

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y
ARTES DE CHIAPAS**
INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

T E S I S

Nivel de inmunoglobulina anti
Trypanosoma cruzi en pacientes con
cardiopatías en el Hospital de las
Culturas, San Cristóbal de Las Casas,
Chiapas

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

ROCIO ALFARO CARBALLO



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Febrero, 2025

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y

ARTES DE CHIAPAS

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

T E S I S

Nivel de inmunoglobulina anti
Trypanosoma cruzi en pacientes con
cardiopatías en el Hospital de las
Culturas, San Cristóbal de Las Casas,
Chiapas

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

ROCIO ALFARO CARBALLO

Director

DRA. MARÍA ADELINA SCHLIE GUZMÁN

LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y GENÉTICA.



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Febrero, 2025



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS
SECRETARÍA GENERAL
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN ESCOLAR
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Lugar: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas;
Fecha: 14 de febrero de 2025

C. Rocío Alfaro Carballo

Pasante del Programa Educativo de: Licenciatura en Biología

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:

Nivel de inmuglobulina anti *Trypanosoma cruzi* en pacientes con cardiopatías en el

Hospital de las Culturas, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas

En la modalidad de: Tesis Profesional

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

Revisores

Dra. Dolores Guadalupe Vidal López

Dr. Javier Gutiérrez Jiménez

Dra. María Adelina Schlie Guzmán

Firmas:

Ccp. Expediente

AGRADECIMIENTOS

A mi madre **Dra. Leticia del Rocio Carballo Aguilar** por darme siempre su apoyo incondicional, por animarme a seguir adelante, cumplir mis metas y objetivos y sobre todo por siempre estar a mi lado, gracias, mamá.

A mi esposo **Dr. Hector Octavio Najera Coutiño**, y a su familia por el constante animo para salir adelante, por el apoyo y la comprensión, a mi hijo **Elian Kalel Najera Alfaro** por ser el motivo principal para cumplir mis metas.

A la **Dra. María Adelina Schlie Guzmán**, directora de esta tesis, por darme la oportunidad de trabajar y aprender de ella, por el tiempo prestado, por el apoyo dado y la confianza depositada en mí.

Al Hospital de Las Culturas, al **Dr. Sergio Gómez Méndez** y al **Dr. Víctor Hugo López López**, por las facilidades prestadas dentro del hospital para realizar el trabajo, en especial agradecimiento al **Dr. Luis de Jesús Cordero Pérez**, por todo el apoyo y compromiso proporcionado, por el tiempo e interés prestados en esta investigación, así como por el acompañamiento y la facilitación de cada una de las muestras obtenidas, al **Dr. Adrián Hernández López** por la ayuda proporcionada en la facilitación de las muestras y al **Q.F.B. Carlos Alberto Zebadúa Rincón**, quien me abrió las puertas del laboratorio para trabajar y resguardar las muestras

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1 AGENTE CAUSAL	2
2.1.1. Taxonomía	2
2.1.2. Morfología de los diferentes estadios de <i>T. cruzi</i>	3
2.1.3 Ciclo biológico.....	5
2.1.4 Variabilidad genética de <i>T. cruzi</i>	6
2.2 TRANSMISORES EN MÉXICO	8
2.2.1. Ciclos epidemiológicos de los transmisores.....	9
2.3 HOSPEDADOR	10
2.3.1 Vías de transmisión	10
2.4 LA ENFERMEDAD DE CHAGAS	12
2.4.1 Fases de la enfermedad de Chagas.....	13
2.4.2 Cardiopatía chagásica crónica.....	14
2.4.3 Diagnóstico.....	15
2.4.4 Tratamiento	17
2.5 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	18
2.6 EPIDEMIOLOGÍA EN MÉXICO.....	18
III. ANTECEDENTES	21
IV. OBJETIVOS.....	25
V. MÉTODOS	26

5.1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS.....	27
5.2. CULTIVO DE PARÁSITOS Y PREPARACIÓN DEL ANTÍGENO	27
5.3. ENSAYO POR INMUNOABSORCIÓN ENLIGADO A ENZIMAS (ELISA) PARA LA DETECCIÓN DE INMUNOGLOBULINAS CON ACTIVIDAD ANTI <i>T. CRUZI</i>	28
5.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS ANTÍGENOS RECONOCIDOS POR LAS INMUNOGLOBULINAS DE LOS PACIENTES CON CARDIOPATIA.....	29
5.5. RATIFICACIÓN DEL LINAJE GENÉTICO DE <i>T. CRUZI</i>.....	31
5.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	31
VI. RESULTADOS.....	32
6.1. CULTIVO DE PARÁSITOS	32
6.2. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS.....	32
6.3. INMUNOENSAYO ENZIMÁTICO (ELISA) PARA LA DETECCIÓN DE INMUNOGLOBULINAS CON ACTIVIDAD ANTI <i>T. CRUZI</i>	35
6.4. REACTIVIDAD DE LOS SUEROS CON CARDIOMIOPATÍAS A LAS PROTEÍNAS DE <i>T. CRUZI</i>.....	36
6.5. RECONOCIMIENTOS DE ANTÍGENOS DE <i>T. CRUZI</i> POR LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS PROCEDENTES DEL HOSPITAL DE LAS CULTURAS	40
6.6. RATIFICACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE <i>T. CRUZI</i>	44
VII. DISCUSIÓN	45
VIII. CONCLUSIONES	50
IX. PERSPECTIVAS.....	50
X. REFERENCIAS DOCUMENTALES.....	51
XI. ANEXOS	59

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Listado de pacientes, edad, sexo, municipio, estado, ocupación y regiones a las que pertenecen.....	32
Cuadro 2 Marginación de los municipios a los que pertenecen los pacientes seropositivos (CONAPO, 2020)	40
Cuadro 3 Datos demográficos de los pacientes con cardiopatía chagásica confirmados por tres pruebas positivas	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología de los diferentes estadios de <i>T. cruzi</i> (López-Becerra, 2021).....	4
Figura 2. Ciclo biológico de <i>T. cruzi</i> (CDC, 2021).....	6
Figura 3. Distribución geográfica de DTUs <i>T. cruzi</i> asociados a cardiopatía chagásica crónica (Bastidas-Leal, 2023).....	7
Figura 4. Distribución de triatominos en México en el 2015 (Rojo-Medina <i>et al.</i> 2018).....	9
Figura 5. Etapas de la enfermedad de Chagas desde el contacto con el triatominos vector.....	14
Figura 6. Incidencia de enfermedad de Chagas por entidad federativa México 2019 (Secretaría de Salud, 2020).....	20
Figura 7. Ubicación geográfica del hospital de las culturas, SCLC.....	26
Figura 8. Medio LIT completo con <i>T. cruzi</i> donde se observa la presencia de parásitos en forma epimastigota.....	32
Figura 9. Composición porcentual por edad y sexo de la población estudiada.....	34
Figura 10. Región socioeconómica de la residencia de la población estudiada graficada porcentualmente.....	35
Figura 11. Gráfico de diluciones de antígenos 1/20 y 1/40.....	36
Figura 12. Reactividad en los pacientes cardiopatas en relación al control positivo y negativo.....	37
Figura 13. Reactividad en los pacientes positivos en relación al control positivo y negativo.....	38
Figura 14. Mapa de ubicación geográfica de los municipios y las regiones socioeconómicas a las que pertenecen los pacientes seropositivos a Chagas.....	39

Figura 15. Inmunoreconocimiento de los antígenos de *T. cruzi* por los sueros de los pacientes con cardiomiopatías41

Figura 16. Resultados de la prueba ELISA realizados en el laboratorio de Biología de parásitos de la Facultad de Medicina, UNAM en los sueros positivos 42

Figura 17. Electroforesis en gel de agarosa al 2% para la obtención de ADN de *T. cruzi*..... 44

RESUMEN

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es una zoonosis causada por el protozooario hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. Según la Organización Mundial de la Salud, esta enfermedad está asociada con la marginación y la pobreza y se le considera endémica de 21 países, incluido México (OPS, s.f.). El diagnóstico en la etapa crónica se realiza mediante ensayos inmunológicos, aunque se ha observado discrepancias cuando se utilizan antígenos los provenientes de cepas de *T. cruzi* ajenas a la región de estudio (Graterol y Contreras, 2019).

En Chiapas, se han detectado casos miocardiopatía atribuibles a esta enfermedad, que se caracteriza por una respuesta inmune inflamatoria continua que conduce al daño miocárdico y fibrosis y eventualmente a la muerte del paciente. Sin embargo, la discriminación entre una cardiomiopatía chagásica y por provocada por otros factores, no se realiza de manera rutinaria (Guillén-Ortega *et al.*, 2005).

En este estudio se analizaron 21 sueros de pacientes diagnosticados con cardiomiopatías provenientes de la consulta externa del Hospital de las Culturas, SCLC en la prueba del ensayo inmunoenzimático en fase sólida ELISA, utilizando como antígenos las proteínas solubles de epimastigotes de la capa aislada de Chiapas, denominada IDIM/MX/16/MEZCALES.

Los resultados indican que con una única prueba la prevalencia fue de 33 % (siete sueros). Al combinar los resultados de la prueba de inmunotransferencia y un ELISA externo, la certidumbre es del 13 %. La inmunotransferencia reconoce antígenos reportados para las infecciones crónicas.

Los hallazgos de este estudio, sugieren que en la región V Altos Tsotsil- Tseltal hay una importante cantidad de personas que han tenido contacto con el parásito *Trypanosoma cruzi*.

ABSTRACT

American trypanosomiasis or Chagas disease is a zoonosis caused by the hemiplagellate protozoan *Trypanosoma cruzi*. According to the World Health Organization, This disease is associated with marginalization and poverty and is considered endemic in 21 countries, including Mexico (PAHO, n.d.). Diagnosis in the chronic stage is made through immunological assays, although discrepancies have been observed when *T. cruzi* strains from outside the study region are used as antigens (Graterol y Contretas, 2019).

In Chiapas, cases of cardiomyopathy attributable to this disease have been detected. This disease is characterized by a continuous inflammatory immune response that leads to myocardial damage and fibrosis and eventually to the death of the patient. However, discrimination between Chagasic cardiomyopathy and cardiomyopathy caused by other factors is not routinely performed (Guillén-Ortega *et al.*, 2005).

In this study, 21 sera diagnosed with cardiomyopathies from the outpatient clinic of the Hospital del las Culturas, SCLC were analyzed using the solid-phase immunoenzymatic assay (ELISA), using as antigens the soluble proteins of epimastigotes from the Chiapas strain named IDIMI/MX/16/MEZCALES.

The results indicate that with a single test the prevalence was 33% (seven sera). When combining the results of the immunoblot test and an external ELISA, the certainty is 13%. The immunoblot recognizes antigens reported for chronic infections.

The findings of this study suggest that in the V Altos Tsotsil-Tzeltal region there are a significant number of people who have had contact with the *Trypanosoma cruzi* parasite.

I. INTRODUCCIÓN

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es una zoonosis causada por el protozooario hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, y de acuerdo con Guhl, 2009, esta enfermedad se encuentra presente en todo el territorio Sudamericano, Centroamericano y México, representando una grave amenaza para la salud humana en los países de esta región, teniendo una firme vinculación con aspectos socioeconómicos culturales deficitarios (OPS, s.f.). En México se observa una mayor prevalencia en zonas sur y sureste (Ochoa, 2018).

El hospital de las culturas es una unidad médica regional de concentración y referencia, y dado a sus características acuden pacientes de diferentes regiones del estado, en la región altos y en Chiapas en general, existe una actitud pasiva con relación a la detección de casos de la enfermedad de Chagas (Blanco-Arreola, 2016).

Pese a que la cardiopatía causada por *T. cruzi* es una de las causas más frecuente de enfermedad cardíaca en Latinoamérica, la mayoría de las veces no es diagnosticada debido a la facilidad con que se confunde con las originadas por otras patologías (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2002), aunado a ello, los aislados de *T. cruzi* presentan una gran heterogeneidad bioquímica y molecular que se muestra en variaciones de virulencia, patogenicidad y constitución antigénica, siendo de gran relevancia dado que los métodos para su diagnóstico, frecuentemente, se basan en la detección de proteínas de cepas ajenas a la región de estudio, lo que pudiera, en un momento dado, subestimar el número de individuos afectados.

En este proyecto se trabajó con antígenos proteicos obtenidos de una cepa de *T. cruzi* aisladas en el estado de Chiapas denominada IDIM/MX/16/MEZCALES, que fue aislada de las heces de *Triatoma dimidiata* en el estado de Chiapas, lo que permitirá conocer con mayor certeza los niveles de anticuerpos anti *T. cruzi* en los pacientes con cardiopatía que acuden a consulta externa y hospitalizados en medicina interna y/o cardiología en el hospital de las culturas, SCLC.

II. MARCO TEÓRICO

La enfermedad de Chagas es una antropozoonosis endémica en 21 países de América Latina, considerada como una enfermedad tropical y desatendida; a nivel mundial se estima que entre 70-90 millones de personas viven en áreas con riesgo zoonótico de infección natural y entre seis y siete millones de personas está infectadas con el parásito, con una incidencia de 50 000 casos anuales, sin embargo esta cifra pudiese estar sesgada debido a la falta de vigilancia epidemiológica y a la baja e ineficaz sensibilidad de diagnóstico en algunos países (Bravo-Ramírez *et al.*, 2023)

Su agente causal es un protozooario perteneciente a la familia *Trypanosomatida* conocido como *Trypanosoma cruzi*. Los constantes flujos migratorios de las poblaciones humanas, así como los mecanismos de transmisión del parásito, han favorecido la presencia de la enfermedad de Chagas en regiones clásicamente no consideradas como endémicas. La infección es considerada como un problema de salud pública ya que, en la historia natural de la enfermedad, existen una gran variedad de factores además de un acceso limitado al diagnóstico y tratamiento (Velázquez-Ramírez, *et al.*, 2022).

2.1 AGENTE CAUSAL

2.1.1 Taxonomía

T. cruzi es un protozoo flagelado perteneciente al phylum Sarcomastigophora, subphylum Mastigophora, clase Zoomastigophorea, orden Kinetoplastida, familia Trypanosomatidae. Se caracteriza por la existencia en su única mitocondria de una estructura que contiene DNA denominado kinetoplasto. El DNA mitocondrial de los tripanosomátidos es muy inusual, se le denomina DNA kinetoplastídico (kDNA) y representa cerca del 20% del DNA total del parásito. Está formado por minicírculos (1.4 kpb) y maxicírculos (20 kpb) de DNA encadenados formando una compleja red

compacta (Córdova, 2007). De acuerdo con Levine *et al.*, 1980 su clasificación taxonómica es la siguiente:

REINO:	Protista
SUBREINO:	Protozoa
PHYLUM:	Sarcomastigophora
SUBPHYLUM:	Mastigophora
CLASE:	Zoomastigophorea
ORDEN:	Kinetoplastida
FAMILIA:	Trypanosomatidae
GÉNERO:	<i>Trypanosoma</i>
ESPECIE:	<i>cruzi</i> (Chagas 1909)

2.1.2 Morfología de los diferentes estadios de *T. cruzi*

En sus diversos hospederos y en medios de cultivos, *T. cruzi* puede presentar tres aspectos morfológicos fundamentales: tripomastigote, epimastigote y amastigote (Figura 1):

a) Tripomastigote (metacíclico y sanguíneo):

Su aspecto es fusiforme de 16-20 μm de largo y 2-4 μm de ancho. Poseen un núcleo ovalado ubicado en el tercio medio del cuerpo, y posterior a él se encuentra el Kinetoplasto, del cual sale un flagelo que recorre la parte externa del parásito, como una membrana ondulante, exteriorizándose en el citoplasma por la parte anterior (Córdova, 2007).

b) Amastigote:

Son esféricos, de 2-5 μm de diámetro, poseen un núcleo redondo, un kinetoplasto en forma de barra y no presenta flagelo visible. Su localización es exclusivamente de las células de animales infectados, en las cuales se multiplica. Estás inicialmente son células del sistema fagocítico mononuclear, y posteriormente células musculares, cardíacas, intestinales y esqueléticas (Córdova, 2007).

c) Epimastigote:

Es la forma de multiplicación en el intestino del vector invertebrado y en cultivos, son alargados y miden de 10-15 μm de largo y 1-3 μm de ancho, su núcleo es ovalado y por delante de él se encuentra el kinetoplasto, del cual sale un flagelo con una corta membrana ondulante, que pronto se hace libre en el extremo anterior (Córdova, 2007).

En las formas tripomastigote y epimastigote se presentan siete organelos: kinetoplasto, mitocondria, retículo endoplásmico, núcleo, aparato de Golgi, microtúbulos y flagelo; la forma intracelular de amastigote presenta cuatro organelos: kinetoplasto, núcleo, microtúbulos y flagelo (Vidal, 2015).

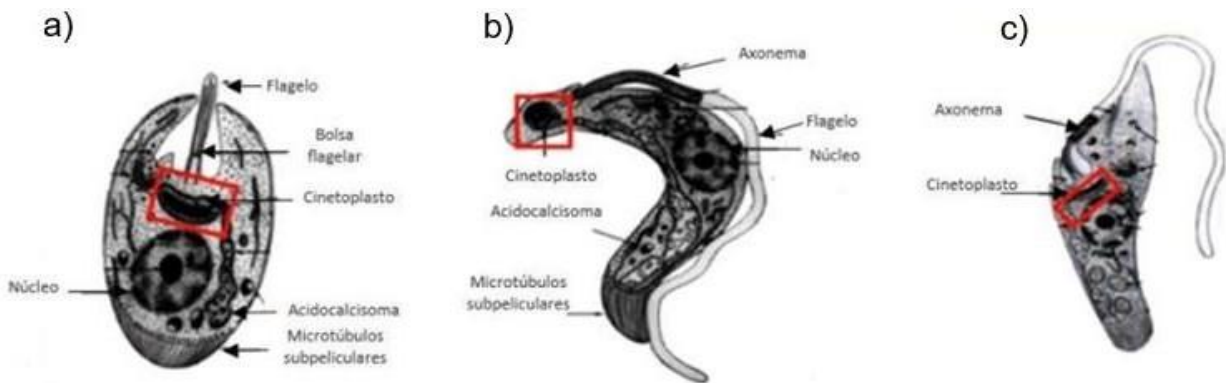


Figura 1. Morfológicas de los diferentes estadios de *T. cruzi*. a) amastigote, b) tripomastigote, c) epimastigote (Tomado de López-Becerra, 2021).

2.1.3 Ciclo biológico

T. cruzi es un parásito unicelular que presenta un ciclo de vida digénico, es decir, que alterna su vida entre dos hospedadores: invertebrados triatomíneos y diversas especies de vertebrados, entre los que se encuentra el ser humano. A lo largo de su ciclo digénico *T. cruzi* pasa por tres estadios morfológicos principalmente, en función de su aspecto general de la manera como el flagelo emerge del cuerpo celular y de la posición relativa de dos importantes estructuras celulares: el núcleo y el cinetoplasto (órganos de movimiento) (Secretaría de Salud, 2019): la forma amastigote, no flagelada, y las formas flageladas epimastigote y tripomastigote.

En los hospedadores invertebrados el parásito se encuentra en el intestino medio y posterior del insecto. La forma epimastigote prolifera en el insecto vector y se encuentra ubicado en el intestino medio, eventualmente esta forma se diferencia para dar lugar a la forma denominada tripomastigotes metacíclico ubicado en el intestino posterior del insecto; esta es la forma infectiva para el hospedador vertebrado.

Cuando el vector infectado se alimenta de la sangre del vertebrado defeca sobre su piel o mucosa, y deposita, junto con sus heces, los tripomastigotes metacíclicos, son introducidos por la laceración causada por la picadura o por mucosas expuestas, una vez en el torrente sanguíneo los tripomastigotes son capaces de invadir una gran variedad de tipos de células. Dentro de las células el parásito se transforma en su forma de amastigote, iniciando varios ciclos de división. Seguidamente los amastigotes se diferencian en tripomastigotes sanguíneos que son liberados por la ruptura de la célula anfitriona, iniciando el siguiente ciclo de infección (Murcia *et al.*, 2013) (Figura 2).

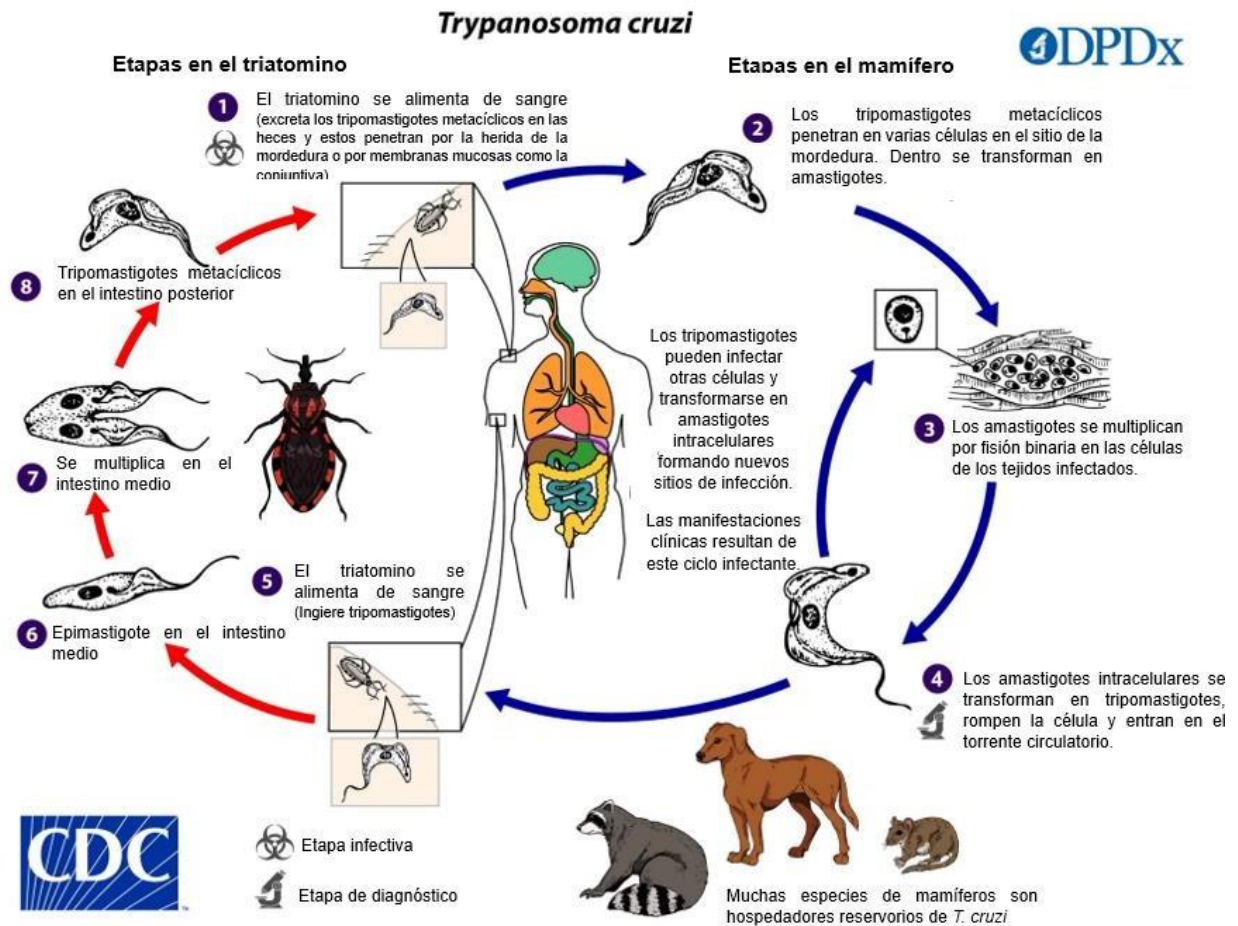


Figura 2. Ciclo biológico de *T. cruzi* (Tomado de CDC, 2021).

2.1.4 Variabilidad genética de *T. cruzi*

El material genético de *T. cruzi* se encuentra caracterizado en dos estructuras, el núcleo, que contiene el mayor contenido de ADN del parásito (75-80%) y el cinetoplasto que contiene una menor cantidad de este (20-25%); el genoma nuclear del *T. cruzi* es diploide y está distribuido en pares de cromosomas homólogos.

El tamaño de sus cromosomas es variable debido, entre otras razones, a que las cepas y las clonas del parásito muestran variaciones de hasta un 49% en su tamaño y contenido de ADN. Estas divergencias han llevado a clasificar a las cepas

de *T. cruzi* en siete unidades de Tipificación Discretas o DTU de TcI- TcVI y Tcbat (Rubio-Ortiz *et al.*, 2020).

Hasta 2010, se observaba una mayor dominancia de la cepa TcI en México, sin embargo, estudios recientes indican que las cepas presentes en la República Mexicana son las siguientes: TcI, TcII, TcIII, TcIV y TcV; en el estado de Chiapas se han identificado las cepas TcI, TcII y TcIV (Rubio-Ortiz *et al.*, 2020; García-López, 2021). Las diferentes de DTUs se han asociado con manifestaciones clínicas en pacientes, mostrando que seis de las siete cepas de *T. cruzi* se encuentran relacionadas con la cardiopatía dilatada ocasionada por la enfermedad de Chagas. (Figura 3).

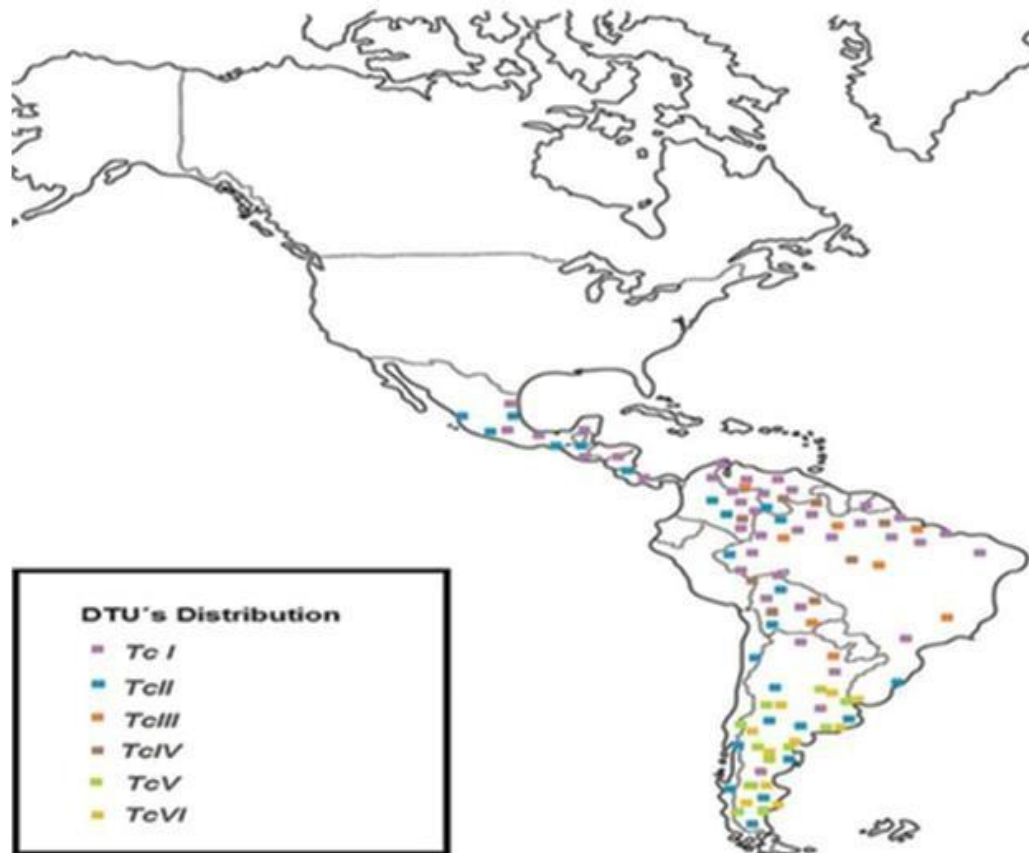


Figura 3. Distribución geográfica de DTUs *T. cruzi* asociado a cardiopatía chagásica crónica (Tomado de Bastidas-Leal, 2023).

2.2 TRANSMISORES EN MÉXICO

En el mundo se han identificado más de 130 especies de triatomíneos distribuidos en 16 géneros, dentro de los cuales; tres géneros son considerados de importancia médica, ya que son vectores importantes de la enfermedad de Chagas: *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus* (Salazar-Schettino, *et al.*, 2016) distribuidos desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Argentina y Chile. Uno de los vectores más importantes en la epidemiología de la enfermedad de Chagas en Centroamérica y el sur de la República Mexicana corresponde al género *Triatoma*, especie *dimidiata*.

En la República Mexicana se han reportado 31 especies importantes, dentro de 8 géneros; de las cuales, 19 pertenecen al género *Triatoma*, seis al género *Meccus* dos al género *Panstrongylus* y una especie de los géneros *Belminus*, *Dipetalogaster*, *Eratyrus*, *Paratriatoma* y *Rhodnius*. De estas han sido descritas 13 especies en contacto con los domicilios humanos, dos de ellas son consideradas domésticas y 11 peridomésticas. Las especies que son consideradas como domésticas son *Triatoma barberi*, relacionado con miocardiopatías y dilataciones del tracto digestivo y *Triatoma dimidiata*, también asociada a cardiopatías; las especies peridomésticas son *Meccus longipennis*, *M. mazzottii*, *M. pallidipennis*, *M. phyllosomus*, *M. picturatus*, *Triatoma gerstaeckeri*, *T. mexicana*, *T. rubida*, *Dypetalogaster máxima*, *Panstrongylus rufotuberculatus* y *Rhodnius prolixus* (Bastidas-Leal, 2023) (Figura 4).

En cuanto a el Estado de Chiapas se han reportado cuatro especies: *T. dimidiata*, *P. rufotuberculatus* y *P. geniculatus*, *R. prolixus*. Actualmente, *Rhodnius prolixus* se considera eliminado (Salazar.Schettino *et al.*, 2016; Vidal, 2015).

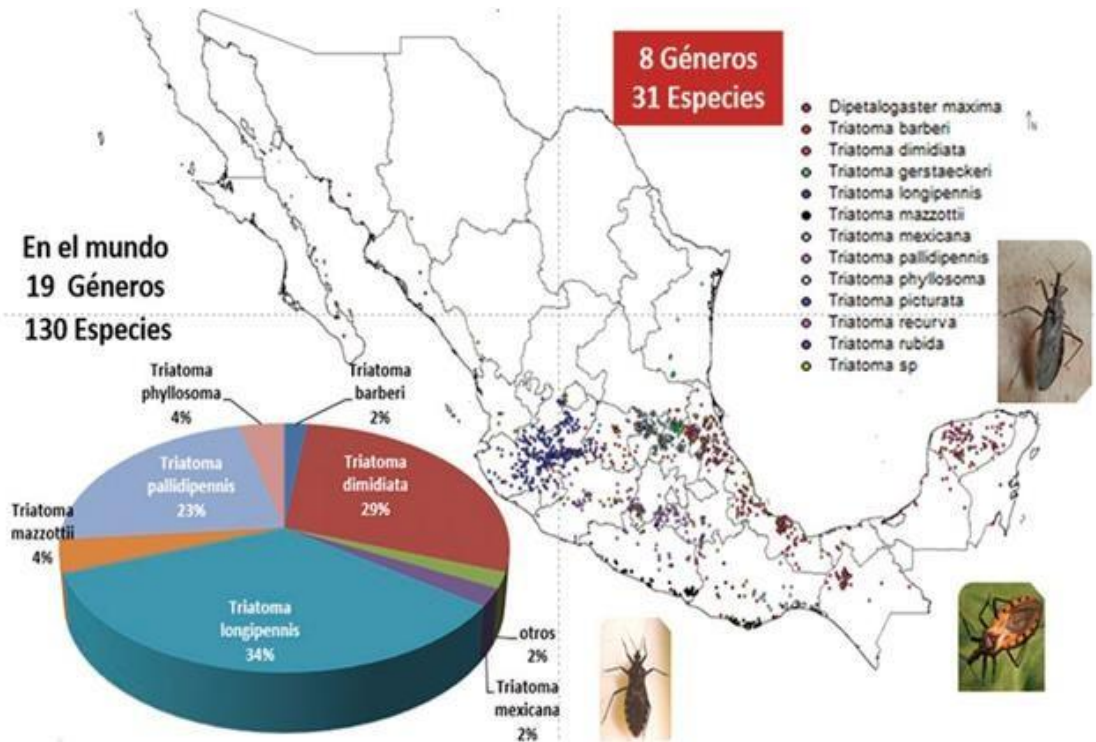


Figura 4. Distribución de triatominos en México en el 2015 (Tomado de Rojo-Medina *et al.*, 2018)

2.2.1 Ciclos epidemiológicos de transmisión

En la enfermedad de Chagas se presentan ciclos silvestres sin participación del hombre y ciclos domiciliarios con su participación, estos son interdependientes, sin embargo, el ciclo denominado peridomiciliado sirve de nexo entre los otros dos ciclos.

Ciclo domiciliario: propaga la infección en seres humanos, este ciclo se presenta principalmente en viviendas rurales o periurbanas, las cuales están hechas con paredes de adobe, techos de material vegetal. En este ciclo los principales reservorios son los seres humanos, perros y otros mamíferos considerados domésticos; las especies transmisoras suelen vivir en grietas de las paredes, agujeros en los techos, así como debajo y detrás de los muebles, cuadros y en los anexos peridomiciliados como gallineros, pilas de leña, etc.

Ciclo peridomiciliado: en este ciclo intervienen gran variedad de mamíferos, tales como, roedores, marsupiales, perros, etc., que entran y salen libremente del domicilio; además en este ciclo se observan triatomas selváticos que se ven atraídos por la luz y el alimento.

Ciclo selvático: en este ciclo se incluyen a todos aquellos mamíferos silvestres, terrestres o arbóreos que son infectados de forma natural por *T. cruzi*, aquí los vectores son triatominos selváticos, tales como, *Panstrongylus geniculatus*, *Rhodnius colombiensis*, *Rh. brethesi*, entre otros (Guhl, 2009).

2.3 HOSPEDADOR

Las interacciones del hospedador-parásito pueden ser muy variadas, estas, en esencia, dependen del parásito involucrado. Los parásitos protozoos afectan la red inmunológica del hospedador, generando un desequilibrio a su favor.

T. cruzi es un organismo capaz de infectar a muchas especies de vertebrados, incluyendo al ser humano; esto hace que la complejidad de interacción entre el parásito y el hospedador sea muy grande. A su vez, *T. cruzi* es capaz de invadir una gran cantidad de células de vertebrados, implicando así una fuerte y variada interacción molecular entre la célula y el parásito (Paláu, 2000). La diferencia en cuanto a la severidad de la enfermedad en el hospedador humano y en otros mamíferos se ha atribuido al pleomorfismo natural que presenta *T. cruzi* (Guzmán-Marín, *et al.*, 1999).

2.3.1 Vías de transmisión

La infección por *T. cruzi* puede adquirirse de distintas maneras, dentro de las cuales se encuentran:

a) Vectorial

La forma más común de contraer la infección en zona endémica es a través del contacto de las heces del insecto vector infectado que contiene tripomastigotes metacíclicos. La defecación se produce cuando el insecto se alimenta de la sangre de

los vertebrados (Murcia *et al.*, 2013). Dado que el insecto es fotosensible tiende a alimentarse mientras la persona duerme; la persona a menudo frota la picadura, favoreciendo la introducción accidental de las heces en la herida de la picadura, en corte abierto, en los ojos o en la boca (Gramajo y González, 2015).

De manera general los insectos triatomínicos viven en las grietas y huecos de las casas mal construidas en las zonas rurales y suburbanas, las especies con mayor capacidad vectorial, con hábitos domiciliarios y con mayor distribución geográfica pertenecen a los géneros *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus* (Guhl, 2009).

b) Por transfusión

La segunda vía de transmisión más común es a partir de transfusiones de sangre, esto se debe mayormente a la migración a zonas no endémicas y a la progresión de la enfermedad al estado crónico asintomático, a su prevalencia elevada en la población de donantes de sangre y la viabilidad del parásito en las condiciones de almacenamiento de sangre (Blejer *et al.*, 2002). Los principales factores de riesgo están asociados a la prevalencia de donantes infectados en un servicio, la región, la frecuencia y el volumen de transfusiones recibidas por el paciente. La forma infectiva es el tripomastigote sanguíneo (Vidal, 2015). La infección por sangre y componentes sanguíneos dependen de varios factores: el tipo y cantidad de componente transfundido, el concentrado de hematíes, plaquetas y leucocitos. La sangre total y las plaquetas parecen ser los componentes con mayor riesgo de transmisión; puesto que en la actualidad apenas se utiliza sangre total, el componente hoy con mayor riesgo, son las plaquetas (Gramajo y González, 2015).

c) Congénita

La transmisión materno-fetal ocurre por vía transplacentaria; el riesgo de la transmisión de la enfermedad a los hijos puede darse durante el embarazo, en el parto o durante la lactancia. En este mecanismo de transmisión es más común y presenta mayor susceptibilidad en el segundo o tercer trimestre del embarazo (Ceballos-Pomares, *et al.*, 2017), sin embargo, el riesgo está presente en cualquier semana de gestación.

d) Transmisión oral

La transmisión oral es una forma de infección que ha recibido atención especialmente en la última década en varias regiones de América Latina. Este tipo de infección se da tras la ingesta de alimentos contaminados con triatominos infectados o con sus deyecciones. La ingestión oral se caracteriza por manifestaciones graves después de un periodo de latencia de cinco días, las cuales incluyen: fiebres prolongadas, miocarditis aguda, falla cardiaca y, en algunos casos, meningoencefalitis (Rueda *et al.*, 2014).

e) Otros mecanismos de transmisión

Existen otras formas de adquirir la enfermedad de Chagas, sin embargo, son las menos frecuentes, entre estas se encuentran los trasplantes de órganos infectados, y los accidentes en el laboratorio al momento de manipular diferentes tipos de materiales contaminados.

2.4 LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

En 1909 Carlos Chagas publicó en Brasil un artículo en la revista *Brasil Médico* donde describe una nueva enfermedad, un agente causal, así como la existencia de un vector invertebrado y la transmisión experimental con mamíferos (Kropf y Massarani, 1997). Esto propició que varios investigadores realizaran estudios para sentar las bases del conocimiento de esta enfermedad; se realizaron estudios que iban desde el conocimiento de las formas tisulares de *T. cruzi*, ensayos serodiagnósticos y seroepidemiológicos para su detección, así como los mecanismos de transmisión natural del parásito y la anatomía patológica y la evolución del mismo en los tejidos.

En México las publicaciones respecto a los vectores, casos clínicos, así como los estudios epidemiológicos dieron inicio en 1928 cuando Hoffman publicó sobre la gran abundancia y domiciliación de *T. dimidiata* en Las Choapas, Veracruz (Velasco-Castrejón y Rivas-Sánchez, 2008), las investigaciones referentes a la enfermedad, así como a sus transmisores y los causantes siguen presentes hasta la actualidad.

2.4.1 Fases de la enfermedad de Chagas

En la historia natural de la enfermedad de Chagas, se presentan la fase aguda, la crónica asintomática o indeterminada y la crónica sintomática; el periodo de incubación es de 7 a 14 días (fig. 5).

a) Fase aguda

La fase aguda se da en 5% de los infectados, con duración de 2 a 3 semanas y ocasionalmente hasta cuatro meses; los síntomas inician alrededor de 10 días después de la infección y en los casos de transmisión por transfusión sanguínea aparecen entre 20 y 40 días post transmisión (Salazar-Schettino *et al.*, 2016).

En esta fase puede haber una reacción local en el sitio de entrada del parásito denominado chagoma de inoculación o lipochagoma y puede sobrevenir el signo de Romaña, de Romaña-Mazza o de Mazza-Benítez, que consiste en un edema bpalpebral unilateral de color violáceo ligeramente pruriginoso acompañado de adenopatías regionales; lo anterior se acompaña de síndromes febril, adenopatías, hepatoesplenomegalia, exantema, anemia, dolor óseo y muscular, y puede haber meningoencefalitis y miocarditis (Murillo-Godínez, 2018).

b) Fase crónica asintomática

La fase crónica indeterminada, asintomática o latente inicia 8 a 10 meses después de la infección y duran entre 5, 10 y hasta 20 años; del 60 al 70% de los pacientes pueden permanecer en esta fase (Murrillo-Godínez, 2018). Es clínicamente silenciosa con parasitemia muy baja, por lo que los métodos serológicos son de elección para el diagnóstico.

c) Fase crónica

La fase crónica es el resultado de la afección de nervios craneales y periféricos, con destrucción de las células nerviosas ganglionares y otras anomalías. El 27% desarrollan lesiones cardíacas que van desde arritmias, insuficiencia cardíaca, y aneurismas ventriculares, 6% digestivas, principalmente en el esófago y colon; están dan lugar a disfagias, odinofagias tos por regurgitación y otras afecciones digestivas como gastroparesia, hipoclorhidria, enteropatía del intestino delgado e hipertrofia de

glándulas salivales y 3% en el sistema nervioso periférico. Además, puede haber dilataciones en el uréter, vejiga y vesícula, así como tromboembolismos tanto en el pulmón como en el riñón, cerebro y el bazo. Los parásitos también pueden invadir el hígado y la médula ósea, hay mayor incidencia de cáncer esofagogástrico y entre las manifestaciones neurológicas puede haber cambios cognitivos, convulsiones, hemiparesia y afasia (Salazar-Schettino *et al.*, 2016; Murrillo-Godínez, 2018).



Figura 5. Etapas de la enfermedad de Chagas desde el contacto con el triatómino vector. Imágenes obtenidas de Gobierno de México, 2016.; Castañón, 2020; Secretaria de salud, 2020; Molina *et al.*, 2016 y modificadas.

2.4.2 Cardiopatía chagásica crónica

La cardiopatía chagásica crónica o cardiomiopatía chagásica crónica (CCC), es la manifestación más severa de la enfermedad de Chagas crónica, esta se manifiesta años o décadas posteriores a la primoinfección. Es una enfermedad progresiva que se caracteriza por una respuesta inmune inflamatoria continua que conduce al daño miocárdico y fibrosis.

La CCC se puede presentar con distintas manifestaciones clínicas, que van desde formas asintomáticas hasta enfermedad cardiaca severa, esta última, es la forma de presentación clínica más frecuente; la CCC presenta como característica una miocarditis difusa con infiltrados linfocíticos, con presencia de inmunoglobulinas con escasos elementos parasitarios y pequeños focos inflamatorios. Se observa una remodelación ventricular con dilatación ventricular bilateral debido a una hipertrofia de los miocitos con abundante fibrosis, además, el adelgazamiento de las paredes

ventriculares suele ser común, junto con los aneurismas apicales y el desarrollo de trombos murales, aunado a ello, hay un deterioro de las funciones diastólicas y sistólicas del corazón. En más del 50% de los casos se presentan anomalías de la conducción, siendo uno de los signos más temprano de la enfermedad el bloque de rama derecha y el bloque fascicular anterior izquierdo, la bradicardia se hace presente en cualquier fase de la enfermedad y es causada por la enfermedad del nodo sinusal o bloqueos auriculoventricular.

Asimismo, se observa una disfunción automática debido a una inflamación periganglionar de neuronas del sistema nervioso parasimpático con adhesión de células mononucleares, lo cual produce una lisis, a esto se suma una reacción autoinmunitaria neuronal que puede generar desde arritmias malignas y afecciones de ambos ventrículos, los cuales conducen a la depresión de la función ventricular global y finalmente a la cardiomegalia, hasta una muerte súbita. Además, en la CCC se presentan anomalías microvasculares que conducen a isquemia miocárdica (Hines-Chaves *et al.*, 2019).

2.4.3 Diagnóstico

En la actualidad hay una gran variedad de métodos que pueden ser utilizados para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, que incluyen desde técnicas de tinción y frotis de sangre periférica, determinación de anticuerpos, xenodiagnóstico y cultivo, hasta anticuerpos monoclonales y reacción de cadena de polimerasa (Vacca-Carvajal y Mercado-Reyes, 2005). El diagnóstico de laboratorio de la infección por *T. cruzi* puede realizarse por:

- A. Métodos directos en los cuales se prueba la presencia del parásito en la muestra.
- B. Métodos moleculares en los cuales se comprueba la presencia de material genético del parásito en la muestra.
- C. Métodos indirectos en los cuales se detectan la presencia de anticuerpos específicos contra el parásito en la muestra

A. Diagnóstico de laboratorio por método directo:

Observación microscópica al fresco: este método identifica la presencia de tripomastigotes de *T. cruzi*, por observación directa, en una muestra de sangre periférica u otro fluido (Secretaria de Salud, 2019).

Gota gruesa: este método permite la concentración de la muestra de sangre. Se colocan tres a cuatro gotas de sangre sin anticoagulante en un portaobjeto, las que luego se desfibrinan para posteriormente teñirse con Giemsa y ser observadas al microscopio, en busca de tripomastigotes de *T. cruzi* (Secretaria de Salud, 2019).

Método de concentración de Microstrout: este método es un examen microscópico de la fracción leucoplaquetaria de la sangre total a partir de un capilar de microhematocrito cargado con sangre del paciente en busca de las formas Tripomastigote de *T. cruzi* (Secretaria de Salud, 2019).

B. Diagnóstico de laboratorio por método molecular:

Reacción de cadena de polimerasa: Se trata de una técnica molecular que utiliza indicadores específicos para amplificar un segmento de ADN de *T. cruzi* en muestras clínicas de pacientes. Es útil para ser usada en diferentes tipos de muestras y tejidos en la fase aguda, crónica asintomática y crónica con patología demostrada (Secretaria de Salud, 2019).

C. Diagnóstico de laboratorio métodos indirectos:

Estas técnicas permiten cuantificar la concentración de inmunoglobulinas específicas contra antígenos de *T. cruzi*.

Hemaglutinación indirecta: está basado en la reacción de glóbulos rojos sensibilizados con *T. cruzi* que entran en contacto con anticuerpo específicos produciéndose aglutinación, indicador de una reacción positiva (Secretaria de Salud, 2019).

Inmuno ensayo enzimático (ELISA): se realiza en placas de poliestireno que son sensibilizadas con antígeno soluble de *T. cruzi* a los que se unirán

anticuerpos específicos contra el parásito si están presentes en la muestra. Se agrega un conjugado formado por un anticuerpo humano unido a una enzima y se podrá evidenciar una reacción positiva si al adicionar sustrato específico se desarrolla una reacción de color, que indicará la presencia de anticuerpos en la muestra del paciente (Secretaría de Salud, 2019).

Inmunofluorescencia indirecta (IFI): esta técnica permite detectar la presencia de anticuerpos anti *T. cruzi* en diferentes muestras biológicas. Para estos efectos se preparan placas de vidrio con pocillos a los que se le adhieren epimastigotes de *T. cruzi* obtenidas de cultivo (Secretaría de Salud, 2019).

Si el suero del paciente tiene anticuerpos, se produce una reacción antígeno-anticuerpo la que se detecta con la adición de un segundo anticuerpo marcado con sustancias fluorescentes. Esta reacción se observa posteriormente en un microscopio de fluorescencia (Secretaría de Salud, 2019).

Western Blot (inmuno-electrotransferencia): permite detectar la presencia de anticuerpos anti *T. cruzi* que han sido separados mediante electroforesis y luego transferidos a una membrana sobre la cual se realiza una reacción enzimática, que según sea el conjugado empleado, detecta la presencia de anticuerpos IgA, IgG o IgM por separado o simultáneamente. Las reacciones positivas se observan como bandas coloreadas en tiras de membrana sensibilizadas (Secretaría de Salud, 2019).

2.4.4 Tratamiento

Según la OMS, 2021 la enfermedad de Chagas puede tratarse con benznidazol o nifurtimox, los cuales son medicamentos antiparasitarios; ambos son plenamente eficaces si se administran en los comienzos de la infección en la etapa aguda, sin embargo, su eficacia se ve disminuida con el paso del tiempo, teniendo reacciones adversas, generalmente, en edades avanzadas.

Estos tratamientos están indicados para todos los casos de enfermedad de Chagas agudo o reactividad y para la infección crónica por *T. cruzi*. El tratamiento con estos medicamentos también está indicado para niñas y mujeres en edad fértil (antes o después del embarazo) para evitar la transmisión congénita. Este medicamento pudiese evitar o frenar la progresión de la enfermedad, sin embargo, las duraciones prolongadas del tratamiento llevan consigo posibles reacciones adversas. El benznidazol o nifurtimox no deben administrarse a las mujeres embarazadas ni a las personas con insuficiencia renal o hepática; el nifurtimox también está contraindicado en personas con antecedentes de trastornos neurológicos o psiquiátricos.

2.5 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La enfermedad de Chagas es conocida como tripanosomiasis del continente americano, según la OPS, s.f., la enfermedad de Chagas es la más frecuente de las enfermedades transmisibles en Latino América y la considera endémica en 21 países de América. Esta enfermedad tiene mayor prevalencia en las zonas rurales de Latino América, sin embargo, se han reportado casos en otros países, donde se creía no existía, por lo que la enfermedad ahora se extiende desde el sur de los Estado Unidos de América, Canadá, así como en muchos países de Europa y algunos de África, el Mediterráneo Oriental y el Pacífico Occidental (OMS, 2021).

2.6 EPIDEMIOLOGÍA EN MÉXICO

Los primeros casos de la enfermedad de Chagas en México fueron descritos por Mazzotti en 1938, posterior a ello se realizaron otra detecciones de casos clínicos en estados como Veracruz y Yucatán, pero no fue sino hasta 40 años más tarde que Goldsmith y Col realizaron importantes estudios seroepidemiológicos en Oaxaca y Chiapas encontrando en algunas comunidades hasta el 58% de positividad en personas mayores de 20 años, incluso 3% de serotipos en menores de tres años y 6% en niños oaxaqueños de cuatro a seis años de edad (Velasco-Castrejón y Rivas-Sánchez, 2008). La prevalencia de la enfermedad se relacionó con las viviendas rurales y en localidades ubicadas a menos de 1.800 msnm.

En la Encuesta Seroepidemiológica Nacional, realizada en 1988-1989, en población abierta, la seroprevalencia encontrada fue de 1.6%, aunque los estados con el mayor número de personas positivas se encontraron en Chiapas, Oaxaca, Hidalgo, Veracruz, Baja California, San Luis Potosí, Yucatán, Jalisco, Michoacán, Morelos y Guerrero (Murillo-Godínez, 2018); los vectores de mayor importancia epidemiológica reportados son: *T. barbieri*, *T. dimidiata*, el complejo de *T. phyllosoma* y *Rhodnius prolixus* (Carrado-Bravo, 2004).

Actualmente se conoce que la enfermedad de Chagas es un padecimiento ampliamente distribuido en México con tendencia ascendente en el número de casos al pasar de 100 casos en el año 2000 a 1,095 en el año 2015. Respecto a la incidencia, ésta se incrementó de 0.1 hasta 0.9 casos por cada 100 mil habitantes.

Durante el 2015 con excepción de Baja California y Colima todos los estados del país notificaron casos de Enfermedad de Chagas Durante este año el estado de México, Jalisco, Veracruz, Hidalgo y Oaxaca concentraron el 56% de los casos del país.

En Chiapas durante 2019 se tuvo una incidencia de 0.58 por cada 100,000 habitantes y aunque debido a la contingencia sanitaria por el COVID-19 muchas de las acciones del programa de vectores -SSA disminuyeron, actualmente se considera que se tiene la misma incidencia.

De acuerdo con el Boletín Epidemiológico Nacional, 2023, en un lapso de cinco años, correspondientes a las semanas epidemiológicas 52 de los años 2019-2022 y a la semana epidemiológica 17 del año 2023 se han detectado, un total de 68 nuevos casos de enfermedad de Chagas crónica en el estado de Chiapas (Figura 6).

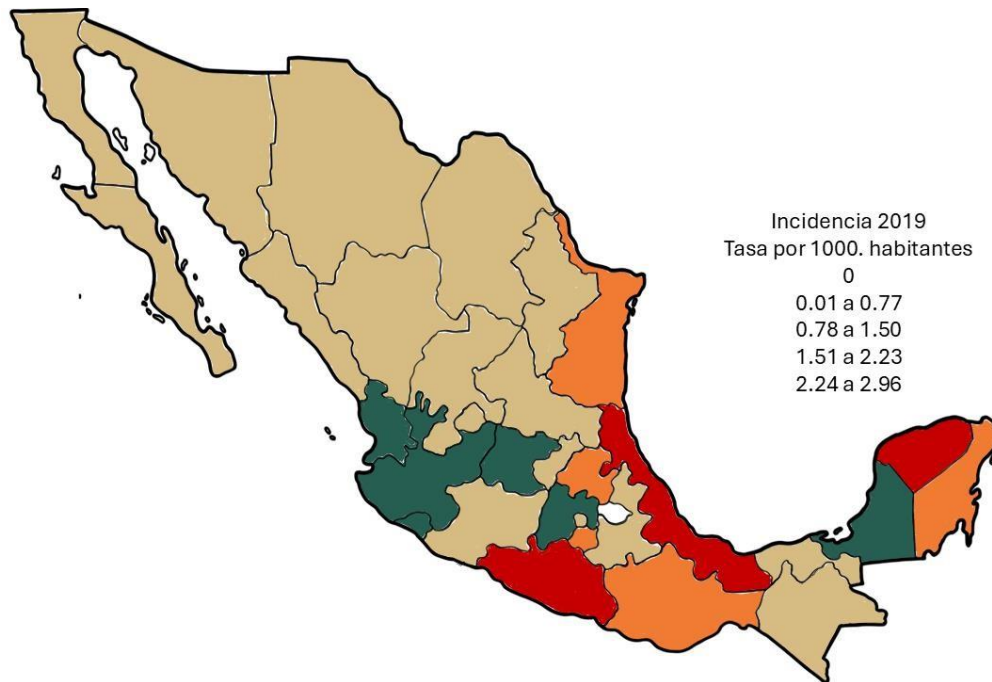


Figura 6. Incidencia de enfermedad de Chagas por Entidad Federativa, México 2019. Tomado de Secretaría de Salud. 2020. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Vector (ETV).

Actualmente el Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE), órgano desconcentrado de la Secretaría de Salud es el responsable de conducir e implementar los programas sustantivos para la prevención y control de enfermedades. El programa está basado en la Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, para la vigilancia epidemiológica y la NOM-032-SSA2-2014, para la vigilancia epidemiológica, promoción, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vectores. Sin embargo, muchas de las actividades se circunscriben al rociado domiciliario de insecticidas con productos químicos específicos de otros programas de vectores.

III. ANTECEDENTES

Desde su descubrimiento, en 1909, del parásito *T. cruzi* se han llevado a cabo diversos trabajos para intentar dilucidar la dinámica de la enfermedad de Chagas en la naturaleza. Estos trabajos abordan desde los aspectos clínicos de la enfermedad; riqueza y abundancia de los insectos vectores, reservorios mamíferos; y en las últimas dos décadas los estudios moleculares y genéticos de *T. cruzi* han tomado una gran importancia (Vidal, 2015).

Debido a que la enfermedad de Chagas usualmente es diagnosticada en la etapa crónica en donde los anticuerpos están presentes, diversos trabajos se han enfocado a encontrar un mejor serodiagnóstico o a comprender la evolución de la respuesta inmune contra el parásito. Por ejemplo, Martin *et al.* (1986) realizaron una investigación donde analizaron en 30 niños con la enfermedad de Chagas aguda la cinética de aparición de los anticuerpos específicos anti-*Trypanosoma cruzi*, durante los primeros 30 días de la evolución de la sintomatología. Los autores reportan una respuesta primaria clásica de producción de anticuerpos y observaron diferencias entre la concentración de IgG e IgM respecto a sueros normales, además obtuvieron una disminución de las fracciones del complemento principalmente el C1q; demostraron que la IgM es el anticuerpo de inmunocomplejo responsable de la especificidad antigénica.

Por su parte, Hernández-Becerril *et al.* (2001) trabajaron con la reactividad de subclases de IgG a *T. cruzii* en pacientes crónicos chagásicos para lo cual estudiaron el perfil de isotipos de anticuerpos anti-*T. cruzi* en relación con las diferentes manifestaciones clínicas; haciendo énfasis en analizar la reactividad de la subclase IgG anti-*T. cruzi* a un extracto antigénico de *T. cruzi* en doce pacientes con MCC encontraron títulos más altos de IgG1 e IgG2 en comparación con la IgG3 y títulos consistentemente bajos de IgG4, la expresión de estas cuatro subclases de IgG de anti-*T. cruzi* les sugirió una respuesta inmunitaria mixta tipo Th1/Th2 bajo una estimulación antigénica crónica continua.

Se relacionaron los niveles elevados de anticuerpos IgG2 anti-*T. cruzi* con una tendencia a asociarse con cardiomegalia severa. Dicho estudio se realizó con pacientes de áreas rurales de México, especialmente del sureste del país; las muestras fueron estudiadas en el laboratorio de Inmunoparasitología del Instituto Nacional de Cardiología I. Chávez.

Cárdenas-Sánchez, *et al.* (2002) estudiaron los anticuerpos anti-*T. cruzi* en pacientes con cardiopatía dilatada que acuden al hospital del Instituto Mexicano del Seguro Social, en Tapachula, Chiapas, para lo cual, se les realizó una encuesta clínica- epidemiológica y estudios serológicos mediante hemaglutinación indirecta (HAI) y confirmación con inmunoensayo (ELISA) e inmunofluorescencia indirecta (IFI); el estudio se realizó durante 12 meses en donde se identificaron a 35 pacientes con miocardiopatía dilatada, de los cuales se estudiaron 25. Los análisis serológicos mediante HAI arrojaron únicamente resultados negativos, mientras que los inmunoensayos de ELISA e IFI revelaron a seis y un caso positivo, respectivamente. Estos resultados mostraron que la cardiopatía chagásica crónica fue de 4%.

Cordero-Pérez *et al.* (2002) presentaron los casos de miocardiopatía dilatada crónica en sujetos cardiopatas tanto hospitalizados como ambulatorios en el Hospital General "I" de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. Este estudio fue realizado en un periodo de seis años, en los cuales reclutaron a 505 pacientes, a los cuales se les documentaron el perfil clínico, incluyendo, radiografía de tórax, electrocardiografía, ecocardiograma y ensayos serológicos específicos para tripanosomiasis americana (usando HAI, IFI y ELISA). De este conjunto de pacientes se detectaron 10 casos de miocardiopatía dilatada, de los cuales el 70% presentaron serología positiva a *T. cruzi*, estos pacientes presentaban trastornos del ritmo o conducción y/o insuficiencia cardiaca.

Guillén-Ortega *et al.* (2005) realizaron un estudio similar en pacientes con miocardiopatía dilatada en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, cuyo objetivo era conocer la frecuencia de cardiopatía chagásica crónica (CCC) mediante una encuesta tanto serológica como socioeconómica a 28 pacientes con miocardiopatía dilatada (MD); las pruebas para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* se realizaron mediante IFI y el

ELISA. De los 28 sujetos, más de la mitad (54%) presentaron anticuerpos anti-*T. cruzi*, y todos provenían de un medio rural con pobreza, respecto a la clínica se documentaron insuficiencia cardiaca y/o trastorno del ritmo o conducción.

En 2016, Salazar-Schettino *et al.*, realizaron la detección de cardiopatía chagásica crónica en Querétaro, San Luis Potosí y Veracruz; enfocándose en individuos menores a 18 años. Reclutando un total de 3,327 sujetos a los cuales, se les realizó un cribado en suero mediante una ELISA indirecta, los que salieron reactivos se les realizó la prueba confirmatoria mediante ELISA e IFI; para los casos dudosos se analizaron con WESTERN BLOT. Los pacientes positivos en las pruebas confirmatorias se les investigaron signos de patología cardiaca, mediante electrocardiografía y ecocardiograma. Obtuvieron un total de 37 casos seropositivos, siendo la mayoría de San Luis Potosí (75.7%), seguidos de Querétaro y Veracruz, 2% el 7%. Más de la mitad de casos positivos fueron del sexo masculino (59.5%). El rango de edad de los pacientes seropositivos fluctuó entre 5 a 17 años, con una media de 14 años, en 25 casos se documentaron lesiones compatibles con la miocardiopatía chagásica, en tanto que 14 casos fueron compatibles con la enfermedad de Chagas.

Capps y Begoña, (2004), realizaron un estudio en un hospital rural pequeño ubicado en el estado de Chiapas, México, con el fin de examinar la prevalencia de miocardiopatía chagásica entre pacientes diagnosticados con insuficiencia cardiaca congestiva (ICC), así como en donantes de sangre, en ambos casos se analizaron mediante IHA y ELISA a 67 pacientes con ICC y 97 donadores de sangre, durante un periodo de seis meses, de estos el 82.5% de pacientes con ICC y el 17.5% de donadores de sangre resultaron positivos, mostrando que la enfermedad de Chagas sigue siendo una causa importante de insuficiencia cardiaca en algunas áreas de México y que sigue habiendo un riesgo por transfusión sanguínea si la sangre donada no se analiza de manera sistemática.

Vidal-López, *et al.*, (2021) realizaron un cribado serológico de 1556 muestras de sangre de escolares, provenientes de dos localidades de la región de Mezcalapa en el estado de Chiapas, México; en esta población se estableció 0.19% de positividad a *T. cruzi* mediante las pruebas confirmatorias de ELISA y de IFI. Los estudiantes

seropositivos fueron valorados mediante estudios cínicos, electrocardiográficos y ecocardiográficos encontrando en dos de ellos, hipertensión pulmonar ligera a moderada así como insuficiencia pulmonar ligera, que sumado a su historia clínica los sitúa con patologías cardiacas atribuibles a una infección crónica chagásica. Estos resultados señalan la circulación activa del parásito en la región y la necesidad de continuar con la vigilancia epidemiológica de la enfermedad.

En la comunidad de Los Mezcales, Chiapas, a partir de heces de *Triatoma dimidiata* se aislaron formas de tripomastigotes de *T. cruzi*. Los estudios mostraron que el parásito pertenece al linaje TcI, el cual es la variante genética más extendida en México y fue denominado IDIM/MX/16/Mezcales (Palma-González, *et al.* 2021).

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en pacientes ambulatorios con diagnóstico de cardiopatía, que acuden al Hospital de las Culturas San Cristóbal de Las Casas, Chiapas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Establecer el cultivo de promastigotes de la cepa *T. cruzi* IDIM/MX/16/MEZCALES y obtener antígenos solubles útiles para el inmunodiagnóstico
- Caracterizar demográficamente la población participante y con antecedentes de cardiopatía del Hospital de Las Culturas, SCLC.
- Medir los niveles de inmunoglobulinas séricas anti- *T. cruzi* en pacientes con signos clínicos de cardiopatías.
- Identificar los antígenos de *T. cruzi* reconocidos por las inmunoglobulinas de los pacientes con miocardiopatías chagásicas.

V. MÉTODOS

El presente estudio se realizó en colaboración del Hospital de las Culturas de la ciudad de (SCLC), Chiapas, ubicado en la región Altos del estado de Chiapas y con la autorización del director del dicho hospital (anexos 1 y 2). Este hospital es de segundo nivel de atención, sirviendo como referencia de toda la región Altos, así como lugares aledaños a ella; se atiende mayoritariamente a habitantes de la región Altos Tsotsil-Tseltal, aunque también de otras regiones de Chiapas (Blanco-Arreola, 2016) (Fig. 7)



Figura 7. Ubicación del hospital de las culturas, en SCLC obtenida a través de Google Earth Pro.

5.1 OBTENCIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS

Previa autorización de las autoridades del hospital, a los pacientes se les informó del objetivo del estudio y se les solicitó la firma de carta de consentimiento. Las muestras sanguíneas fueron tomadas en tubos con heparina por el personal responsable del área de laboratorio; las muestras biológicas se dejaron reposar en refrigeración y posteriormente centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos. El plasma fue guardado a -20° C hasta su uso.

5.2 CULTIVO DE PARÁSITOS Y PREPARACIÓN DEL ANTÍGENO

Los tripanosomas metacíclicos utilizados en el cultivo primario se obtuvieron de la sangre de un ratón infectado de la cepa IDIM/MX/16/MEZCALES (Palma-González, *et al.*, 2021) proporcionada por el Laboratorio Multidisciplinario Experimental y Bioterio, UNICACH.

Los parásitos transformados a formas de epimastigotes fueron cultivados y subcultivados *in vitro* en medio de infusión de hígado y triptosa (medio LIT) adicionado con 10% de suero fetal bovino (previamente inactivado), 0.05% de hemina y 100 U/mL de antibióticos (estreptomomicina y penicilina, GIBCO Catálogo 15070063) y a 28 °C.

Para la preparación de los extractos se recolectaron los parásitos por centrifugación a 13,000 rpm por 10 minutos y a 5°C; los parásitos se lavaron por centrifugación por dos ocasiones con solución salina tamponada con fosfato (PBS) pH 7.2.

Los parásitos fueron lisados por choque térmico de -86 y 50°C por cuatro veces durante 4 minutos en cada ocasión, finalmente la mezcla se centrifugó a 10,000 rpm durante 30 min a 4°C. El sobrenadante se recuperó y se determinó la concentración de proteínas mediante la relación 260/280 (NanoDrop Lite Plus Spectrophotometer)

5.3 ENSAYO POR INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMAS (ELISA) PARA LA DETECCIÓN DE INMUNOGLOBULINAS CON ACTIVIDAD ANTI *T. CRUZI*

En este trabajo se realizó un ensayo indirecto con un sistema de detección con dos anticuerpos: uno primario contra el antígeno (anticuerpos presentes en suero de las personas) y uno secundario marcado contra el primario (Inmunoglobulinas de cabra con actividad antihumana unida a peroxidasa de rábano). Como sistema indicador se utilizó la o-fenilendiamida y peróxido de hidrógeno, realizando la prueba de la siguiente manera:

Los pozos de una placa para ELISA se cubrieron con 100 µl de los antígenos (aproximadamente 10 µg/mL) en buffer de carbonatos pH 9.6.

Las placas se incubaron toda la noche a 4 °C. Se descartó la solución con el antígeno y se lavó en tres ocasiones los pocillos con solución una amortiguadora de fosfatos pH 7.4 conteniendo 0.05 % Tween 20 (PBS/T).

Se procedió a bloquear los sitios libres en los pocillos agregando 100 µl de una mezcla de leche en polvo descremada al 1% conteniendo 0.05 % de Tween 20 (PBS/T), esta se incubó por 1 h a 37 °C.

Después de retirar la solución bloqueadora se añadió a cada pozo 100 µl de los sueros humanos diluidos 1/20 en PBS/T (primer anticuerpo). Sueros positivos y negativos donados por el Laboratorio de parásitos de la Facultad de Medicina, UNAM se incluyeron como controles.

La placa se incubó durante la noche a 4° y posteriormente se lavaron los pocillos con PBS/T en las condiciones descritas anteriormente.

Se realizó una dilución 1/10,000 con PBS/T del anticuerpo de cabra con actividad anti-IgG de humano unido a la enzima peroxidasa de rábano (Sigma-A0293) (segundo anticuerpo); de esta se agregó 100 µl a cada pocillo y se incubó por 1 h a 37°C. Se descartó el segundo anticuerpo, y se procedió a lavar la placa con la solución de PBS/T en las condiciones descritas anteriormente.

Inmediatamente antes de ser utilizado se disolvió 0.008 g de *o*-fenilendiamida (Sigma P-9029) en 20 ml de solución amortiguadora de citratos- fosfatos pH 5.0 (Solución de revelado) adicionado con 200 μ l de peróxido de hidrógeno al 3%.

De la solución anterior, se agregó 100 μ l a cada pocillo y se incubó a temperatura ambiente y en oscuridad durante 30 minutos o hasta que el color se desarrolló. La reacción se fue detenida agregando 50 μ l a cada pocillo de HCl a 2.5 M y se leyó la placa en un lector de ELISA (Biorad model 680) a 492 nm.

5.4 IDENTIFICACIÓN DE LOS ANTÍGENOS RECONOCIDOS POR LAS INMUNOGLOBULINAS DE LOS PACIENTES CON CARDIOPATÍAS

Para determinar si las inmunoglobulinas de los pacientes con cardiopatía reconocen proteínas de *T. cruzi*, a) se realizó la separación de las proteínas del extracto antigénico en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS PAGE) y b) su transferencia a una membrana de nitrocelulosa en donde son expuestas a reaccionar con los anticuerpos provenientes del plasma o suero de los individuos de acuerdo a los descrito por Towin *et al.*, 1979.

a) Separación de las proteínas en geles de acrilamida (SDS PAGE)

1. Los geles de acrilamida fueron preparados entre dos placas de vidrio utilizando el sistema de Miniprotean (Bio Rad) siguiendo las instrucciones del fabricante.
2. Se utilizó un gel al 10% de acrilamida en amortiguador de Tris pH 8.8, SDS 10% y un gel concentrador de tipo preparativo al 5% de acrilamida en amortiguador de Tris pH 6.8, SDS 10%.
3. La muestra proteica de *T. cruzi* se preparó en buffer de tris pH 6.8 conteniendo β mercaptoetanol como agente reductor. La mezcla se hirvió en baño maría por 5 minutos, y finalmente se colocó en la poza del gel preparativo. Marcadores de peso molecular en un rango de 120 a 20 kDa fueron colocados simultáneamente para su comparación.
4. El corrimiento electroforético se llevó a 125 V, durante una hora o hasta que el frente de la muestra llegue al final del gel.

b) Inmunotransferencia

1. Después de terminada la electroforesis en geles de acrilamida, las proteínas separadas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa de 0.20 micrones (Biorad) utilizando 25 mM Tris, 192 mM glicina 20% v/v metanol, pH 8.3 en un equipo de Mini Trans-Blot® (Biorad 70-3930) durante 1 h a 120 volts de acuerdo a las instrucciones del fabricante.
2. La membrana de nitrocelulosa se colocó a 4⁰ C por 12 horas en 1% de leche descremada disuelta en PBS-Tween (PBS-T) con el fin de bloquear los sitios libres.
3. La membrana lavada con PBS-T se cortó en tiras, y se guardaron a 4°C hasta su incubación con los sueros a analizar.
4. Como primer anticuerpo se utilizó el suero de las personas con cardiopatía o controles positivos y negativos a la enfermedad de Chagas; El segundo anticuerpo fué el de cabra con actividad anti IgG humano unido a la enzima fosfatasa alcalina.
5. El revelado de las bandas se realizó con una solución de NBT (Nitro Blue Tetrazolium) y BCIP (5-bromo-4-cloro-3'-indolilfosfato) en buffer 0.1 M Tris, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, pH 9.5, durante 10 min.
6. Por cada banda revelada, se determinó su peso molecular por comparación con los de referencia y aplicando la siguiente fórmula:

$$R_f = \frac{\text{Distancia que migra una determinada proteína}}{\text{Distancia que migra el frente del gel}}$$

7. Se realizó un registro fotográfico de las bandas para su comparación.

5.5 RATIFICACIÓN DEL LINAJE GENÉTICO DE LOS EPIMASTIGOTES DE *T. CRUZI*

La extracción de ADN utilizando formas de epimastigotes de *T. cruzi* se realizó utilizando el KIT GeneJET Plant Genomic DNA[®] (Thermo Scientific) de acuerdo a las instrucciones del proveedor. El ADN extraído se cuantificó a 280/260 nm

El linaje genético se ratificó por PCR múltiple mediante la amplificación del espaciador intergénico de los genes del miniexón, utilizando los oligonucleótidos TC1 (5'-GTG TCC GCC ACC TC CTT CGG GCC-3'), TC2 (5'-CTG CAG GCA CAC GTG TGT GTG-3') y TCC (5'-CCCCCCTCCCAGGCCCACTG-3'), los cuales amplifican un fragmento de 300 pb para el grupo *T. cruzi* II y un fragmento de 350 pb para el grupo *T. cruzi* I. Los ciclos de amplificación se llevaron a cabo a una temperatura inicial de 94°C por 3 minutos, seguida de 27 ciclos de 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos y un ciclo final de 72°C por 10 minutos (Souto, 1996).

Los productos de la PCR fueron separados utilizando un gel de agarosa al 1.5% disuelto en buffer TAE y electroforéticamente por 1 hora a 90v. Terminada la electroforesis el gel fue sumergido en una solución de 0.5 µg/mL de bromuro de etidio. Las bandas fueron visualizadas bajo luz ultravioleta a con ayuda de un fotodocumentador

5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los ensayos de ELISA se realizaron por triplicado y se obtuvieron la medias y desviación estándar de la absorbancia de las muestras, comparándose con las obtenidas de las muestras control (negativas y positivas).

La reactividad de los sueros positivos y negativos se comparó mediante el análisis estadístico ANOVA y la prueba posterior de Bonferroni.

VI. RESULTADOS

6.1 CULTIVO DE PARÁSITOS

Se observó la transformación y proliferación de epimastigotes a partir de los 15 a los 17 días post inoculación en el medio LIT de sangre infectada de ratón. Los parásitos presentaron una morfología celular alargada, la presencia de un flagelo libre, un núcleo grande y un cinetoplasto con ubicación anterior terminal (fig. 8).



Figura 8. Medio de cultivo LIT completo inoculado con *T. cruzi* donde se observa la presencia de parásitos en forma epimastigota.

6.2 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS.

Durante un periodo de siete meses se capturaron un total 21 pacientes cardiopatas en el área de Medicina interna y Medicina externa en el Hospital de las Culturas, SCLC, Chiapas (cuadro 1).

Cuadro 1. Características de los pacientes que participaron en este estudio.

Identificación	Edad (años)	Sexo*	Ciudad	Estado	Ocupación	Región
----------------	-------------	-------	--------	--------	-----------	--------

RPV	57	F	Chilón	Chiapas	Hogar	XIV Tulijá Tsetal Chol
PAB	73	M	San Cristóbal de Las Casas	Chiapas	N/D**	V Altos Tsotsil Tsetal
CBGM	57	M	San Cristóbal de Las Casas	Chiapas	Carpintero	V Altos Tsotsil Tsetal
PBÁ	54	M	Huixtan	Chiapas	Campesino	V Altos Tsotsil Tsetal
RSL	55	F	San Cristóbal de Las Casas	Chiapas	N/D	V Altos Tsotsil Tsetal
ELS	63	M	Oxchuc	Chiapas	Albañil	V Altos Tsotsil Tsetal
PRG	72	M	Aldama	Chiapas	Agricultor	V Altos Tsotsil Tsetal
RGS	62	M	Oxchuc	Chiapas	Campesino	V Altos Tsotsil Tsetal
JGLL	N/D	M	N/D	N/D	N/D	N/D
CMG	64	F	Chanal	Chiapas	Hogar	V Altos Tsotsil Tsetal
ESF	56	M	Pueblo Nuevo Solistahuacán	Chiapas	Agricultor	VII De los Bosques
MSG	62	F	Oxchuc	Chiapas	Campesino	V Altos Tsotsil Tsetal
BPO	80	M	Chalchihuitan	Chiapas	N/D	V Altos Tsotsil Tsetal
SGE	70	M	Ocosingo	Chiapas	Campesino	XII Selva Lacandona
AES	N/D	M	N/D	N/D	N/D	N/D
AGM	69	F	Benemérito de las Américas	Chiapas	Hogar	XII Selva Lacandona
AGL	69	M	Yajalón	Chiapas	Campesino	XIV Tulijá Tsetal Chol
GPG	54	M	Aldama	Chiapas	Agricultor	V Altos Tsotsil Tsetal

LMS	73	F	San Cristóbal de Las Casas	Chiapas	Hogar	V Altos Tsotsil Tsel'tal
MSH	63	M	San Cristóbal de Las Casas	Chiapas	Hogar	V Altos Tsotsil Tsel'tal
MAC	52	F	San Cristóbal de Las Casas	Chiapas	Hogar	V Altos Tsotsil Tsel'tal

*F: femenino M: masculino, ** N/D: no dato.

A continuación, se muestra algunos datos agrupados de los individuos participantes (fig. 9). Como se puede observar, todos los participantes tuvieron un rango de edad entre 50 a más de 80 años, y los rangos mayoritarios se situaron entre 50 a 69 años.

Por sexo los hombres (M) correspondieron en una proporción cercana de 2.5% respecto de las mujeres

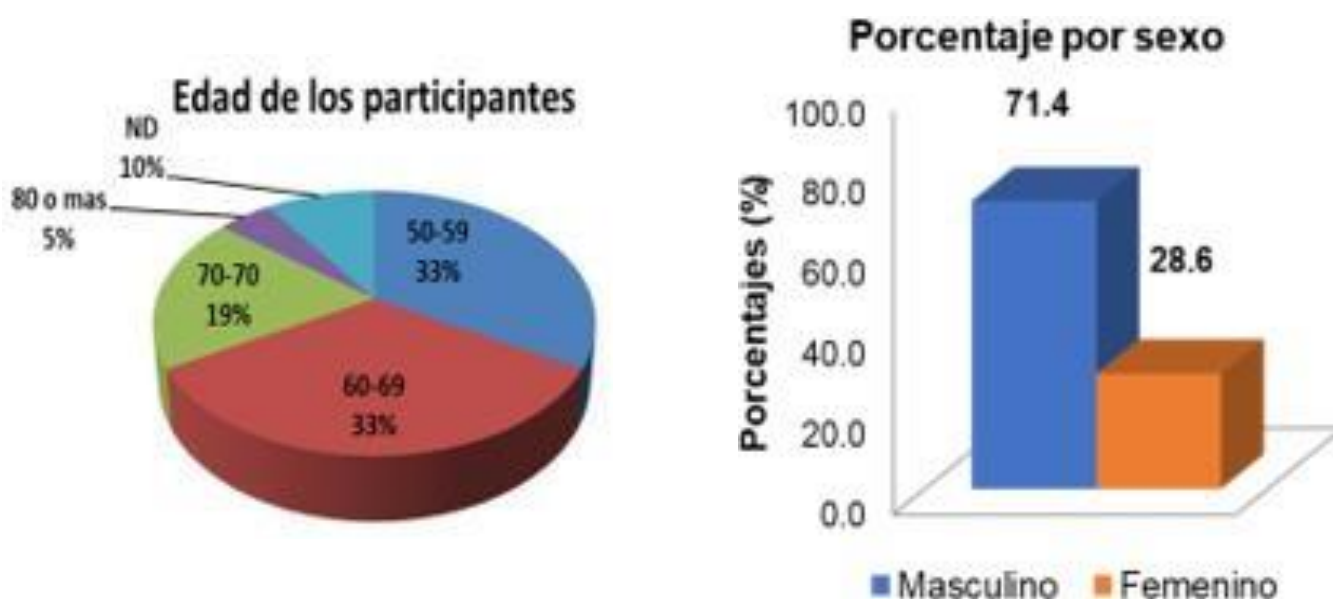


Figura 9. Composición porcentual por edad y sexo de la población estudiada

La mayoría de los individuos proviene de comunidades rurales, Se consideró a Oxchuc como una localidad semi urbana ya que existen parajes sin condiciones de saneamiento en tanto que Urbana a San Cristóbal de las Casas.

De esta manera agrupando por regiones socioeconómicas, la población estudiada correspondió en su mayoría a habitantes de la región V Altos Tsotsil Tsel'tal, que

incluye a San Cristobal de las Casas, Oxchuc, Chalchihuitan, Chanal, Huixtan y Aldama. En la región XIV denominada Tulijá Tsetal Chol se incluye a Yajalón y Chilón, en la región XII correspondiente a Selva Lacandona se incluyó a Ocosingo y Benemérito de las Américas y finalmente en la región VII De los Bosques la comunidad de Pueblo Nuevo Solistahuacán (fig 10).

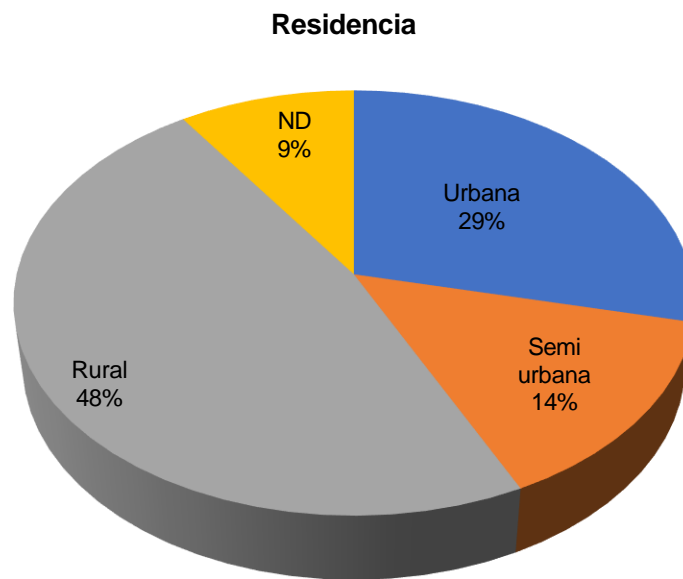


Figura 10. Región socioeconómica de la residencia de la población estudiada graficada porcentualmente

6.3 INMUNOENSAYO ENZIMÁTICO (ELISA) PARA LA DETECCIÓN DE INMUNOGLOBULINAS CON ACTIVIDAD ANTI *T. CRUZI*

Con la finalidad de estandarizar el extracto proteico de *T. cruzi*, éste se diluyó 1/20 y 1/40 (25 y 12.5 µg / mL respectivamente) en una placa de poliestireno de 96 pocillos. Se utilizaron sueros positivos, reactivos y negativos. Estas diluciones fueron utilizadas como primer anticuerpo y posteriormente reveladoa con un anticuerpo de cabra anti-IgG de humano unido a la enzima peroxidasa de rábano, de acuerdo al método descrito previamente. Como se observa en la figura 11 existe una buena diferenciación entre

la reactividad de los sueros control tanto diluido 1/20 como 1/40, por lo que se continuó trabajando con la dilución 1/40.

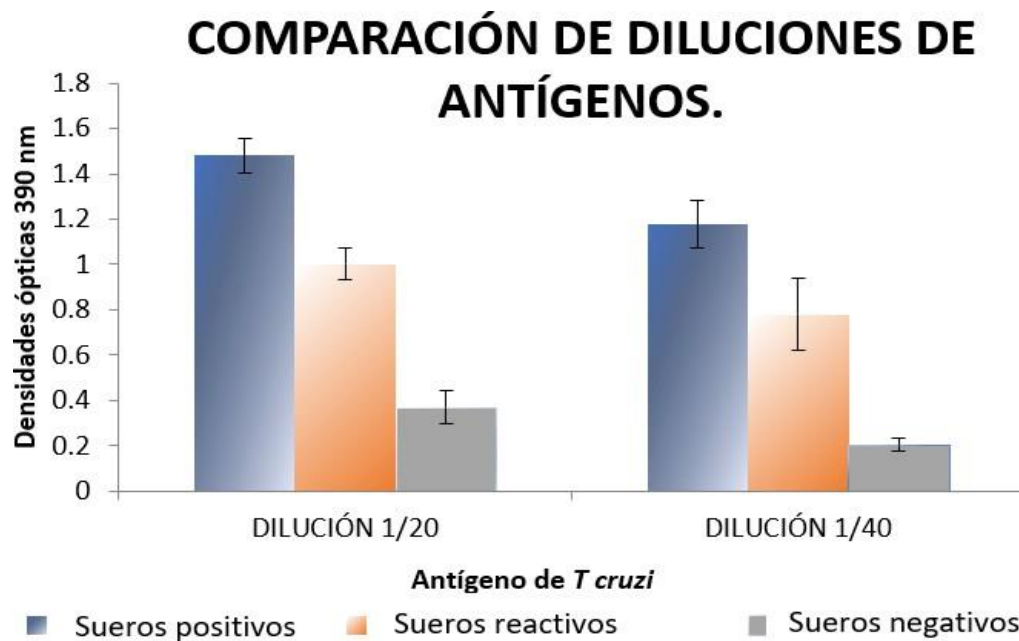


Figura 11. Gráfico de dilución de antígenos 1/20 y 1/40; los sueros para estandarizar la prueba se diluyeron 1/20 en PBS-T.

6.4 REACTIVIDAD DE LOS SUEROS CON CARDIOMIOPATÍAS A LAS PROTEÍNAS DE *T CRUZI*

Con el fin de darle un valor para manejar a las densidades ópticas a 490 nm. (DO_{490}) así como comparar los resultados entre las diferentes placas, se decidió que los promedios de los valores negativos de cada placa fueran igual a uno (1) y se convirtió

en porcentaje los obtenidos por los sueros humanos analizados. Así un valor promedio de un suero negativo de 0.217 a 490 nm, se convirtió en 1.00 y un suero problema de 0.645 a 490 nm a 2.97, Es decir se sigue la misma proporcionalidad. A esta conversión se le llamó porcentaje de reactividad. Se consideró un valor positivo cuando el porcentaje de reactividad fuera cuando menos del doble control (es decir de dos).

Al realizar las pruebas de ELISA con los sueros, se encontró que 7 pacientes (el 33%) presentaron Igs - anti *T. cruzi* (figuras 12 y 13).

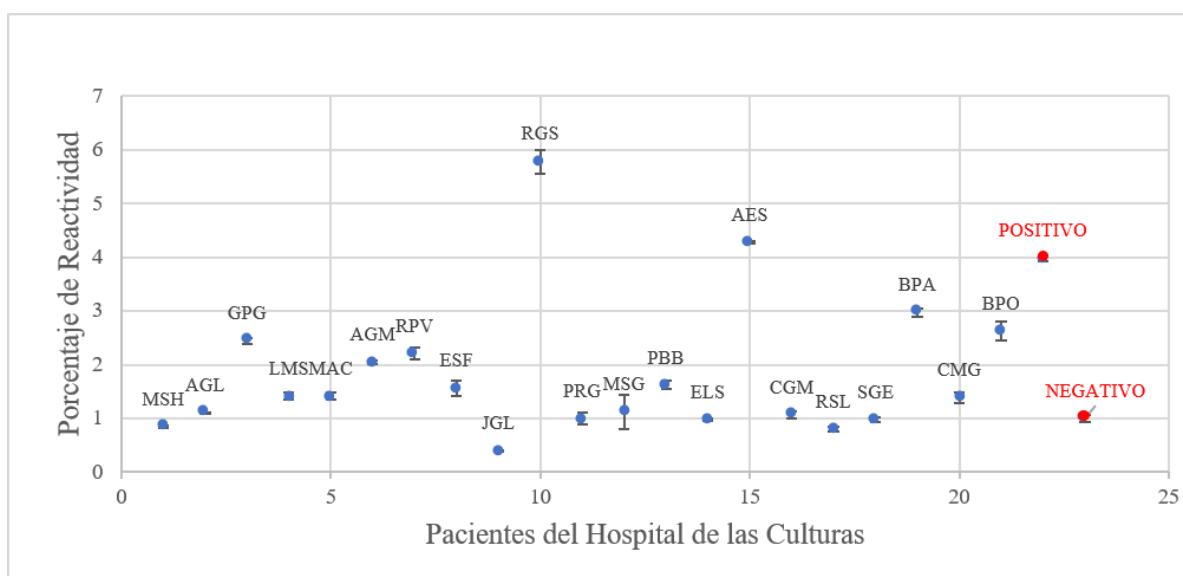


Figura 12. Resultados de la reactividad en los pacientes diagnosticados con cardiopatía. El eje de ordenadas corresponde al porcentaje de reactividad, mientras que el eje de las abscisas identifica a los pacientes (cuadro 1) y los controles positivo y negativo.

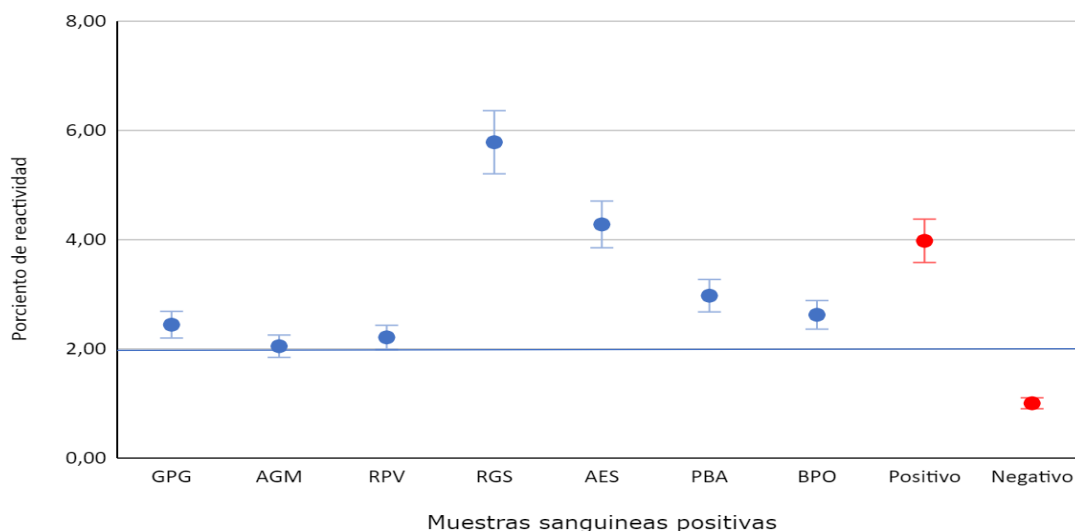


Figura 13. Resultados de los pacientes diagnosticados con cardiopatía y positivos a la prueba de ELISA anti *T. cruzi*. El eje de ordenadas corresponde al porcentaje de reactividad, mientras que el eje de las abscisas identifica a los pacientes (cuadro 1) y los controles positivo y negativo.

De los pacientes que resultaron positivos, el 71% corresponde al sexo masculino y el 29% al sexo femenino, de estos; en cuanto a edad, el 43 % se situó en el rango de 50-60 años, 29 % en 60-70 y el 17% corresponde a mayores de 70 y 17% no proporcionó su edad.

En cuanto a las características socioeconómicas de los pacientes seropositivos, el 43% de ellos tienen como ocupación la agricultura, 29% eran amas de casa y 28% no mencionaron su oficio; En cuanto al lugar de procedencia, ninguno de los pacientes que resultaron positivos a la enfermedad de Chagas pertenece a la ciudad de San Cristóbal de Las Casas, sin embargo, más de la mitad (57%) provienen de municipios que forman parte de la región V Altos Tsotsil-Tsentel, 15% de pacientes positivos pertenecen a la región XIV Tulijá Tsetal Chol y 14% de ellos pertenecen a la región XII Maya, el 14% restante no proporcionó dichos datos.

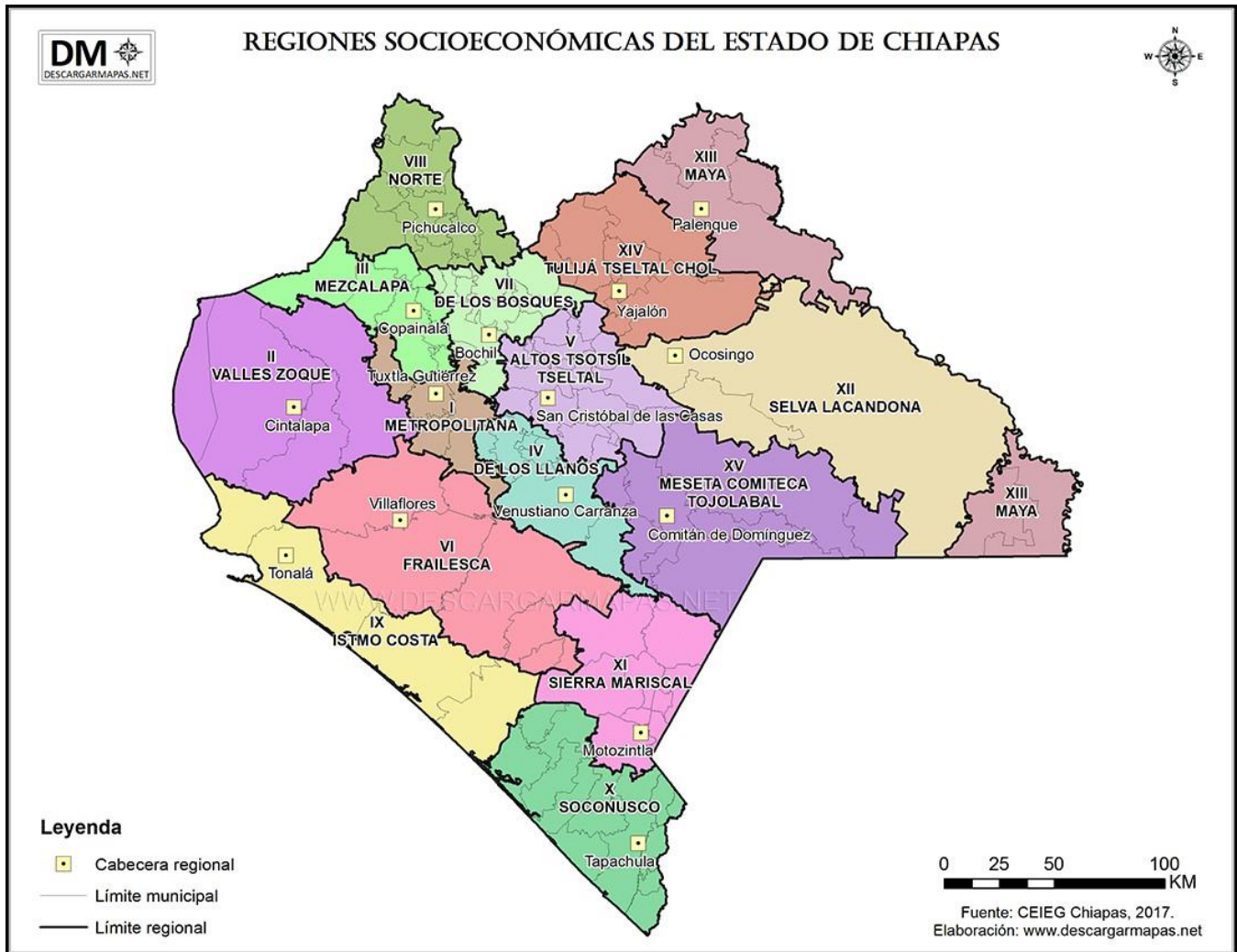


Figura 14. Mapa de las regiones socioeconómicas a los que pertenecen los pacientes seropositivos a Chagas, cuatro de estos municipios forman parte de la Región V Altos Tsotsil Tselstal (Chalchihuitán, Huixtán, Oxchuc y Aldama) y el municipio que forma parte de la Región XIV Tulijá Tsetal Chol es Chilón y el municipio que forma parte de la Región XIII Maya es Benemérito de las Américas. Imagen obtenida CEIEG, Chiapas, 2017

Según la CONAPO (2020), la mayor parte de los municipios de las tres regiones socioeconómicas a las que pertenecen los pacientes seropositivos se encuentran en un grado de marginación alto o muy alto, siendo esta última categoría en el que se ubicaron la mitad de los municipios de donde provienen los pacientes participantes. Dos de los municipios se encuentran en los primeros lugares estatales de marginación: Chalchihuitán, en segundo lugar, y Chilón, en quinto lugar.

Cuadro 2. Municipios de alta marginación a los que pertenecen los pacientes seropositivos, datos obtenidos de la CONAPO (2020).

REGIÓN	MUNICIPIO	GRADO DE MARGINACIÓN	ÍNDICE DE MARGINACIÓN	LUGAR ESTATAL DE MARGINACIÓN	LUGAR NACIONAL DE MARGINACIÓN
Región V Altos Tsotsil Tseltal	Chalchihuitán	Muy alto	37.807	2	10
	Huixtán	Muy alto	48.532	18	187
	Oxchuc	Muy alto	40.834	3	19
	Aldama	Alto	49.439	29	278
Región XIV Tulijá Tseltal Chol	Chilón	Muy alto	45.256	5	59
	Yajalón	Alto	49.181	27	1062
Región XIII Maya	Benemérito de las Américas	Alto	51.419	55	532

6.5 RECONOCIMIENTO DE ANTÍGENOS DE *T. CRUZI* POR EL SUERO DE PACIENTES DEL HOSPITAL DE LAS CULTURAS

En condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE), la separación de las proteínas de *T. cruzi* cepa los mezcales, IDIM/MX/16/MEXCALES (Palma-González., et al 2021) dio un patrón de aproximadamente 10 bandas de proteínas o cadenas polipeptídicas con tinción fuerte y otras 11 más débiles, cuyos pesos moleculares fueron de 13 a > 200 kDa; Las variaciones en la intensidad de las bandas dependen de la concentración de las proteínas en el extracto (García et al., 1996) (fig 15 carril Ag).

Las proteínas transferidas al papel de nitrocelulosa y expuestas a sueros positivos y negativos en ELISA de los pacientes del hospital de las Culturas, así como los controles positivos y negativos, reaccionaron claramente con el control positivo,

con cuatro muestras y uno que debe ser confirmado. Estas bandas deben de considerarse como antígenos capaces de despertar una respuesta inmune y se situaron predominantemente en bajos pesos moleculares (inferiores a 50kDa).

La comparación entre las bandas del antígeno en SDS-PAGE y las reconocidas por las muestras sanguíneas se presenta en la figura 15.

En todas las muestras se observó una banda que corresponde a una proteína de 175 KDa, sin embargo, dado que se presenta tanto en sueros negativos como positivos, se consideró inespecífica. Hay que hacer notar que, de las cuatro muestras sanguíneas positivas, dos reaccionaron en menor tiempo y gran claridad en comparación con el control positivo. De manera importante se encontró que el suero control positivo reaccionó de manera concordante con los antígenos reconocidos por los sueros de los pacientes.

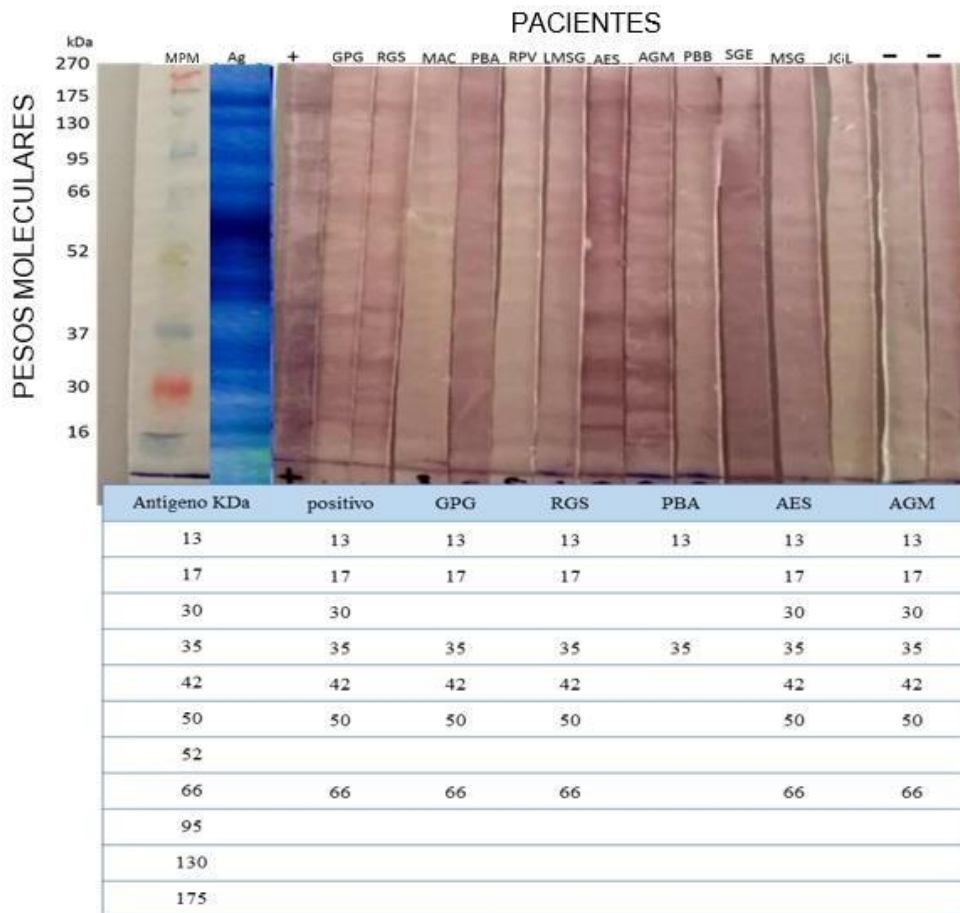


Figura 15. Inmunoreconocimiento de los antígenos de *T. cruzi* por los sueros de los pacientes con cardiomiopatías. El eje de ordenadas corresponde al marcador de peso molecular,

mientras que el eje de las abscisas identifica a los pacientes (cuadro 1) y los controles positivo y negativo.

Con el fin de poder comparar nuestros resultados y tener una opinión externa, Los sueros fueron enviadas a la Facultad de Medicina de la UNAM en donde se analizaron por la prueba de ELISA con antígenos extraídos de cepas del centro de México. Sus resultados coinciden en gran medida con los obtenidos por nosotros, especialmente con la prueba de inmunoelectrotransferencia (se anexa los resultados en la figura 16).



FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA
LABORATORIO DE BIOLOGIA DE PARASITOS
(55)56232466
(55)56232464

A QUIEN CORRESPONDA:

Resultados del tamizaje serológico para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* con dos diferentes técnicas de ELISA indirecta en microplaca.

ESTADO: CHIAPAS

MUNICIPIO: SAN CRISTOBAL DE LAS CASAS

LUGAR: HOSPITAL DE LAS CULTURAS

PRODUCTO BIOLÓGICO: SUERO (obtenido por punción venosa de antebrazo).

FOLIO	NOMBRE	Edad (años)	ELISA 1	ELISA 2
8	RGS	62	0,456	0,504
15	AES	N/D	0,381	0,474
16	AGM	69	0,368	0,522
18	GPG	54	0,433	0,486

Acorde con los lineamientos marcados por la OMS/OPS, todo resultado, confirmado en suero obtenido por punción venosa, positivo en dos pruebas serológicas, se considera seropositivo.

ELISA INDIRECTA: (D.O. 490 nm) POSITIVO: ≥ 0.180
ZONA GRIS: 0.160-0.179
NEGATIVO: < 0.160

ATENTAMENTE:
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Ciudad universitaria, Cd. Mx. a 28 de mayo del 2024

DRA. MARTHA I. BUCIO TORRES

Jefa del Laboratorio

Figura 16. Resultado de la prueba de ELISA realizados en el Laboratorio de Biología de Parásitos de la Facultad de Medicina, UNAM.

Si consideramos la positividad encontrada en las tres pruebas, entonces se obtienen cuatro muestras reactivas para anticuerpos contra *T. cruzi*; por lo que de acuerdo al total de las muestras analizadas, la prevalencia sería de 19 % entre los pacientes que acuden al Hospital de las culturas por problemas de tonicidad muscular del corazón y reducción de su capacidad para bombear sangre al resto del organismo.

Cuadro 3. Datos demográficos de los pacientes con cardiomiopatía reactivos a *T. cruzi* validado por tres métodos para detección de anticuerpo.

código	Edad	Sexo	Ciudad	Ocupación	Región
RGS	62	M	Oxchuc	Campesino	V Altos Tsotsil Tseltal
AES	N/D	M	N/D	N/D	N/D
AGM	69	F	Benemérito de las Américas	Ama de casa	XII Selva Lacandona
GPG	54	M	Aldama	Agricultor	V Altos Tsotsil Tseltal

6.6 RATIFICACIÓN DEL LINAJE GENÉTICO DE *T. CRUZI*

La genotipificación de *T. cruzi* mediante la amplificación de la región intergénica del gen mini exón, mostró un amplicón de 350 pb lo que corresponde a lo reportado para la cepa TcI y a los tripomastigotes de la cepa IDIM/MX/16/Mezcales (Palma-González, *et al.* 2021).



Figura 17. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, para la obtención de ADN de *T. cruzi*, los carriles 1, 6 y 10 corresponden a marcadores tamaño bajo para el ADN. Los carriles 2, 3, 7 y 8 corresponden a amplicones obtenidos del ADN de epimatigotes en cultivo. Los carriles 4, 9 y 11 muestran el amplicón distintivo del linaje TCI (350 pb) y el carril 5 al amplicón distintivo de TcII (300 pb)

VII. DISCUSIÓN

La infección humana por *Trypanosoma cruzi* y la enfermedad de Chagas han sido identificadas en México desde hace décadas Según Ruiz-Colorado, *et al.*, 2016 los últimos casos de mortalidad diagnosticada con esta enfermedad han sido detectados en hospitales de segundo nivel de atención y sugiere que las estrategias del Programa Nacional y Local para la vigilancia, prevención y control de la enfermedad de Chagas tienen una deficiente detección de los casos, lo cual resulta en un subregistro u omisión de enfermos.

En este trabajo se obtuvieron epimastigotes de la cepa IDIM/MX/16/MEZCALES utilizados para la extracción de las proteínas solubles como fuente de antígenos tanto en la prueba de ELISA como en la inmunoelectrotransferencia. La proliferación de los epimastigotes en medio de cultivo LIT, concuerda con lo obtenido para cultivos de otras cepas mexicanas provenientes de Nayarit, Oaxaca, Veracruz, Campeche y Guerrero analizados por Monteón *et al.*, (2009). en donde la epimastigogénesis se presentó entre 10-17 días post-inoculación.

T. cruzi comprende un conjunto de poblaciones de cepas que circulan entre vectores, hombres y reservorios, tanto domésticos como selváticos, clasificadas en siete linaje o DTU (de TCI a TCVI y Tc bat) (Rubio-Ortiz *et al.*, 2020), además se han encontrado co-infecciones de diferentes linajes tanto en el vector como en algunos hospederos (Araujo *et al.*, 2014; Ledezma *et al.*, 2020) por lo que se consideró importante ratificar el linaje de los epimastigotes cultivados. El resultado mostró que corresponde a TcI, en concordancia con lo reportado por Vidal-López *et al.*, 2017, que indica que éste es el genotipo es el más abundante en México y se concentra principalmente en Centroamérica y Norteamérica, así como el estudio realizado con los tripomastigotes de la cepa IDIM/MX16/MEZCALES por Palma-González *et al.*, (2021).

Las muestras de los pacientes con cardiomiopatías fueron obtenidas del Hospital de las Culturas. Este hospital es una unidad médica de concentración y referencia y dada su característica regional, acuden personas de diferentes regiones

del estado. Estudios previos en esta unidad de salud realizados por Blanco-Arreola, *et al.*, (2018) específicamente en el servicio de banco de sangre, detectaron que en un lapso de dos años y con 3,345 muestras sanguíneas analizadas, el 1.2% (41 de ellos) fueron reactivos por presencia de anticuerpos contra *T.cruzi* lo cual indica una alta prevalencia de seropositivos en donadores de sangre y un riesgo para los receptores. Asimismo, se resalta la importancia de la función del hospital en la captación de enfermos de diferentes enfermedades y específicamente para la enfermedad de Chagas.

La selección de pacientes fue dirigida con un total de 21 muestras de suero de pacientes cardiopatas. Con una única prueba estandarizada de ELISA se obtuvo un 33% de positividad. Esta seropositividad pudiera considerarse alta, aunque para el estado de Chiapas y en estudios en poblaciones más abiertas, han mostrado que la seroprevalencia oscila entre el 3 y 28% dependiendo de la zona geográfica del estado (Blanco-Arreola *et al.*, 2018; Mazariego-Arana *et al* 2001),

Por otro lado, Capps y Begoña (2004) en un hospital rural de Chiapas, seleccionaron a 40 pacientes con insuficiencia cardíaca que no tenían factores de riesgo de sufrir este trastorno por otras causas. En ellos, el 82,5% tuvieron resultados positivos a *T. cruzi* en la prueba de ELISA, la Hemaglutinación Indirecta o en ambas. Sin embargo la positividad para ambas pruebas únicamente se encontró en 12 muestras, lo que indica la necesidad de estandarizar tanto las pruebas como los antígenos utilizados; adicionalmente dada la variabilidad genética de cepas y aislados observada, aún entre aislados de una misma región geográfica, diversos autores han alertado sobre el uso de antígenos provenientes de cepas de distinto origen geográfico al de los sueros analizados, lo que pudiera impactar en el diagnóstico y subregistro de casos (Graterol y Contreras, 2019). Ante ello, las pruebas realizadas por nosotros utilizan antígenos procedentes de parásitos que circulan en nuestro estado.

La situación descrita anteriormente, también ha dado la pauta para que dentro de los lineamientos de la Organización Panamericana de la Salud, se observe que para considerar a un individuo sospechoso de tener la enfermedad de Chagas, sus muestras deben tener un resultado positivo en al menos dos pruebas serológicas

diferentes; por ello, se realizaron tres pruebas serológicas a fin de confirmar la presencia de *T. cruzi* en los pacientes con cardiopatía del hospital.

Las tres pruebas combinadas (ELISA, Inmunoelctrotransferencia y una ELISA externa) en los sueros del Hospital de las Culturas indican una prevalencia de 19 % y estos resultados pueden considerarse positivos a la presencia del parásito en los enfermos cardiopatas e indicar una alta prevalencia de pacientes positivos a *T. cruzi* en el hospital de las culturas.

Otros estudios dirigidos en pacientes con miocardiopatía dilatada como el realizado en el Servicio de Cardiología del Hospital General Regional "Dr. Rafael Pascacio Gamboa" de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas por Guillen-Ortega *et al.*, (2005) establecieron con las pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA hasta un 54% de positividad en 28 sujetos Todos los pacientes provenían de medio rural pobre.

La detección de anticuerpos por la inmunoelctrotransferencia puede ser muy valiosa. Por un lado, discrimina entre los sueros positivos y negativos de manera confiable y por otro señala qué proteínas son altamente inmunogénicas y útiles para el inmunodiagnóstico. Por ejemplo, Araujo (1986), reconoció antígenos del grupo de las glicoproteínas de 31 a 21 kDa específicos de *T. cruzi* al no presentar reacciones cruzadas con *Leishmania braziliensis* y *L. donovani*. El autor relaciona la banda de 21 KDa con la documentada por Sharfstein *et al.* (1983), y que se encuentra ubicada en la superficie de la membrana celular de todas las etapas de desarrollo de *T. cruzi*, así como en varias cepas y reconocidas por personas chagásicas. Los antígenos de 20 y 35 KDa reportadas en este trabajo, podría corresponder a las anteriormente mencionadas, más aún, Graterol y Contreras (2019), mencionan que los antígenos por debajo del marcador de 50 kDa son reconocidos por anticuerpos tardíos presentes en sueros de pacientes crónicos, pero no en etapa aguda.

En este trabajo se observa una mayor proporción de seropositivos en el sexo masculino con respecto al sexo femenino, lo cual concuerda en lo observado en estudios similares, en donde, se asocia al sexo masculino a una mayor mortalidad, aunque las razones de esta no se encuentran del todo esclarecidas, diferentes

estudios han demostrado cierta resistencia a adquirir la enfermedad en el sexo femenino, (Hines-Chaves *et. al.*, 2019; Olivera-Mar *et. al.*, 2006).

En cuanto a la edad de los pacientes seropositivos se observa que se encontraban en un rango de entre 50 a 70 años, según Rojo-Medina *et al.*, (2018) la fase indeterminada o cuadro crónico asintomático puede tener una duración mayor a 30 años, aunque en general, se considera una persistencia entre 15 a 20 años. Dicho dato podría indicar que los pacientes tuvieron contacto con el parásito durante su juventud o adultez. Molina *et al.*, (2015) menciona que durante la fase crónica, la mayor parte de los pacientes son asintomáticos, sin embargo, un porcentaje variable de pacientes desarrollan complicaciones décadas después de la infección, predominantemente con afección cardíaca. Lo anterior no descarta la infección crónica en jóvenes o adultos jóvenes en zonas donde existe una transmisión activa, y en donde se puede contraer la infección a temprana edad o por transmisión materno- fetal como ha sido reportado por Vidal-López (2015).

Las características sociodemográficas y epidemiológicas de la enfermedad de los pacientes cardiopatas seropositivos atendidos en el Hospital de Las Culturas reconocen algunos de elementos que apoyan al marco general de la cardiopatía causada por *T. cruzi*, tales como un grado de marginación alto, entidades federativas que se encuentran por debajo del trópico de cáncer, comunidades alrededor de los 2000 m.s.n.m y que cumplan con un clima tropical o subtropical (Sierra-Johnson *et. al.*, 2005); así, todos los pacientes seropositivos provenían de comunidades con un grado de marginación alto o muy alto, lo que concuerda también con la OPS, s.f. sobre que la enfermedad de Chagas tiene una fuerte vinculación con aspectos socioeconómicos deficitarios.

La mayor proporción de pacientes positivos provenían de la región V altos tsotsil-tseltal, esta región muestra una densidad de población mayor que el promedio nacional y estatal, en donde, casi la totalidad de sus municipios indígenas están clasificados con un índice de desarrollo humano muy bajo y con un grado de marginación alto o muy alto, lo cual refleja la pobreza en que la población de esta región vive (INEGI, 2010). En la inevitable relación de la sociedad-naturaleza, la

modificación y el uso del ecosistema han desequilibrado las interacciones de los triatomíneos con su hábitat y con sus hospederos. En este sentido, las diferentes formas de interacción de las personas con su entorno físico y sociocultural, enmarcadas en fuerzas estructurales socioeconómicas, puede resultar en manifestaciones particulares en la epidemiología de la transmisión (Valdez, 2016).

Por las características fisiográficas o geográficas de la región V altos tsotsil-tseltal pudiera pensarse que la infección por Chagas es baja o inexistente, sin embargo, en este estudio se demuestra que el diagnóstico proporcionado por el médico especialista a del hospital de las culturas se debe a la infección por *T. cruzi*. Una explicación para este suceso es el movimiento migratorio, el cual trae consigo elementos determinantes para el contexto de la enfermedad de Chagas, su vector y su parásito.

En el área de salud, la urbanización tiene una relación directa con las enfermedades infecciosas por la facilidad de ser trasladadas con las personas y sus medios de transporte, por lo que se puede decir que los movimientos poblacionales han sido acompañados de enfermedades (Chi-Méndez, 2016). De acuerdo con la Unidad de Política Migratoria (UPMRIP), durante el 2021 se registraron 307.679 eventos de personas extranjeras presentadas o canalizadas por la autoridad migratoria, de los cuales, en Chiapas se registraron 76.333 (IOM, 2022).

VIII. CONCLUSIONES

Se confirmó la positividad a *T. cruzi* en el 19% de las muestras provenientes de pacientes cardiopatas del Hospital de las Culturas de San Cristóbal de las Casas, Chiapas, mediante tres pruebas serológicas.

La inmunoelectrotransferencia puede ser utilizada como una prueba inmunodiagnóstica en la enfermedad de Chagas y reconoce antígenos de bajo peso molecular de *T. cruzi* asociados a la fase crónica de esta enfermedad. .

La consulta externa del Hospital de las Culturas en SCLC acoge una población regional con cardiopatías provenientes de las zonas endémicas de la enfermedad de Chagas, por lo que las pruebas inmunológicas anti- *T. cruzi* deben de complementar a las evaluaciones clínicos y epidemiológicas para descartar la miocardiopatía chagásica.

IX. PERSPECTIVAS

Los resultados señalan la necesidad de incrementar el tamizaje sanguíneo como parte de un protocolo para el diagnóstico oportuno en la fase aguda de la enfermedad y evitar la progresión de la enfermedad

El aislamiento de los antígenos reconocidos en la inmunotransferencia por los sueros positivos son de gran importancia para desarrollar futuras pruebas inmunodiagnósticas que permitan reconocer la cardiomiopatía chagásica

X. REFERENCIAS DOCUMENTALES

- Araújo, C.A.C., Waniek, P.J. y Jansen, A.M. 2014. TcI/TcII co-infection can enhance *Trypanosoma cruzi* growth in *Rhodnius prolixus*. *Parasites Vectors* 7, 94..
- Bastidas-Leal, K.L. 2023. Variabilidad genética y Unidades Discretas de Tipificación I (DTU I) basado en el gen que codifica la proteína de choque térmico 70 de *Trypanosoma cruzi* en el Estado de Morelos. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos. <http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/3869>
- Belejer, J., Carreras, L. y Salamone, H. 2002. Riesgo de transmisión de infecciones por vía transfusional. *Medicina*. 62(3): 259-278.
- Blanco-Arreola, F.G., Nájera-Ortiz, J.C. y Ruíz-Balbuena, F. 2018. Frecuencia de serorreactividad a Chagas en un hospital de Chiapas, México. *Revista de Salud Pública y Nutrición*. 17(1):1-6.
- Bravo-Ramírez, I. E., Pech-May, A., May-Concha, I. J., y Ramsey, J. M. (2023). Conocimientos actuales sobre *Trypanosoma cruzi* y la enfermedad de Chagas en México: una revisión sistemática. *Salud Pública de México*, 65(2 mar-abr), 175–180. <https://doi.org/10.21149/14020>
- Capps, L. y Begoña, A. 2004. Chagas cardiomyopathy and serological testing in a small rural hospital in Chiapas, Mexico. *Pan Amer J Health*. 15:337-340.
- Cárdenas-Sánchez, J.D., Mazagario-Arana, M.A., Utrilla-Pascacio., F.J., Monteón-Padilla, V.M. y Altúzar- González, M. 2002. Anticuerpos anti- *Trypanosoma cruzi* en pacientes con cardiopatía dilatada. *Revista Médica IMSS*. 41(2): 111-114.
- Carrado-Bravo, T. 2004. *Trypanosoma cruzi*: Historia natural y diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Revista Mexicana de Patología Clínica*. 51(4): 205-219.

- Castañón, E. 2020. Protocolo de diagnóstico, manejo y tratamiento de la enfermedad de Chagas y Chagas congénito. <https://hn.sld.pa/wp-content/uploads/2021/04/Protocolo-de-Chagas-y-Chagas-Congenito-.pdf>. Consultado el 22 de junio de 2023.
- Ceballos-Pomares, J.C., Cuéllar-Rufino, S., Vazquez-Ortega, M.F., López-Dominguez, J., Romero-Cruz, V. y Calderón-Garcidueñas, A.L. 2017. Inmunología de la enfermedad de Chagas congénita. *Perinatología y Reproducción Humana*. 31(3): 144-150.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2021. Tripanosomiasis americana. <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamericana/>. Consultado el 19 de junio de 2023.
- Chi-Méndez, C.G., 2016. Efectores poblacionales de la migración rural y el ambiente construido sobre la infestación y colonización de vectores de la Enfermedad de Chagas en Mérida, Yucatán. Tesis de maestría. Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Mérida, Yucatán.
- Consejo Nacional de Población. 2020. Índices de Marginación 2020. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/848423/Indices_Coleccion_280623_entymun-p_ginas-1-153.pdf. Consultado el 23 de junio de 2023.
- Cordero-Pérez, L., Zárate-Castañeda, R., Ramos-Corrales, M.A., y Cordero-Contreras, J. 2002. Miocardiopatía dilatada chagásica en el estado de Chiapas, México. *Revista mexicana de cardiología*. 4(13):153-157.
- Córdova, L. 2007. Identificación y descripción molecular de cepas de *Trypanosoma cruzi* y su análisis filogenético mediante secuenciación del gen para Citocromo B. Tesis de Licenciatura. Universidad de Chile. Santiago, Chile.
- Cruz-Alegría, I., Gutiérrez-Ruiz, J., Cortés-Ovando, D., Santos-Hernández, N., Ruiz-Castillejos, C., Gómez-Cruz, A., Coutiño-Ovando, C., Vidal-López, D. y De Fuentes-Vicente, J. 2021. Prevalencia y conocimiento de la enfermedad de Chagas en dos comunidades del sureste de México. *Revista biomédica*. 32(2):107-112.

- García-López, C. Identificación de Unidades Discretas de Tipificación (DTU) de aislados de *Trypanosoma cruzi* de Chiapas y Oaxaca, México. Tesis de Tesis de Licenciatura. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Chiapas.
- Gramajo, M. y González, E. 2015. Evaluación de pruebas para la detección de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi*. Tesis de Licenciatura. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Graterol, D. y Contreras, V. 2019. Comparación de *Trypanosoma cruzi* de diferente procedencia epidemiológica para el inmunodiagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Biomedicina* 31. 315-323.
- Guhl, F. 2009. Enfermedad de Chagas: Realidad y perspectivas. *Revista biomédica*. 20(3):228-234.
- Guillén-Ortega, F., Pérez-Vargas, A., Estrada-Suárez, A., Morelos-Villegas, J., Ricárdez-Esquinca, J., Monteón-Padilla, V. y Reyes, P.A. 2005. Anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* con miocardiopatía dilatada en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. *Archivos de Cardiología de México*. 75(3): 49-54.
- Guzmán-Marín, E.S., Zavala-Castro, J.E., Acosta-Viana, K.Y. y Rosado-Barrera, M.E. 1999. Importancia de la caracterización de cepas de *Trypanosoma cruzi*. *Revista Biomédica*. 10(3):177-184.
- Gobierno de México. 2016. Información General de la Enfermedad de Chagas. <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/enfermedad-de-chagas>. Consultado del 23 de junio de 2023.
- Hernández-Becerril, N., Nava, A., Reyes, P. y Monteón, V. 2001. IgG subclass reactivity to *Trypanosoma cruzi* in chronic chagasic patients. *Archivos de cardiología de México*. 71(3):199-205.
- Hines-Chaves, K.D., Zumbado-Vásquez, R. y Castro-Corrales, V. 2019. Enfermedad de Chagas: afección cardíaca. *Revista Médica Sinergia*. 4(5): 101-110.

- International Organization for Migration. 2022. México – Monitoreo de flujos migratorios en Tapachula y Tenosique, Ronda 2 (Abril 2022). <https://dtm.iom.int/reports/mexico-monitoreo-de-flujos-migratorios-en-tapachula-y-tenosique-ronda-2-abril-2022#:~:text=De%20acuerdo%20con%20la%20Unidad,Chiapas%20y%2044.008%20en%20Tabasco..> Consultado el 20 de noviembre de 2023.
- Kropf, S.P. y Massarani, L. 1997. Carlos Chagas, la ciencia para combatir enfermedades tropicales. Museu da Vida/ Casa de Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, Brasil.
- Ledezma, A. P., Blandon, R., Schijman, A. G., Benatar, A., Saldaña, A., & Osuna, A. (2020). Mixed infections by different *Trypanosoma cruzi* discrete typing units among Chagas disease patients in an endemic community in Panama. PLoS one, 15(11), e0241921
- Levine, N.D., Corliss, J., Cox, F., Grano, D., Honigberg, B., Leedale, G.F., Loeblich, A., Lom, J., Lynn, D., Merinfeld, F.C., Poljansky, V., Espraga, J. y Wallace, F.G. 1980. A newly revised classification of the protozoa. The Journal of Protozoology. 27 (1): 37-58.
- López- Becerra, D. 2021. Quimioterapia anti-*Trypanosoma cruzi*: acción de nuevos compuestos frente a diferentes dianas terapéuticas. Tesis de Grado. Departamento de Biología y Geología, área de Parasitología. Universidad de Almería. Almería, España.
- Martin, U. O., Cristina, G., Maidana, H., Fernández, A. y Subias, E. 1986. Anticuerpos específicos anti-*Trypanosoma cruzi* en niños con enfermedad de Chagas aguda. Medicina. 46: 167-171.
- Martínez-Cuevas, T.I. 2018. Caracterización biológica, genotipificación e identificación de antígenos de aislados de *Trypanosoma cruzi* obtenidos en el Estado de Oaxaca. Tesis de Doctorado. Centro de Investigación y de Estudios avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México.

- Martínez, I., Cervantes-Landín, A. y Espinoza, B. 2013. Diagnóstico Molecular de la enfermedad de Chagas. *Gaceta Médica de México*. 149(3):363-365.
- Mazariego-Arana, M.A., Monteón-Padilla, V.M., Ballinas-Verdugo, M., Hernández-Becerril, N., Alexandre-Aguilar, R., Reyes, P.A. 2001. Seroprevalence of human *Trypanosoma cruzi* infection in different geographical zones of Chiapas, México. *Rev Soc Bras Med Trop*. 34:453-458.
- Molina, I., Salvado, F. y Sánchez- Montalvá, A. 2016. Actualización en enfermedad de Chagas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 34(2):132-138.
- Monteón, V., Godínez, S., Cruz-Zetina, G., Balmes, J., López, R. y Hernández, Ó. 2009. Caracterización biológica de aislados mexicanos de *Trypanosoma cruzi*: metaciclogénesis, parasitemia y resistencia contra benznidazol. *Revista Biomédica*. 20(3):206-214.
- Murcia, L., Carrilero, B., Saura, D., Iborra, M. y Segovia, M. 2013. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Chagas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 31(1): 26-34.
- Murillo-Godínez, G. (2018). Enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). *Medicina interna de México*, 34(6), 959-970. <https://doi.org/10.24245/mim.v34i6.2217>
- Rojo-Medina, J., Ruiz-Matus, C., Salzar-Schettino, P.M. y González-Roldán, J.F. 2018. Enfermedad de Chagas en México. *Gaceta Médica de México*. 154: 605-612.
- Rubio-Ortiz, M., Hernández-López, L., Pérez-Galicia, A., Guzmán-Bracho, C., Martínez-Calvillo, S. y Manning-Cela, R. 2020. Diagnóstico de la infección con *Trypanosoma cruzi*: avances y retos. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*. 20(1):7-27.
- Ruiz-Colorado, M.C., Rivas-Acuña, V., Gerónimo-Carrillo, R., Hernández-Ramírez, G., Soancatl-Castro, M. y Damian-Pérez, R. 2016. Nivel de conocimiento y factores de riesgo de la enfermedad de Chagas en una comunidad de Cárdenas, Tabasco, México. *Salud en Tabasco*. 22(3): 61-69.

- Rueda, K., Trujillo, J.E., Carranza, J., Adolfo, G. 2014. Transmisión oral de *Trypanosoma cruzi*: una nueva situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países suramericanos. *Biomédica*. 34(4):631-641.
- Ochoa, H. 2018. La Frontera Sur de México, ¿una salud en crisis? Academia Nacional de Medicina de México. México D.F.
- Olivera-Mar, A., Hernández-Vicencio, C., Camacho-Marie, M., Hernández-Becerril, N., Monteón-Padilla, V.M., Vallejo, M. y Reyes, P.A. 2006. Cardiopatía chagásica crónica en el Hospital General de Zona N° 24 IMSS. Poza Rica, Veracruz. *Archivos de cardiología de México*. 76(3): 269-276.
- Organización Mundial de la Salud. 2021. La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)). Consultado el 12 de noviembre de 2022.
- Organización Panamericana de la Salud. s.f. Enfermedad de Chagas. <https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>. Consultado el 11 de noviembre de 2022.
- Ortega, G.M., Beltrán, H. y Zavala, V. 1976. Enfermedad de Chagas en México. *Salud Pública de México*. 18(5): 837-846.
- Palma-González, C. A., Recinos-Vázquez, H. I., Burguete-Gutiérrez, J. C., De Fuentes-Vicente, J. A., Schlie-Guzmán, M. A., Vidal-López, D. G., Díaz-Gómez, J., Vidal, J. E., Gutiérrez-Jiménez, J. (2021). A *Trypanosoma cruzi* strain from southern Mexico is more virulent for male mice in part by blocking the immune response. *Journal of infection in developing countries*, 15(11), 1714–1723.
- Salazar-Schettino, P.M., Cabrera-Bravo, M., Vázquez-Antona, C., Zenteno, E., De Alba-Alvarado, M., Torres-Gutiérrez, E., Guevara-Gómez, Y., Perera-Salazar, M.G., García de la Torre, G. y Bucio-Torres M.I. 2016. Chagas Disease in Mexico: Report of 14 Cases of Chagasic Cardiomyopathy in Children. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 240 (3): 243-249.

- Secretaría de Salud. 2019. Manual de procedimientos para la enfermedad de Chagas en México. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/447946/Manual_de_Procedimientos_para_la_Enfermedad_de_Chagas_en_Mexico.pdf. Consultado el 11 de noviembre de 2022.
- Secretaría de Salud. 2020 Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Vector (ETV). https://epidemiologia.salud.gob.mx/gobmx/salud/documentos/manuales/36_Manual_ETV.pdf. Consultado el 11 de noviembre de 2022
- Sierra-Johson, J., Olivera-Mar, A., Monteón-Padilla, V.M., Reyes, P.A. y Vallejo, M. 2005. Panorama epidemiológico y clínico de la cardiopatía chagásica crónica en México. *Revista de Saúde Pública*. 39(5): 754-760.
- Souto, R. 1996. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 83(2), 141–152.
- Towbin, H., Staehelin, T., Gordon, J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76 (9): 4350-4354.
- Vacca-Carvajal, M.A., y Mercado-Reyes, M.M., 2005. Evaluación de las pruebas diagnósticas en enfermedad de Chagas: determinación de las características operativas de las pruebas serológicas con cepas colombianas de *Trypanosoma cruzi* utilizadas para el diagnóstico de enfermedad de Chagas. Tesis de maestría. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. Colombia.
- Velasco-Castrejón, O. y Rivas-Sánchez, B. 2008. Apuntes de la historia de la enfermedad de Chagas en México. *Medigraphic Artemisa*. 65: 57-79.
- Valdez- Tah, A.R. 2016. La vulnerabilidad socio-ambiental ante la transmisión vectorial de la Enfermedad de Chagas en Yucatán, México. *Antrópica Revista de Ciencias Sociales y Humanidades*. 2(4): 183-196.

Velázquez-Ramírez, D. D., Pérez de León, A. A., & Ochoa-Díaz-López, H. (2022). Review of American trypanosomiasis in southern Mexico highlights opportunity for surveillance research to advance control through the one health approach. *Frontiers in public health*, 10, 838949. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.838949>

Vidal-López, D.G. 2015. Descripción clínica y cardiológica en menores de 18 años seropositivos a *Trypanosoma cruzi* en dos comunidades de Chiapas. Tesis de doctorado. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Chiapas, México. <https://repositorio.unicach.mx/bitstream/handle/20.500.12753/407/129.pdf?sequence=1>

XI. ANEXO



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, 11 de noviembre de 2022

DR. SERGIO GÓMEZ MÉNDEZ

Director del Hospital de Las Culturas
San Cristóbal de las Casas, Chiapas

PRESENTE

Atención

Dr. Víctor Hugo López López

Encargado del Área de Enseñanza

Dr. Octavio Coutiño Niño

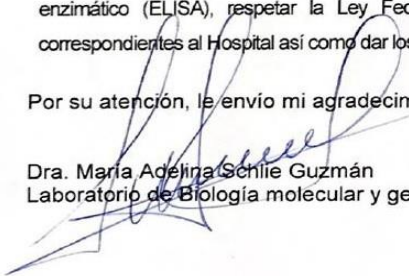
Encargado de la Jurisdicción

Por medio de la presente, me permito solicitar su invaluable ayuda a fin de poder realizar el proyecto titulado "Nivel de inmunoglobulinas anti *Trypanosoma cruzi* en pacientes con cardiopatías en el Hospital de las Culturas, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas" que pretende desarrollar como opción de titulación de la Licenciatura en Biología la C. ROCIO ALFARO CARBALLO con matrícula 64118048 bajo mi dirección en el laboratorio de Biología Molecular y Genética de este Instituto.

La Enfermedad de Chagas es causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* y uno de los daños más severos es la miocardiopatía chagásica crónica, siendo en Latinoamérica, una de las causas más frecuentes de enfermedad cardíaca, dado que se confunde con las originadas por otras causas. Nuestro Estado se considera endémico a esta enfermedad y encuestas serológicas señalan la presencia de anticuerpos anti *T cruzi* en algunos pacientes que acuden a los servicios hospitalarios del Sector Salud con miocardiopatía dilatada (MD) o en donadores de sangre.

Debido a la importancia del tema y mucho agradeceríamos nos puedan proporcionar muestras de suero sobrantes de los análisis que realizan, así como algunos datos de la procedencia de los pacientes que ingresan con cardiopatías a esa institución. Nuestro compromiso es realizar los análisis inmunológicos mediante la prueba de Inmunoensayo enzimático (ELISA), respetar la Ley Federal de Protección de Datos Personales, proporcionar los resultados correspondientes al Hospital así como dar los créditos correspondientes.

Por su atención, le envío mi agradecimiento anexar el protocolo


Dra. María Adelina Schlie Guzmán
Laboratorio de Biología molecular y genética

Ccp archivo

022 Año de Ricardo Flores Magón
RECURSOR DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA



Libramiento Norte Poniente. No. 1150 Col. Lajas Maciel
C.P. 29039, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.
Tel. 01 (961) 61 7 0449 ext. 4240
biologia@unicach.mx



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas;
17 de noviembre de 2022
Asunto: carta de presentación

Dr. Sergio Gómez Méndez
Director del Hospital de Las Culturas de San Cristóbal de Las Casas.
PRESENTE.

A través del presente, sirva este escrito para constatar el respaldo institucional que existe por parte del Instituto, a la estudiante **Rocío Alfaro Carballo** con matrícula **64118048**, alumna de 9° semestre de la Licenciatura en Biología, para solicitar permiso para recabar muestras de suero sobrantes de los análisis que realizan, para llevar a cabo el proyecto de investigación "Nivel de inmunoglobulina anti *Trypanosoma Cruzi* en pacientes con cardiopatías en el Hospital de las Culturas, San Cristóbal de las Casas, Chiapas", como parte de los requisitos de titulación en el Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

Para ello, y sobre todo, para cumplir con todas las disposiciones y regulaciones en materia de salud, es que ponemos a su consideración esta carta.

En espera de su valiosa intervención, aprovecho la ocasión para enviarle un afectuoso saludo.

Atentamente

"Por la cultura de mi raza"


Mtro. Ricardo Hernández Sánchez
Director



C.c.p. archivo
RHS/jygg

2022 Año de Ricardo Flores Magón
PRECURSOR DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA

Libramiento Norte Poniente. No. 1150 Col.
Lajas Maciel
C.P. 29039, Tuxtla Gutiérrez: Chiapas.
Tel. 01 (961) 61 7 0440 ext. 4240
biologia@unicach.mx

INSTITUTO DE SALUD Y SALUD PÚBLICA DE CHIAPAS

SECRETARÍA DE SALUD
ESTADO DE CHIAPAS
SAN CRISTÓBAL DE LAS CASAS

DEPARTAMENTO DE SALUD
LABORATORIO DE INVESTIGACIONES Y REFERENCIA EN SALUD

El presente informe tiene como finalidad informar a la autoridad competente sobre los resultados de los análisis de laboratorio realizados a la muestra de agua de consumo humano que se le sometió a los procedimientos de análisis físico-químico y bacteriológico, de acuerdo a la solicitud de fecha 15 de mayo de 2017.

Los resultados de los análisis realizados a la muestra de agua de consumo humano, se detallan en el presente informe, de acuerdo a los parámetros que se le sometió a los procedimientos de análisis físico-químico y bacteriológico.

Vo Bna

INSTITUTO DE SALUD CHIAPAS
HOSPITAL DE LAS CULTURAS
LABORATORIO
SAN CRISTÓBAL DE LAS CASAS
Q.F.B. Floriberto Perfecto Hernández
C.P. 10002387



Vo
Dr. Víctor H. Juárez
Jefe de Laboratorio
autorizado

**Consentimiento informado para la realización de ELISA en búsqueda de Ac
Anti- *T. cruzi*.**

El (la) que suscribe. **Acepta voluntariamente** realizarse el estudio para la detección de la Enfermedad de Chagas, que puede ser origen de algunas enfermedades del corazón. Dicha prueba se realizará a partir de las muestras de laboratorio que se hacen de forma rutinaria para el control de su cardiopatía.

Me han reiterado el compromiso de que toda la información por mi proporcionada se mantendrá confidencialmente.

_____	<u>ROCIO ALFARO CARBALLO</u>
TESTIGO	RESPONSABLE DEL ESTUDIO
(Nombre y firma)	(Nombre y firma)

PACIENTE
(Nombre y firma)

DATOS DEL PACIENTE:

Edad: _____ Sexo: () Hombre () Mujer

Referencias:

Calle: _____

No. _____ Col. _____

Ciudad: _____ Estado: _____

Ocupación _____ Fecha de Nac: _____

Teléfono: _____