correspondencia, acuerdos, directivas, directrices, circulares, contratos, convenios, instructivos, notas, memorandos, archivos físicos y/o electrónicos, estadísticas o bien, cualquier otro registro a que tenga acceso generado en el ejercicio de mis funciones bajo la responsabilidad de la institución denominada "Banco de Sangre Dr. Domingo Chanona Rodríguez", así como a no difundir, distribuir o comercializar con los datos personales contenidos en los sistemas de información, desarrollados cada día. Estando en conocimiento de que en caso de no dar cumplimiento se estará acorde a las sanciones civiles, penales o administrativas que procedan de conformidad con lo dispuesto en la Ley Federal de Protección de Datos Personales en posesión de los Particulares, Ley que garantiza la transparencia y el Derecho a la Información Pública para el Estado de Chiapas, Código Penal para el Estado de Chiapas, ISO/IEC 27000 sobre Sistema de Gestión de la Seguridad de la Información y demás disposiciones aplicables en la materia.

Acepto


Nombre completo y firma

C.c.p. Dirección
C.c.p. Gestión de Calidad
C.c.p. Recursos Humanos
C.c.p. Interesado

 SECRETARÍA DE SALUD



Libramiento Norte Oriente No. 3486, Col. Palmas Electricistas, C.P. 29045
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; Tel- Fax 61-439-01, E-mail: cets_chi@hotmail.com

Anexo 2. Dictamen del Comité de ética en Investigación del CETS Chiapas

GOBIERNO DEL ESTADO DE CHIAPAS
INSTITUTO DE SALUD
CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSION SANGUINEA
BANCO DE SANGRE "DR. DOMINGO CHANONA RODRIGUEZ"

MEMORANDUM No. CETS/BSDDCR/142/2015
ASUNTO: Dictamen de Protocolo de Investigación
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; 12 de febrero de 2015

MC. MARTÍN VELÁZQUEZ GÓMEZ
GESTOR DE CALIDAD
PRESENTE

Me permito comunicarle que como resultado de la revisión por parte de los miembros del Comité de Ética en Investigación (CEI) al Protocolo de Investigación propuesto: "Identificación de anticuerpos séricos y Riesgo Residual de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre del CETS Chiapas, México 2015", posterior a la evaluación de la Coordinación de Seguridad Sanguínea e investigación de este BSDDCR, se da el dictamen como **APROBADO** por unanimidad en última sesión ordinaria del CEI posterior a su presentación.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo, deseándole éxito en el desarrollo de las actividades y recordando que cuenta con el apoyo de la coordinación de Seguridad Sanguínea e Investigación y este comité.

ATENTAMENTE


QFB. MARÍA ESTHER JONAPÁ MEGCHÚN
PRESIDENTE DE COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN


Revisó: QFB. María Esther Jonapá Megchún, presidente de CEI
Elaboró: Lic. Lucía Guadalupe Gómez Velázquez, Secretaria Técnica de CEI
Archivo/minutario


GESTIÓN DE CALIDAD

Libramiento Norte Oriente No. 3486, Col. Palmas Electricistas, C.P. 29045
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; Tel- Fax 61-439-01, E-mail: cets_chis@hotmail.com

Anexo 3. Autorización para ejecución del jefe del CETS Chiapas



MEMORANDUM No. CETS/BSDDCR/462/2015
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; 31 de marzo de 2015


ASUNTO: Solicitud de Autorización para Realizar Protocolo de Investigación

**GOBIERNO DEL ESTADO DE CHIAPAS
INSTITUTO DE SALUD
CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSION SANGUINEA
BANCO DE SANGRE "DR. DOMINGO CHANONA RODRIGUEZ"**


**DR. JULIO CESAR VERA VAZQUEZ
JEFE DEL CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA
PRESENTE**

Me permito solicitar su autorización para desarrollar el Protocolo de Investigación propuesto por el MC. Martín Velázquez Gómez como investigador principal y titulado: "Identificación de Anticuerpos Séricos y Riesgo Residual de transmisión de Trypanosoma cruzi en donadores de sangre del CETS-Chiapas, México 2015", mismo que cuenta con Dictamen Aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Banco de Sangre "Dr. Domingo Chanona Rodríguez" y por la Coordinación del Posgrado de Salud Pública de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Anexo resumen de dicho Protocolo de Investigación.

Sin otro particular, me despido con un cordial saludo

ATENTAMENTE 

**DR. JORGE OMAR POZO AGUILAR
COORDINADOR DE SEGURIDAD SANGUÍNEA E INVESTIGACIÓN.**



**Vo.Bo. DR. JULIO CÉSAR VERA VÁZQUEZ
JEFE DEL CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSION SANGUINEA
BANCO DE SANGRE "DR. DOMINGO CHANONA RODRIGUEZ"
DIRECCIÓN**

*Revisó:
M. Margarita Guzmán
27/04/2015*

Vo.Bo.
Revisó: Dr. Jorge Omar Pozo Aguilar, Coordinador de Seguridad Sanguínea e Investigación
Elaboró: QFB. María Esther Jonapá Megchún. Encargada de área de Investigación
c.c.p. MC. Martín Velázquez Gómez, Investigador Principal

ARCHIVO/MINUTARIO

Libramiento Norte Oriente No. 3486, Col. Palmas Electricistas, C.P. 29045
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; Tel- Fax 61-439-01, E-mail: cets_chis@hotmail.com



CURRICULUM VITAE DEL AUTOR

Martín Velázquez Gómez, nació en el municipio de Berriozábal, Chiapas, el día 03 de Noviembre de 1980. Realizó estudios de primaria y secundaria en su ciudad natal en 1986 y 1992 respectivamente; y el bachillerato como Técnico Laboratorista Clínico en la Ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas en 1995. En 1998 realizó sus estudios universitarios en la Universidad Autónoma de Chiapas y en el 2003 egresa de la Facultad de Ciencias Químicas. Realiza servicio social en el Laboratorio de Citopatología de dicha facultad, obtiene el título de Licenciatura de Químico Farmacobiólogo en el 2004 por méritos académicos. Realiza especialidad en Bioquímica Clínica en el 2003, diplomado en Hematología Diagnóstica por laboratorio en 2004, Diplomado en Medicina Transfusional en el 2005. Del 2008 al 2010 realiza la Maestría en Ciencias de la Salud Pública en la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH) en la Facultad de Odontología Posgrado en Salud Pública. En el 2019 realiza el diplomado de Hematología Diagnóstica por el laboratorio en el Colegio Mexicano de Ciencias de Laboratorio Clínico y Plataforma EduLab AC, así como el Diplomado de Patología Clínica por el Laboratorio a través del Colegio de Químicos de Chiapas AC avalado por la escuela de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH). En 2020 obtiene la Certificación profesional como Químico Clínico a través de la Federación Nacional de Químicos (CONAQUIC) y la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC).

Profesionalmente se ha desempeñado como Químico analista en laboratorios de análisis clínicos desde el 2003, en el 2005 ingresa al Instituto de Salud del Estado de Chiapas en el departamento de Banco de Sangre del Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea desempeñándose como químico analista y responsable de áreas de Serología Infecciosa, Extracción, Fraccionamiento, Inmunoematología, Biología Molecular, Departamento de Gestión de Calidad e Investigación del Banco de Sangre “Dr. Domingo Chanona Rodríguez” de Tuxtla Gutiérrez Chiapas, participando arduamente en el proceso de Certificación bajo la Norma Internacional ISO 9001:2008 y la Nacional NMX-CC-9001-IMNC-2008.