



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

**Trabajo de Titulación para optar al título de**  
Licenciada en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

**Título:** Caracterización clínica y técnicas de laboratorio para el diagnóstico de  
*Trypanosoma cruzi* en Latinoamérica

**Autoras:**

Tituaña Caiza Gabriela Lizeth

Yambay Rodríguez Erika Vanessa

**Tutora:**

Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos

**Riobamba - Ecuador**

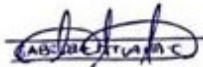
**2022**

## DERECHOS DE AUTORÍA

Nosotras Tituaña Caiza Gabriela Lizeth con cédula de ciudadanía 185046992-3 y Yambay Rodríguez Erika Vanessa con cédula de ciudadanía 060515244-6, autoras del trabajo de investigación titulado: “**Caracterización clínica y técnicas de laboratorio para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi* en Latinoamérica**”, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedemos a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de las autoras de la obra referida, será de nuestra entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 18 de mayo de 2022



---

Srta. Gabriela Lizeth Tituaña Caiza  
ESTUDIANTE  
C.I. 1850469923



---

Srta. Erika Vanessa Yambay Rodríguez  
ESTUDIANTE  
C.I. 0605152446

## DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Tutor y Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación “**Caracterización clínica y técnicas de laboratorio para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi* en Latinoamérica**”, presentado por Tituaña Caiza Gabriela Lizeth con cédula de identidad 185046992-3 y Yambay Rodríguez Erika Vanessa con cédula de identidad 060515244-6, certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha asesorado durante el desarrollo, revisado y evaluado el trabajo de investigación escrito y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 18 de mayo de 2022

Mgs. Ximena Robalino Flores  
**Presidente del tribunal de grado**



---

Firma

Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez  
**Miembro del tribunal de grado**



---


Firma

Mgs. Mercedes Balladares Saltos  
**Tutora**

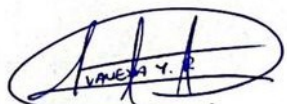


---

Firma



Srta. Gabriela Lizeth Tituaña Caiza  
ESTUDIANTE  
C.I. 1850469923



Srta. Erika Vanessa Yambay Rodríguez  
ESTUDIANTE  
C.I. 0605152446

## CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación “**Caracterización clínica y técnicas de laboratorio para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi* en Latinoamérica**”, presentado por Tituaña Caiza Gabriela Lizeth con cédula de identidad 185046992-3 y Yambay Rodríguez Erika Vanessa con cédula de identidad 060515244-6, bajo la tutoría de **Mgs. Mercedes Balladares Saltos**; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 18 de mayo de 2022

Mgs. Ximena Robalino Flores  
**Presidente del tribunal de grado**



---

Firma

Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez  
**Miembro del tribunal de grado**



---

Firma

Mgs. Mercedes Balladares Saltos  
**Tutora**



---

Firma



Dirección  
Académica  
VICERRECTORADO ACADÉMICO



UNACH-RGF-01-04-02.20  
VERSIÓN 02: 06-09-2021

## CERTIFICACIÓN

Que, **TITUAÑA CAIZA GABRIELA LIZETH** con cédula de Identidad **185046992-3** Y **YAMBAY RODRÍGUEZ ERIKA VANESSA** con cédula de identidad **060515244-6**, estudiantes de la Carrera de **LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO, NO VIGENTE** Facultad de **CIENCIAS DE LA SALUD**; han trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado **"Caracterización clínica y técnicas de laboratorio para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi* en Latinoamérica"**, cumpliendo con el 7 %, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio URKUND, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 16 de Mayo de 2022.

Mgs. Mercedes Balladares  
TUTOR (A)

## DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a las personas más importantes en mi vida mis padres, gracias a ellos he podido encaminarme en la vida, su ejemplo, consejos y sabiduría han inspirado en lo más profundo de mí ser para lograr esta nueva meta. A mis hermanas Victoria, Joselyn y mi hermano Bryan Tituaña por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento gracias. A toda mi familia, en especial a mis abuelitos porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas. *(Tituaña Gabriela)*

## DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico al forjador de mi camino, a mi padre celestial, el que me acompaña y siempre me levanta de mi continuo tropiezo.

A mis padres por haberme formado con valores, quienes han sido mi pilar fundamental para seguir adelante y mi gran motivo de vida.

A mis hermanos Sebastián y Mateo quienes me ayudaron a no rendirme y superar cada obstáculo que se presentó en mi camino para llegar a esta meta. A toda mi familia por confiar en mí, a mis abuelitos por ser personas que me han ofrecido su amor, calidez y permitirme ser su orgullo.

*(Yambay Vanessa)*

## AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por permitirme estar con vida y realizar este trabajo, por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a mis padres: Joaquín e Irma, por ser los principales promotores de mis sueños, por creer en mi persona, por los valores y principios que me inculcaron. A mis docentes de la Universidad Nacional de Chimborazo, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de mi preparación profesional, de manera especial, a la Mgs. Mercedes Balladares tutora de mi proyecto de investigación quien me ha guiado con su paciencia, y sus conocimientos para culminar este trabajo. *(Tituaña Gabriela)*



## AGRADECIMIENTO

En primera instancia agradezco a Dios por permitirme sonreír ante todos mis logros que son resultado de su ayuda.

A mis padres José Ignacio y María Antonieta, por ser personas sabias quienes se han esforzado por brindarme su apoyo para llegar al punto en el que me encuentro y formarme e inculcarme valores y principios. A mis docentes de la Universidad Nacional de Chimborazo por haber compartido durante todo este tiempo sus conocimientos y saberes, en especial a la Mgs. Mercedes Balladares tutora quien con ardua labor y desempeño supo dirigirme para lograr concluir con éxito mi proyecto de investigación. (*Yambay Vanessa*)

## ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I.....	16
INTRODUCCIÓN.....	16
CAPÍTULO II.....	21
MARCO TEÓRICO.....	21
<i>Trypanosoma cruzi</i> .....	21
Triatomino.....	21
Ciclo de vida.....	22
Epidemiología.....	23
Manifestaciones Clínicas.....	24
Fase aguda.....	24
Fase indeterminada.....	25
Fase crónica.....	25
Formas de transmisión.....	26
Transmisión vectorial.....	27
Transmisión congénita.....	27
Transmisión por trasplante de órganos.....	27
Transmisión por transfusión de sangre.....	28
Transmisión oral.....	28
Factores de riesgo.....	29
Prevención.....	30
Intervenciones basadas en la comunidad.....	30
Preparación contra la propagación mundial.....	30
Tratamiento.....	31
Diagnóstico de Laboratorio.....	31
Métodos de diagnóstico para la fase aguda.....	32

Examen en fresco .....	33
Gota gruesa .....	33
Microhematocrito .....	34
Prueba de Strout .....	34
Métodos diagnósticos para la fase crónica.....	34
Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA).....	35
Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).....	36
Hemaglutinación Indirecta (HAI) .....	36
Métodos Parasitológicos y de Biología Molecular .....	37
Xenodiagnóstico .....	37
Cultivo in vitro .....	37
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) .....	37
CAPÍTULO III.....	40
METODOLOGÍA.....	40
Criterios de inclusión y exclusión.....	41
Criterios de inclusión .....	41
Criterios de excusión .....	41
CAPÍTULO IV. ....	43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	43
CAPÍTULO V.....	63
CONCLUSIONES .....	63
BIBLIOGRAFÍA .....	65
ANEXOS.....	72

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Factores de transmisión .....	44
<b>Tabla 2.</b> Características clínicas según las fases de Enfermedad de Chagas.....	48
<b>Tabla 3.</b> Técnicas de laboratorio utilizadas para el diagnóstico de <i>Trypanosoma cruzi</i> en la fase aguda.....	51
<b>Tabla 4:</b> Pruebas de laboratorio utilizadas para el diagnóstico de <i>Trypanosoma cruzi</i> en la fase Crónica .....	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Principales métodos de diagnóstico directo de <i>T. cruzi</i> . .....	32
<b>Figura 2.</b> Formas tripomastigotas en forma de C en un frotis de sangre teñido con Giemsa (1000 aumentos). .....	33
<b>Figura 3.</b> Figura 3. Diagnóstico molecular por PCR de <i>T. cruzi</i> ; 1) toma de muestra sanguínea; 2) aislamiento del ADN total; 3) generación de copias de ADN específicas del parásito; 4-5) análisis de los resultados mediante electroforesis usando muestras de referencia (positivas y negativas). .....	38

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue recopilar información científica acerca de la caracterización clínica y técnicas de laboratorio para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi* en Latinoamérica. La enfermedad de Chagas es una patología infecciosa producida por el parásito *Trypanosoma cruzi* que se transmite a través del vector triatomino, cuando infecta a su hospedero destruye las células y provoca una respuesta inflamatoria. Es considerada la parasitemia más importante en Latinoamérica. Para el estudio se realizó una indagación de carácter descriptivo donde se seleccionó datos actualizados, según el diseño es documental y no experimental porque no se manipuló las variables de investigación. Además, presenta una secuencia temporal, cronológica de tipo transversal, retrospectivo con una población de 78 artículos y una muestra empleada de 51 fuentes bibliográficas donde se incluyen documentos científicos de alto impacto como: Revista Scielo, Pubmed, Elsevier, Medigraphic, Springer, Google Académico y páginas oficiales Organización Mundial de la Salud y Organización Panamericana de la Salud. Los criterios de inclusión fueron artículos relacionados al tema publicados hace 10 años y los criterios de exclusión artículos de años inferiores al 2013. Se concluyó que el diagnóstico para la Enfermedad de Chagas depende de la fase clínica que se encuentre el paciente. En el periodo agudo, donde hay una alta parasitemia, se prefiere utilizar métodos directos como el examen en fresco y en el periodo crónico se utilizan métodos indirectos, que detectan la presencia de anticuerpos (Inmunoensayo enzimático).

**Palabras Claves:** Enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, Diagnóstico, Caracterización clínica, Triatomino.

## ABSTRACT

The objective of this research was to collect scientific information about the clinical characteristics and laboratory techniques for the diagnosis of *Trypanosoma cruzi* in Latin America. Chagas disease is an infectious pathology caused by the *Trypanosoma cruzi* parasite that is transmitted through the triatomine vector. When it infects its host, it destroys cells and causes an inflammatory response. It is considered essential parasitaemia in Latin America. A descriptive inquiry was carried out for the study, where updated data was selected. According to the design, it is documentary and not experimental because the research variables were not manipulated. In addition, it presents a temporal, chronological, cross-sectional, retrospective sequence with a population of 78 articles and a sample of 51 bibliographic sources used, including high-impact scientific documents such as Magazine Scielo, Pubmed, Elsevier, Medigraphic, Springer, Google Scholar, and official pages World Health Organization and Pan American Health Organization. The inclusion criteria were articles related to the topic published ten years ago, and the exclusion criteria were articles from years less than 2013. It was concluded that the diagnosis of Chagas Disease depends on the clinical phase of the patient. In the acute period, where there is a high parasitaemia, it is preferred to use direct methods such as fresh examination. In the chronic period, indirect methods are used, which detect the presence of antibodies (enzyme immunoassay).

**Keywords:** Chagas disease, *Trypanosoma cruzi* , Diagnosis, Clinical characterization, Triatomine.

DARIO  
JAVIER  
CUTIOPA  
LA LEON

Firmado  
digitalmente por  
DARIO JAVIER  
CUTIOPALA LEON  
Fecha: 2022.05.27  
01:20:43 -05'00'

Reviewed by:  
Lic. Dario Javier Cutiopala Leon  
**ENGLISH PROFESSOR**  
c.c. 0604581066

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es una antropozoonosis que se ha extendido a través de la migración, causada por un parásito protozooario hemoflagelado *T. cruzi*, que fue identificado en la primera década del siglo XX <sup>1</sup>. Su principal vía de transmisión en sitios endémicos es vectorial, a partir de insectos triatomínicos que tienen su ecosistema natural en el continente americano <sup>2</sup>.

Los triatomínicos son conocidos vulgarmente como “vinchucas”, que se transmiten al parásito una vez que defecan sobre la dermis o mucosas al picar para alimentarse, cuando el individuo se toca o rasca la picadura <sup>3</sup>. Otras formas de son a través de transfusiones de sangre, trasplante de órganos, congénitamente o por vía oral a través del consumo de subproductos de frutas (por la ingesta de alimentos contaminados con parásitos) o por accidente de laboratorio <sup>2</sup>.

El sitio de penetración del parásito, particularmente en niños, surge de manera característica hinchazón palpebral unilateral (signo de Romaña). La lesión primaria se acompaña de fiebre, linfadenitis regional aguda, diseminación del parásito a la sangre y los tejidos. El trastorno grave más frecuente de la enfermedad de Chagas es la miocarditis intersticial. Otros órganos afectados son el hígado, el bazo y la médula ósea, en particular con la infección crónica por *T. cruzi* <sup>4</sup>.

La enfermedad de Chagas tiene dos fases, inicialmente, la fase aguda dura unos dos meses después de contraerse la infección, durante esta fase transitan por el torrente sanguíneo un gran número de parásitos, pero en algunos casos no hay síntomas o estos son leves y no específicos.

En la fase crónica, los parásitos están ocultos principalmente en el músculo cardíaco y digestivo. Un 30% de los pacientes sufren trastornos cardíacos y un 10% presentan alteraciones digestivas (agrandamiento del esófago o del colon), neurológicas o mixtas. Con el paso de los años, la infección puede provocar muerte súbita por insuficiencia cardíaca progresiva como resultado de la destrucción del músculo cardíaco y sus inervaciones.



Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) los pacientes con enfermedad de Chagas están en riesgo de padecer síntomas graves en caso de contraer COVID-19, por lo que deben ser un grupo prioritario para la vacunación <sup>5</sup>.

El diagnóstico en la fase aguda, congénita y reactivada se basa en la detección de parásitos mientras que el diagnóstico de la enfermedad en la fase crónica se basa en pruebas serológicas <sup>6</sup>.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce a la enfermedad de Chagas como uno de los padecimientos tropicales más desatendidos <sup>5</sup>. Se estima que ocho millones de personas se ven afectadas en áreas endémicas y más de veinte millones están en riesgo de exposición. La incidencia de mortalidad en pacientes supera las 10.000 muertes anuales y durante la gestación se infectan 8.600 recién nacidos <sup>5,7</sup>.

La enfermedad de Chagas es endémica comúnmente en 21 países de América Latina, (Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guyana Francesa, Guatemala, Guyana, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Suriname, Venezuela y Uruguay), estrechamente vinculada con aspectos socioeconómico-culturales deficitarios <sup>2</sup>. En las últimas décadas este padecimiento se ha observado en Estados Unidos, Canadá, en 17 países europeos y algunos del Pacífico occidental <sup>8</sup>.

El triatomino por su hábitat natural se extiende desde el sur de Estados Unidos a la región central de Argentina y Chile, su distribución es muy heterogénea, siendo estas las áreas más afectadas el centro y sur de Bolivia (con prevalencia cercana al 30% de la población general), norte de Argentina, sur de Perú y determinadas áreas de Paraguay, Brasil, Ecuador, Nicaragua, sur de México y El Salvador <sup>2</sup>.

México es un país endémico para la enfermedad de Chagas, donde dos terceras partes del territorio pueden ser consideradas en riesgo de transmisión vectorial, es decir que 1'100,000 individuos podrían estar infectados con *Trypanosoma cruzi* y 29'500,000 en riesgo de contraer la infección. La morbimortalidad del padecimiento es importante las características de la vivienda, condiciones biológicas, ambientales y factores socioculturales <sup>9</sup>.

En la actualidad, debido a los flujos migratorios, se han producido importantes cambios epidemiológicos en la enfermedad de Chagas, diagnosticándose un número creciente de personas en áreas no endémicas principalmente en Europa y Norteamérica. En Europa, el estado español es el país más afectado, se estima que puede haber entre 50 y 700 000 personas con enfermedad de Chagas <sup>2</sup>.

En el Ecuador la enfermedad de Chagas es endémica, país ubicado en la región noroeste de América del Sur. La infección por *T. cruzi* se considera un problema de salud pública en el Ecuador, debido a que es endémica en la Amazonía, la costa del Pacífico y en algunas zonas subtropicales de la cordillera de los Andes. La Organización Panamericana de la Salud (OPS) y el Ministerio de Salud Pública (MSP) del Ecuador estiman una prevalencia general de infección por *T. cruzi* de 1,38% la población general ecuatoriana con una mortalidad anual de 7,7 por 1000 seropositivos, es decir que existen 1.300 muertes anuales <sup>10</sup>.

La tripanosomiasis americana o mejor conocida como enfermedad de Chagas fue descrita por primera vez por el médico brasileño Carlos Ribeiro Justiniano Chagas en 1909, quien definió como una infección parasitaria hística y hemática que se presenta principalmente en Latinoamérica <sup>11</sup>.

La enfermedad de Chagas es una afección parasitaria, sistémica, crónica, transmitida por vectores y causada por el protozooario *Trypanosoma cruzi*, con una firme vinculación con aspectos socio-económico-culturales deficitarios, considerada como una enfermedad desatendida <sup>7</sup>.

Este padecimiento constituye tres etapas: aguda, indeterminada y crónica. Los pacientes con infección aguda a menudo son asintomáticos o tienen una enfermedad febril inespecífica leve. Los síntomas pueden incluir fiebre, escalofríos, manifestaciones gastrointestinales, linfadenopatía, hepatoesplenomegalia o una mezcla de manifestaciones cutáneas. Un chagoma es una pápula o nódulo indurado, eritematoso que se presenta en el sitio de inoculación. Esto puede ocurrir semanas después de la infección inicial.

El signo de Romaña se asocia clásicamente con la enfermedad de Chagas aguda y se caracteriza por edema palpebral y periocular secundario al depósito del parásito en la conjuntiva <sup>12</sup>.

La etapa indeterminada de la enfermedad de Chagas refleja una respuesta inmunitaria del huésped y una disminución de la carga parasitaria. Esto ocurre durante meses después de la infección. En este momento, los anticuerpos contra *T. cruzi* están presentes y la enfermedad clínica está ausente <sup>12</sup>.

La etapa más devastadora de la enfermedad es la fase crónica, hasta un tercio de los pacientes con enfermedad de Chagas progresan a esta etapa que presenta anomalías en la conducción cardíaca, insuficiencia cardíaca congestiva dilatada o eventos tromboembólicos. La afectación gastrointestinal (GI) ocurre en una minoría de pacientes infectados, sin embargo, de ellos, la manifestación más común es el megaesófago por daño a los ganglios autónomos con acalasia subsiguiente, disfagia, pérdida de peso o aspiración recurrente. Finalmente, los pacientes con la enfermedad que se vuelven inmunocomprometidos y pueden experimentar una reactivación <sup>12</sup>.

El diagnóstico para la enfermedad de Chagas presenta limitaciones, debido a la baja sensibilidad de las técnicas parasitológicas y la baja especificidad de las inmunológicas. Las técnicas moleculares, especialmente la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), que detecta secuencias específicas de ADN del parásito, es una alternativa.

Aunque la técnica de PCR también tiene algunas limitaciones en cuanto a costo, infraestructura necesaria y sensibilidad en fase crónica de la enfermedad, tiene muchas ventajas especialmente en casos agudos, Chagas congénito, inmunodeficiencias, evaluación y seguimiento del tratamiento.

Los métodos de biología molecular se caracterizan por ser específicos y poseer elevada sensibilidad, ya que detectan el ácido desoxirribonucleico (ADN) del parásito, aunque exista una cantidad pequeña de estos en la circulación sanguínea <sup>13</sup>.

Su principal aporte fue recopilar las características clínicas y las técnicas de laboratorio para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi* en Latinoamérica con la posibilidad de tratar dicha

enfermedad a tiempo, a través de la búsqueda y revisión bibliográfica de fuentes primarias y secundarias que sirvan para el diagnóstico del parásito, los métodos que actualmente se recomiendan, sus ventajas y las limitaciones que presentan. Teniendo en cuenta que un diagnóstico adecuado, depende el tratamiento para la dicha patología.

Al desarrollar el marco teórico se ampliará conceptos que ayudarán a esclarecer en gran medida el presente problema acerca de la enfermedad de Chagas causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, que se transmite principalmente a través de un insecto vector, de madres a hijos, a través de transfusión de hemoderivados, trasplante de tejidos no controlados y por ingesta de alimentos contaminados <sup>14</sup>.

## CAPÍTULO II.

### MARCO TEÓRICO

#### *Trypanosoma cruzi*

La enfermedad de Chagas causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, parásito cinetoplástico, se transmite principalmente a través del vector de la subfamilia *Triatominae* que son insectos hematófagos <sup>14</sup>.

*Trypanosoma cruzi* pasa por tres etapas en su desarrollo: epimastigotes en el vector, tripomastigotes (en la corriente sanguínea) y la fase intracelular redondeada, el amastigote (Anexo 1). Las formas hemáticas de *T. cruzi* aparecen en los comienzos de la etapa aguda y a intervalos cada vez más escasos, los tripomastigotes. Las formas tisulares, que surgen con mayor frecuencia en el miocardio, el hígado y el cerebro, se desarrollan de una manera de amastigotes que se multiplican hasta integrar una colonia intracelular después de invadir la célula del hospedador o por fagocitosis del parásito <sup>4</sup>.

- **Epimastigote:** forma elongada, con cinetoplasto en forma de barra o bastón ubicado en la región anterior del núcleo, se encuentra en el tubo digestivo del insecto vector y en cultivo.
- **Tripomastigote:** forma elongada, fina y larga, el flagelo emerge y se adhiere a lo largo del cuerpo del parásito. Esta forma es la más infectante y se encuentra en el vector, sangre y espacio intercelular de hospedadores vertebrados.
- **Amastigote:** forma redondeada, con cinetoplasto en forma de barra o bastón en la región anterior del núcleo, flagelo corto. Esta forma se encuentra en el interior de las células de hospedadores infectados <sup>15</sup>.

#### **Triatomino**

El triatomino tiene muchos nombres comunes: chinche besucona o chinche picuda (México), vinchuca (Ecuador y Patagonia), chipo (Venezuela), pito (Colombia) y barbeiro (Brasil) son hematófagos.

La mayoría de las especies de triatomíneos son de hábitos nocturnos y permanecen en sus nidos durante el día, aunque en épocas de estrés alimentario pueden salir durante el día a buscar alimento. En colonias cultivadas en el laboratorio, los triatomíneos se alimentan uniformemente durante el día y la noche.

Los triatomíneos pueden variar en el tamaño desde 5 mm a 44 mm y, en general, se les considera de movimientos lentos, y los adultos poseen capacidad de vuelo, aunque no se los ve con frecuencia y esto parece depender de las condiciones de alimentación y de la temperatura ambiental <sup>16</sup>.

Una característica de estos insectos es que su abdomen se dilata considerablemente, como resultado de la extensión de las membranas que los cubren cuando terminan de alimentarse, debido a que el volumen de sangre ingerida es grande. Algunas especies son propensas a defecar mientras se alimentan, otras defecan inmediatamente después o incluso descartan su fuente de alimento y mantienen las heces lejos del sitio de succión de sangre. Este comportamiento determina si son buenos o malos portadores de Chagas <sup>17</sup>.

## **Ciclo de vida**

*T. cruzi* tiene un ciclo de vida complejo que implica la infección por huéspedes vertebrados y la transmisión por insectos vectores. Este parásito pasa por tres estadios morfológicos principales: la forma amastigote no flagelada y las formas flageladas epimastigote y tripomastigote. Los epimastigotes se multiplican en insectos vectores y finalmente se diferencian para dar lugar a los tripomastigotes metacíclicos capaces de infectar huéspedes vertebrados <sup>18</sup> (Anexo 2).

Tras la picadura, el parásito se libera en las heces del vector. En el momento en el que las heces entran en contacto con la piel del mamífero picado, los tripomastigotes metacíclicos penetran la lesión que deja la picadura o incluso la mucosa intacta (oral, nasal o conjuntival). Es allí donde los tripomastigotes metacíclicos infectan varios tipos de células nucleadas y se establecen en el citoplasma, donde se transforman en amastigotes y luego de un pequeño período se convierten nuevamente en tripomastigotes.

Estos últimos provocan la ruptura de células huésped para poder ser liberados en la circulación sanguínea y linfática, para seguir invadiendo nuevas células hospederas en donde se repetirá su transformación a amastigotes <sup>11,19</sup>.

Durante muchos años se ha considerado que hay tres etapas básicas de desarrollo de *Trypanosoma cruzi*: Epimastigote (Epi), Amastigote (Ama) y Trypomastigote (Trypo). Epi y Ama pueden dividirse mientras que Trypo no se divide. Epi no son infecciosos, mientras que Ama y Trypo pueden infectar las células huésped. Pero según investigaciones y datos tomados en conjunto, muestran que existen formas intermedias entre epimastigotes y tripomastigotes en cultivos, así como entre formas de amastigotes y tripomastigotes dentro de las células (tanto *in vitro* como *in vivo*), y que son designadas como “Epimastigotes de Transición”, que son capaces de infectar células <sup>20</sup>.

Reconocer la existencia de esta etapa es de importancia práctica para quienes trabajan con *T. cruzi*. Esta situación debe cambiarse buscando un cuidado especial con estos protozoos para evitar la infección cruzada en el laboratorio. Tomando en cuenta estas observaciones, se ha propuesto un nuevo esquema para el ciclo de vida de *T. cruzi* <sup>20</sup>.

## **Epidemiología**

Los estudios epidemiológicos de la enfermedad de Chagas generalmente se dividen en áreas endémicas y no endémicas. Se estima que alrededor de 16 y 18 millones de personas en todo el mundo están infectadas por este parásito, y 50.000 mueren cada año. Las regiones más endémicas del mundo se encuentran en América Latina. Sin embargo, muchos países no endémicos, como Estados Unidos, Canadá, Japón y algunos países europeos, aún corren riesgo de transmisión debido a los diferentes patrones de migración. Incluso se han reportado casos de enfermedad de Chagas en el continente africano <sup>11</sup>.

En 2010, según las últimas estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, cerca de 6 millones de personas en 21 países de América Latina estaban infectadas con *T. cruzi*, dos tercios de ellas en el Cono Sur. Los países con mayor número de casos son Argentina, Brasil y México, seguidos de Bolivia. Bolivia, Argentina y Paraguay son los países con mayor número de contagios por vectores, en cambio, por transmisión vertical, Argentina, México

y Colombia serán los países con mayor número estimado de contagios. A nivel mundial, el 13% de toda la población latinoamericana está en riesgo de contraer la enfermedad de Chagas <sup>14</sup>.

### **Enfermedad de Chagas en el Ecuador**

En Ecuador es difícil conocer la verdadera epidemiología, impacto y tratamiento de esta enfermedad. Una revisión de los datos epidemiológicos de la enfermedad de Chagas publicados por el Subsistema de Vigilancia Epidemiológica de la Secretaría de Salud Pública en 2013-2019 encontró una menor incidencia en mujeres de 20 a 49 años. En el Ecuador se han registrado 17 especies de triotominos. *Triatoma dimidiata* y *Rhodnius ecuadoriensis* son los principales vectores de la enfermedad, con alta densidad en las provincias de Loja y Manabí debido a su fuerte adaptabilidad y colonización en nuevos hábitats <sup>21</sup>.

Actualmente, según el Ministerio de Salud Pública de Ecuador, en la Gaceta Metaxénica; enfermedades transmitidas por vectores, enfermedad de Chagas. Reposo la búsqueda de información que se limitó en enero 2013 a diciembre 2019, para obtener información sobre el estado actual de la enfermedad durante los últimos siete años. Se revisaron todos los registros encontrados para la enfermedad de Chagas crónica y aguda, casos registrados y analizados según la edad e incidencia por provincias (Anexo 3), como resultado se obtuvo 439 casos confirmados. En los años mencionados la proporción de casos registrados es mayor para Chagas crónico con 331 casos (75.40%), frente a Chagas agudo con 108 casos (24.60%) <sup>21,22</sup>.

### **Manifestaciones Clínicas**

La enfermedad se caracteriza por tres fases: aguda, indeterminada o latente y crónica. El periodo de incubación es de 7 a 14 días.

#### **Fase aguda**

En esta fase, pueden ocurrir reacciones locales (chagoma de inoculación o lipochagoma) en el sitio de entrada del parásito y puede presentarse el signo de Romaña (Anexo 4), acompañadas de un síndrome febril, adenopatías, hepatoesplenomegalia, exantema, anemia,



dolor óseo y muscular, y puede haber meningoencefalitis y miocarditis. Esta fase puede durar seis a ocho semanas <sup>23</sup>.

La muerte en la fase aguda es rara y ocurre principalmente por miocarditis o meningoencefalitis, siendo más frecuente en pacientes inmunodeprimidos o en etapas tempranas de la vida <sup>14</sup>.

### **Fase indeterminada**

Asintomática o latente inicia a las 8 o 10 semanas después de la infección y dura de 10-50 años, pudiendo permanecer en esta etapa el 60-70% de los pacientes <sup>23</sup>.

### **Fase crónica**

En esta fase, el parásito permanece oculto y se multiplica principalmente en células de la musculatura cardíaca y digestiva como forma amastigote. La infección puede ser reactivada por otra enfermedad grave o por inmunosupresión severa por trasplante de órganos o SIDA<sup>3</sup>.

Los síntomas de la enfermedad de Chagas pueden aparecer de 10 a 30 años después de la exposición en un 30-40% de los pacientes, con alteraciones que afectan más comúnmente al corazón y al tracto gastrointestinal (megacolon y megaesófago). De estos, un 10-30% presentan afectación cardíaca y un 5%-10% afectación digestiva. También pueden ocurrir cambios en el sistema nervioso (demencia) y, con el paso de los años, la infección puede conducir a la muerte súbita o insuficiencia cardíaca a medida que el músculo cardíaco se destruye gradualmente <sup>3</sup>.

Las manifestaciones clínicas típicas están relacionadas con la afectación patológica del corazón, esófago, colon o una combinación, y se agrupan en tres formas:

- **Cardíaca:** es la forma más grave y frecuente de la enfermedad de Chagas crónica (20-30 %). Se caracteriza por anomalías del sistema de conducción, bradiarritmias y taquiarritmias, aneurismas apicales, insuficiencia cardíaca, tromboembolismo y muerte súbita <sup>24</sup>.e

- **Digestiva:** el megaesófago, el megacolon o ambos se desarrollan en 10-15 % de los pacientes con infección crónica. Los síntomas incluyen disfagia con odinofagia, epigastralgia y desnutrición en casos graves (en relación con megaesófago). El megacolon afecta el segmento sigmoide, recto o colon descendente, y produce estreñimiento, distensión abdominal y obstrucción intestinal por fecaloma o vólvulo sigmoideo <sup>24</sup>.
- **Cardiodigestiva:** consiste en la asociación de cardiopatía con megaesófago o megacolon, o ambos. Generalmente, el desarrollo de megaesófago suele preceder a la enfermedad cardíaca y del colon <sup>24</sup>.

### **Enfermedad de Chagas e inmunosupresión en fase crónica**

La reactivación de la enfermedad de Chagas durante la fase crónica (definida por la detección de tripomastigotes en sangre periférica o en otros fluidos corporales) puede ocurrir en situaciones de inmunosupresión. Esta situación suele cursar una elevada parasitemia con cuadros clínicos graves, como son la afectación del sistema nervioso central o miocarditis, y con menor frecuencia lesiones cutáneas (paniculitis y nódulos subcutáneos), peritonitis o cervicitis. Estas graves condiciones ocurren principalmente en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y receptores de trasplantes, tanto hematológico como de órgano sólido <sup>14</sup>.

### **Formas de transmisión**

Los parásitos pueden transmitirse por vías como: congénita, oral, transfusión de sangre, trasplante de órganos y por accidente laboral. La vía oral es una forma importante de transmisión en el ciclo selvático y posiblemente sea la más antigua ya que es una vía natural para la infección de reservorios silvestre e inclusive reservorios domésticos. Sin embargo, esta vía de transmisión en humanos no es la más común y ocurre de manera inapropiada a través del consumo de frutas o alimentos contaminados, o por aspectos culturales asociados con el consumo de carne cruda o poco cocinada <sup>15</sup>.

## **Transmisión vectorial**

La principal forma de transmisión de *T. cruzi* es la vía vectorial, en la que los excrementos de insectos vectores infectados pasan a través de una herida en la piel o las membranas mucosas de los mamíferos. Esta vía de transmisión es responsable de más del 80% de los casos conocidos en áreas endémicas <sup>15</sup>.

## **Transmisión congénita**

La enfermedad de Chagas congénita se asocia con una alta morbilidad, que va desde bajo peso al nacer hasta meningoencefalitis, miocarditis, anemia, trombocitopenia y síndrome de dificultad respiratoria, lo que lleva a una alta mortalidad intrauterina y neonatal <sup>25</sup>.

La evidencia de un mayor riesgo de aborto espontáneo o parto prematuro en mujeres infectadas por el VIH no es concluyente. Sin embargo, algunos estudios sugieren que la infección materna crónica no afecta el resultado del embarazo ni la salud del recién nacido, siempre que la madre no transmita el parásito al feto. Estos estudios muestran que cuando un bebé está infectado, existe un mayor riesgo de parto prematuro, bajo peso al nacer y ruptura prematura de membranas, lo que puede estar relacionado con la inflamación de la placenta <sup>26</sup>.

Las mujeres con enfermedad de Chagas pueden transmitir *T. cruzi* durante embarazos secuenciales. Por lo tanto, sin tratamiento, cada embarazo conlleva un riesgo de infección congénita para el feto. Alta carga parasitaria materna y coinfección por el virus de la inmunodeficiencia humana <sup>27</sup>.

## **Transmisión por trasplante de órganos**

El trasplante de órganos también es una posible vía de transmisión de *T. cruzi*. Hoy en día, diversos grupos de especialistas en trasplantes extreman las medidas para detectar la presencia de la enfermedad de Chagas y otras enfermedades antes de aceptar una donación

de órganos. Sin embargo, las personas con enfermedad de Chagas pueden convertirse en donante de órganos en algunos casos, por lo que debe evaluarse cada caso en particular <sup>28</sup>.

### **Transmisión por transfusión de sangre**

La transmisión de *T. cruzi* por medio de transfusiones de sangre sigue siendo el segundo mecanismo de transmisión más común. Hasta hace poco, este problema solo estaba presente en América Latina, pero con la creciente migración de pacientes con enfermedad de Chagas a países no endémicos, ha surgido un nuevo escenario global para este mecanismo de transmisión <sup>29</sup>.

La infección de Chagas asociada a transfusiones de sangre se ha reducido, especialmente mediante el control de los donantes de sangre en el Cono Sur, particularmente en Brasil, Uruguay, Chile y varios países de América Central y del Sur. Sin embargo, a pesar de esta disminución, el tema sigue siendo un serio desafío. No se han implementado controles de donación en muchos países endémicos y, lo que es más preocupante, muchos países no endémicos han recibido miles de migrantes de áreas endémicas portadores de la enfermedad de Chagas. Estos países no endémicos incluyen Estados Unidos, España y otros países de Europa, Asia y Oceanía <sup>29</sup>.

El trasplante de órganos y las infecciones por transfusiones de sangre son un problema de rápido crecimiento en las zonas urbanas endémicas. La recurrencia de infecciones latentes es más común en personas inmunodeprimidas, incluidas las personas infectadas por VIH. Se espera que en un futuro próximo la enfermedad sea eliminada mediante pruebas de banco de sangre más eficaces <sup>30</sup>.

### **Transmisión oral**

La transmisión oral de la enfermedad de Chagas se ha convertido en un problema debido a los brotes informados en cuatro países de América Latina. Aunque se han propuesto varios mecanismos de transmisión oral de la enfermedad de Chagas, los alimentos y bebidas contaminados con las heces de los triatominos, que contienen tripomastigotes metacíclicos, parece ser el vehículo principal <sup>31</sup>.

Los aspectos más importantes relacionados con la transmisión oral de la enfermedad son los siguientes: la ingestión de alimentos contaminados con las deyecciones, la ingestión de carne cruda o mal cocida de mamíferos infestados, el consumo de sangre de animales infectados que tendrían alguna función terapéutica según creencias religiosas de grupos indígenas, hábitos primitivos de ingestión de triatominos y también por la contaminación de utensilios, y de menor frecuencia de forma accidental en el laboratorio <sup>32</sup>.

### **Factores de riesgo**

En el Sistema de Salud Pública de América Latina, la enfermedad de Chagas es un problema muy importante. Esto se encuentra relacionado con factores socioeconómicos y socioculturales que contribuyen a la aparición de la enfermedad <sup>22</sup>. Los factores de riesgo pueden variar espacialmente entre regiones debido a la variación en el comportamiento humano y del vector, factores ecológicos y ambientales <sup>33</sup>.

Los factores que afectan el ciclo de transmisión de la tripanosomiasis americana incluyen la calidad de la vivienda y algunos materiales de construcción que favorecen las infestaciones de triatominos tales como: grietas en paredes de barro o concreto, uniones entre ladrillos de adobe, paredes de madera o caña, techos hechos de palmeras y pisos de tierra, la presencia de otros reservorios del parásito, árboles y otros hábitats del vector.

Tener aves de corral en el interior también se ha asociado con la presencia de triatominos en las viviendas humanas. Además, un nivel de conocimientos limitado de la enfermedad por parte de los habitantes de las comunidades <sup>19,34</sup>.

Los factores de riesgo para la transmisión congénita de enfermedad de Chagas son los siguientes: madres que viven o migran de áreas endémicas, madres que viven o migran de áreas con alta tasa de transmisión, antecedente de hermanos con infección congénita, madre con parasitemia detectable <sup>26</sup>.

El riesgo estimado para las personas que viven en comunidades infectadas con estos insectos, y el posterior desarrollo de la enfermedad de Chagas en humanos, han demostrado que los

factores de riesgo identificados más comunes son: vivir en áreas rurales con estándares socioeconómicos bajos y grandes poblaciones por hogar <sup>35</sup>.

La contaminación de los alimentos se produce por el contacto con las heces del vector infectado, el aplastamiento accidental de insectos durante la preparación de los alimentos o la contaminación de las secreciones anales. Los alimentos asociados con este tipo de transmisión son: jugo de caña y jugos de frutas (guayaba y naranja), comida caseros como: sopas, caldos, leche, agua y carne de caza. Varios estudios han confirmado que factores como la temperatura y la humedad afectan la viabilidad de los parásitos en los productos alimenticios. El parásito puede sobrevivir hasta 9 horas a 4°C e incluso 12 horas a 5°C, pero no puede sobrevivir 2 horas a -20°C <sup>15</sup>.

## **Prevención**

### **Intervenciones basadas en la comunidad**

Además de la difusión, la educación en salud pública y la comunicación para generar conciencia sobre la enfermedad de Chagas, también son importantes los esfuerzos adicionales para intervenir en la comunidad a través de los sistemas de salud existentes. En las áreas de intervención, la quimioterapia y el control de vectores han demostrado ser esfuerzos efectivos para reducir la carga de la enfermedad. Las intervenciones basadas en la comunidad, incluidos los mosquiteros tratados con insecticida, los aerosoles con insecticida, la quimioprofilaxis y el tratamiento, son más eficaces cuando se combinan con programas de control de vectores. Es por ello que también se requiere un compromiso gubernamental de alto nivel <sup>36</sup>.

### **Preparación contra la propagación mundial**

Con la aceleración de la globalización, es probable que la enfermedad de Chagas también ocurra en países no endémicos a través de casos importados. Se recomienda que los países no endémicos o con alto riesgo de casos importados establezcan sistemas y mecanismos de

vigilancia y respuesta para monitorear y controlar la enfermedad de Chagas importada, especialmente en áreas con chinches hematófagos <sup>36</sup>.

## **Tratamiento**

El tratamiento de la enfermedad de Chagas se centra en los agentes antiinfecciosos durante la fase aguda de la enfermedad y el manejo de las complicaciones en una fase específica. Hay dos medicamentos antiparasitarios disponibles para tratar la enfermedad de Chagas: benznidazol y nifurtimox <sup>37</sup>. Este tratamiento se recomienda utilizar para todas las infecciones agudas, recurrentes o de transmisión congénita, así como para niños con infección crónica hasta los 18 años, pero su uso está contraindicado durante el embarazo debido a los posibles efectos secundarios. Sin embargo, los tripanocidas pueden prevenir la transmisión congénita cuando las mujeres reciben tratamiento antes del embarazo<sup>38</sup>.

Se recomienda que todas las personas diagnosticadas con infección aguda o congénita por *T. cruzi*, aquellas con sistemas inmunológicos comprometidos y todos los niños con infección crónica, reciban tratamiento antiparasitario con cualquiera de estos medicamentos. Los adultos con infecciones crónicas también pueden beneficiarse del tratamiento, pero su eficacia es controvertida; los tratamientos son opcionales para personas mayores de 50 años. También se ha demostrado que el tratamiento combinado aumenta la eficacia, reduce la tasa de desarrollo de resistencia y reduce la toxicidad. <sup>39</sup>.

## **Diagnóstico de Laboratorio**

Para orientar el método diagnóstico utilizado en esta enfermedad, es necesario determinar el estadio clínico del paciente. En el periodo agudo, en donde existe una alta parasitemia, el diagnóstico se basa principalmente en los métodos directos, los cuales permiten identificar al parásito en sangre o en LCR. Se prefiere el método de Strout, que tiene una sensibilidad del 90-100% en esta fase.

En etapas posteriores (latente y crónica) por el contrario, se utilizan métodos indirectos, cuyo propósito es la multiplicación de los parásitos en el laboratorio, o serológicos, que detectan la presencia de anticuerpos (Ac). Estos últimos también son importantes para el control

postratamiento de la enfermedad. Entre los más frecuentemente utilizados se encuentra la prueba de Enzimoanálisis (ELISA), Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y Hemaglutinación Indirecta (HAI) <sup>40</sup>.

### Métodos de diagnóstico para la fase aguda

En los recién nacidos, el diagnóstico de la enfermedad de Chagas congénita puede establecerse sobre la base del análisis microscópico de la sangre del cordón umbilical, pruebas de reacción en cadena de la polimerasa PCR y, en algunos países, la transferencia de antígenos excretados y secretados por tripomastigotes <sup>41</sup>.

Debido a la patente parasitemia verificada en esta fase inicial, la microscopía convencional (es decir, la visualización de tripomastigotes circulantes en frotis de sangre periférica o frotis de capa leucocítica) sigue siendo el estándar de oro para el diagnóstico, tanto en casos agudos como en recién nacidos infectados congénitamente <sup>42</sup>. Los métodos Strout y Microhematocrito (Figura 1), se recomiendan como opciones diagnósticas de primera línea para casos sintomáticos que duran más de 30 días, en los que la población parasitaria disminuye con el tiempo. Las muestras de sangre deben revisarse dentro de las 24 horas, ya que pueden detectar parásitos <sup>43</sup>.

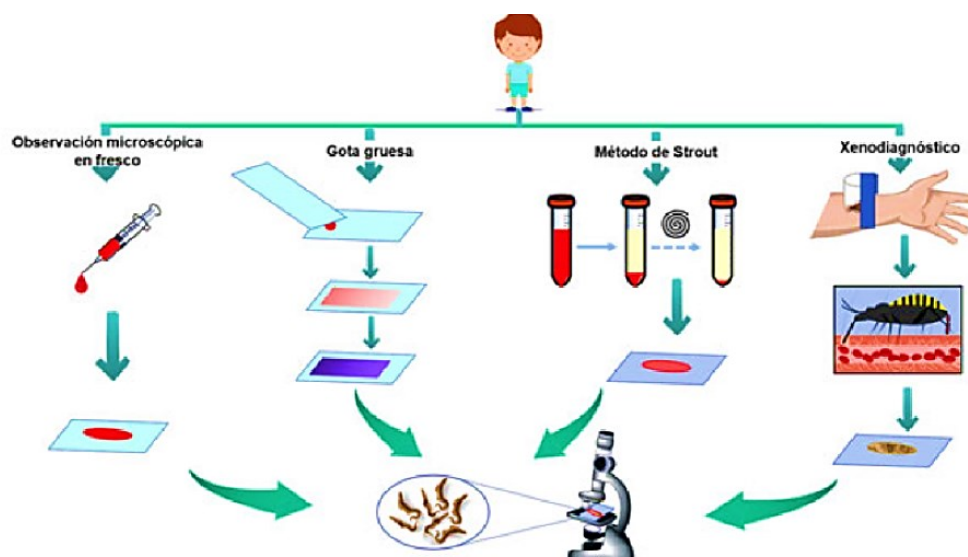


Figura 1. Principales métodos de diagnóstico directo de *T. cruzi*.

Fuente: <https://revistas.ujat.mx/index.php/kuxulkab/article/view/3850/3483>



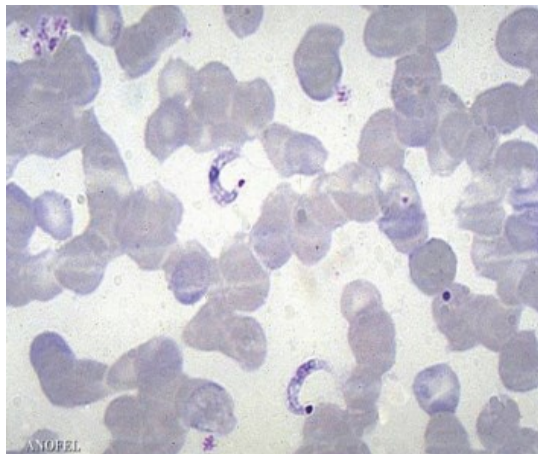
## Examen en fresco

El examen en fresco es rápido y sencillo, siendo más sensible que el frotis coloreado. La situación ideal es la realización de la colecta con paciente febril y dentro de 30 días del inicio de síntomas <sup>43</sup>.

En el examen en fresco, los parásitos se deben buscar en sangre periférica, entre portaobjeto y cubreobjeto, examinando la preparación rápidamente antes de que se seque la gota de sangre. Para obtener una monocapa de hematíes, que permita observar al microscopio a 400X aumentos el movimiento de las formas parasitarias. Si hay parásitos presentes, el diagnóstico se confirma y no se requieren más pruebas <sup>43</sup>.

## Gota gruesa

Esta técnica permite la concentración de la muestra de sangre. Se colocan 3 a 4 gotas de sangre sin anticoagulante en un portaobjeto, para posteriormente teñirse (Figura 2) y ser observadas al microscopio, en busca de tripomastigotes de *T. cruzi* <sup>44</sup>.



**Figura 2.** Formas tripomastigotas en forma de C en un frotis de sangre teñido con Giemsa (1000 aumentos).

**Fuente:** <https://n9.cl/6eic0>

## **Microhematocrito**

Se considera de elección para el diagnóstico de la infección congénita, cuando se dispone de poca cantidad de sangre. Se recoge la sangre, aproximadamente 50  $\mu$ L, en tubos capilares heparinizados o de microhematocrito (de 4 a 6 capilares). Se centrifuga en la microcentrífuga y se observa al microscopio. En la interfase entre los hematíes y el plasma se encuentra la capa leucocitaria en la que se pueden observar los movimientos de los parásitos a 400 aumentos<sup>3</sup>.

Es un método de diagnóstico por concentración con sensibilidad entre 90- 100%. Se utiliza ante una fuerte sospecha de caso agudo, por lo que es el primer método de elección en casos de Enfermedad de Chagas por transmisión vertical<sup>44</sup>.

## **Prueba de Strout**

Este método consiste en concentrar los parásitos a partir de 3 mL de sangre recolectada sin anticoagulantes y dejar el tubo a 37 °C por 2 h hasta que el coágulo se retraiga. Si hay parásitos presentes migrarán hacia fuera del coágulo. Luego se transfiere el suero a otro tubo y tras varios ciclos de centrifugación realizamos una observación del sedimento en fresco o bien después de realizar un frotis y teñirlo con Giemsa. Al igual que para el microhematocrito la sangre debe ser reciente y observada dentro de 4 - 8 horas posteriores a su obtención<sup>3</sup>.

## **Métodos diagnósticos para la fase crónica**

El diagnóstico serológico en la enfermedad de Chagas se basa en la determinación de inmunoglobulinas IgG, aunque otras inmunoglobulinas como las IgM pueden ser detectadas en fase aguda<sup>3</sup>.

La enfermedad de Chagas crónica, que sigue a la breve fase aguda y se caracteriza por bajos niveles de parasitemia. En esta fase, la PCR ha sufrido de baja sensibilidad probablemente debido a los bajos niveles sistémicos de tripomastigotes. Existe una variedad de plataformas para detectar anticuerpos IgG basados en parásitos completos o antígenos recombinantes,

incluidas pruebas disponibles comercialmente y desarrolladas en laboratorio. Estas plataformas incluyen ensayos inmunocromatográficos, ensayos inmunofluorescentes, hemaglutinación indirecta, y ELISA <sup>41</sup>.

El diagnóstico se confirma al demostrar la respuesta inmunológica del huésped frente al parásito; se debe obtener reactividad al menos en dos técnicas serológicas de distinto principio; una de las pruebas consideradas de mayor sensibilidad como ELISA o IFI. El diagnóstico de seropositividad se confirma con el resultado de ambas pruebas reactivas o no; en caso de discordancia en los resultados, deberá realizarse una tercera técnica <sup>9,45</sup>. La OMS recomienda utilizar al menos dos pruebas diferentes para diagnosticar la infección. Pues todas las pruebas serológicas tienen una alta sensibilidad y especificidad, pero consumen mucho tiempo y exigentes <sup>46</sup>.

En la actualidad existen varias pruebas de diagnóstico rápido (Anexo 5), comercialmente disponibles para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica. Estos fueron desarrollados para ser utilizados como diagnósticos en entornos altamente endémicos que carecen de los recursos de laboratorio apropiados <sup>47</sup>.

### **Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA)**

En este método toman como antígenos (Ag), fragmentos del parásito para desencadenar un complejo Ag-Ac y así detectar anticuerpos IgG marcados con una enzima <sup>40</sup>. Se basa en la reacción de los anticuerpos de la muestra con el antígeno unido a la superficie de poliestireno. Las inmunoglobulinas no reaccionan con el antígeno son eliminadas en el proceso de lavado. En un paso posterior la globulina anti-humana reacciona con el complejo antígeno - anticuerpo, y la que no se une es eliminada por los lavados; la unida reacciona con el sustrato (TMB), para dar una reacción coloreada azul, que cambia a amarillo tras la adición de la solución de parada <sup>40</sup> (Anexo 6).

Esta técnica requiere laboratorios equipados, personal capacitado y no están disponibles en regiones distantes <sup>48</sup>.

## **Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)**

Se basa en la detección de anticuerpos que se unen a un antígeno de *Trypanosoma cruzi* fijado en una lámina, formando un complejo Ag-Ac con anti-IgG marcados con fluoresceína<sup>40</sup>. Es una prueba sencilla y específica que ha reemplazado a la clásica reacción de fijación del complemento. Se preparan placas de vidrio con pocillos a las que se le adhieren epimastigotes de *T. cruzi* (parásito completo) obtenidas de cultivo. Si el suero del paciente tiene anticuerpos, se produce una reacción antígenoanticuerpo, 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<sup>44</sup>.

En algunas ocasiones muestran reacciones cruzadas con infecciones por otros protozoarios como los del género *Leishmania*. Estas reacciones se pueden eliminar por procedimientos de absorción selectiva. La prueba para anticuerpos IgM está indicada en recién nacidos con posibles infecciones congénitas y para el estudio de infecciones recientes en cualquier paciente. La Inmunofluorescencia Indirecta se usa como prueba confirmatoria de infección por *T. cruzi*, cuando la prueba de ELISA o hemaglutinación están positivas, especialmente en los estudios de bancos de sangre<sup>44</sup>.

## **Hemaglutinación Indirecta (HAI)**

Se inhibe la aglutinación de glóbulos rojos sensibilizados con antígeno del parásito, en presencia de un suero que contenga anticuerpos contra el mismo. Para confirmar el diagnóstico deben haber dos pruebas serológicas con un principio diferente positivas<sup>40</sup>.

Se utilizan glóbulos rojos tamizados a los cuales se les adhiere un antígeno con polisacáridos o glicoproteínas. El micro método semicuantitativo se utiliza como prueba inicial de selección en grupos grandes de personas. La sensibilidad es mayor en la fase crónicas que en la aguda y la especificidad se considera buena<sup>49,50</sup>.

## **Métodos Parasitológicos y de Biología Molecular**

### **Xenodiagnóstico**

En este método se utilizan triatominos adultos que no están infectados con el parásito, para posteriormente, inducir a que succionen la sangre del paciente al cual se le realizará el diagnóstico y que se sugiere puede estar infectado. Después de 30, 60 y 90 días se recolecta la orina y las heces de los insectos para buscar formas de tripomastigotes en movimiento <sup>50</sup>.

### **Cultivo in vitro**

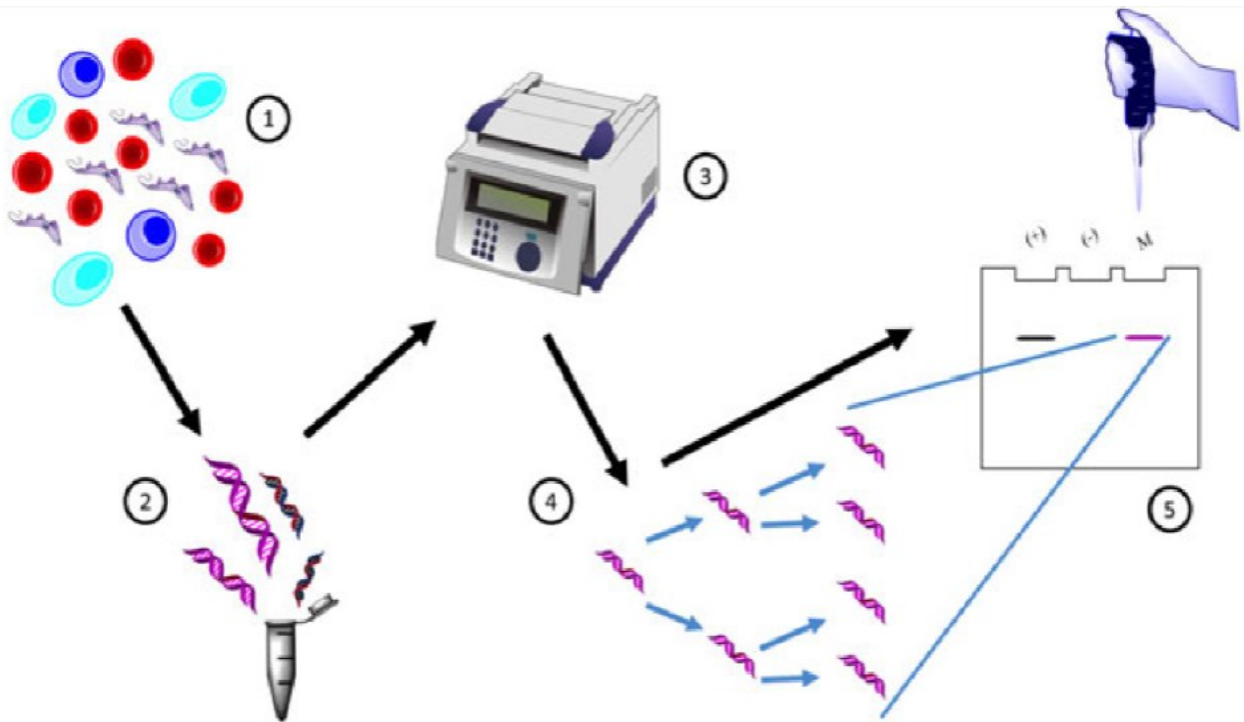
Tiene como objetivo conseguir la multiplicación de las formas parásitas presentes en la sangre del paciente. El aislamiento de parásito mediante xenodiagnóstico y cultivo, además de confirmar la infección son de utilidad para la obtención de cepas y realización de estudios de variabilidad genética entre poblaciones del parásito <sup>3</sup>.

### **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

En este tipo de diagnóstico se busca la presencia del ácido desoxirribonucleico (ADN) del parásito. La técnica se realiza tomando una muestra de sangre del paciente o a partir del tejido del cual se tenga la sospecha de infección; a esta muestra se le realiza una extracción de ADN total, y posteriormente, mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y empleando oligonucleótidos específicos para algún gen del parásito, se genera una cantidad exponencial de copias del ADN del parásito, por lo que una cantidad pequeña del mismo en la sangre del paciente, puede evidenciar su presencia <sup>50</sup>.

Las pruebas de PCR utilizan iniciadores, cebadores o primers para delimitar la amplificación de un segmento determinado del ADN utilizando una ADN polimerasa termorresistente. El resultado de la prueba es la amplificación de un fragmento de ADN específico, de tamaño conocido, detectado a través de la electroforesis en geles de agarosa donde es visualizado como una banda discreta mediante la fluorescencia a la luz UV (Figura 3), luego del

tratamiento del gel con compuestos fluorescentes intercaladores de ADN seguido por un registro fotográfico <sup>13</sup>.



**Figura 3.** Diagnóstico molecular por PCR de *T. cruzi*; 1) toma de muestra sanguínea; 2) aislamiento del ADN total; 3) generación de copias de ADN específicas del parásito; 4-5) análisis de los resultados mediante electroforesis usando muestras de referencia (positivas y negativas).

**Fuente:** <https://revistas.ujat.mx/index.php/kuxulkab/article/view/3850/3483>

El diagnóstico clínico molecular de la enfermedad de Chagas es importante para el diagnóstico precoz de la transmisión congénita en recién nacidos cuando la presencia de anticuerpos maternos anti-*T. cruzi* puede dar resultados falsos positivos y la observación microscópica carece de sensibilidad, diagnóstico de infecciones orales, detección temprana de infección en receptores de órganos de donantes, seguimiento de la reactivación en pacientes con infección crónica inmune suprimida, trasplante o SIDA y evaluación de la respuesta al tratamiento <sup>51</sup>.

La PCR ha demostrado ser muy útil en los casos con alta parasitemia debido al comportamiento del parásito, en la fase crónica. Actualmente, la mayor utilidad de la PCR

en la fase crónica radica en el seguimiento de los pacientes tratados. Un resultado positivo de PCR es el mejor marcador de fracaso terapéutico <sup>51</sup>.

## CAPÍTULO III.

### METODOLOGÍA

**Descriptiva:** esta investigación fue de tipo descriptivo donde se investigó la caracterización clínica, así como las técnicas de laboratorio para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi* y de acuerdo a la información obtenida se hará una descripción de dichos procesos.

**Diseño Documental no experimental:** según el diseño es de tipo documental-no experimental porque no se manipuló las variables de investigación y además la búsqueda de información comprende la utilización de análisis de libros, revisiones de artículos científicos, revistas, entre otros. Además, se realizó una breve exploración de documentos e informes emitidos por el Ministerio de Salud Pública lo cual permitió tener una visión mucho más profunda del tema tratado.

**Corte transversal:** este tipo de investigación tuvo un corte transversal porque se realizó en un momento y tiempo determinado obteniendo un solo bloque de resultados.

**Cronología retrospectiva:** según la cronología de los hechos es retrospectiva donde el inicio del estudio es posterior a los hechos estudiados y la información esta recolectada por medio de libros, revistas y artículos científicos.

**Población:** la población de estudio que se utilizó en esta investigación fueron 78 fuentes primarias y secundarias, con publicaciones que se aborde el tema de caracterización clínica y técnicas de laboratorio para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi* en Latinoamérica, publicadas en revistas como: Scielo (17), Pubmed (26), Elsevier (12), Medigraphic (8), Springer (3), Inspilip (1), ScienceDirect (2), Recimundo (1), Google académico (6), divulgados durante el periodo comprendido entre el año 2013 y 2022, además se incluyeron páginas web de la OMS (1) y OPS (1).

**Muestra:** para la selección de la muestra se escogieron 51 fuentes de información registradas en las siguientes bases de datos: Scielo (8), PubMed (20), Elsevier (2), Recimundo (1), Inspilip (1), ScienceDirect (1), Google académico (6), Medigraphic (2), Springer (1) y páginas web de la OMS (1) y OPS (1) mediante el cual se seleccionó artículos científicos de



alto impacto y tengan relación con el tema. Selección que se realizó tomando en consideración los criterios de inclusión y exclusión siguientes.

### **Criterios de inclusión y exclusión**

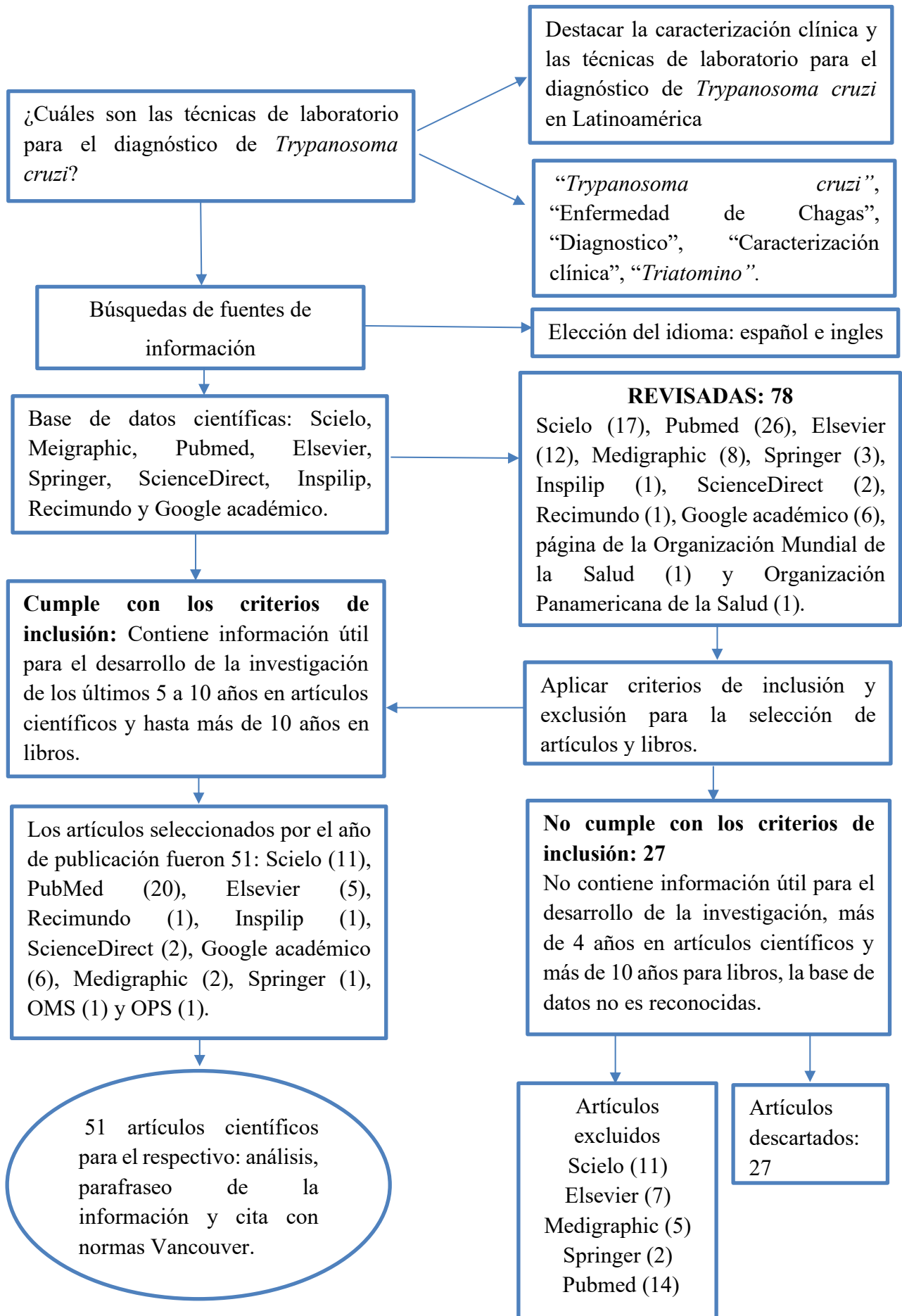
#### **Criterios de inclusión**

- Información de estudios con fecha de publicación desde el año 2013 al 2022.
- Definiciones que se mantengan vigentes hasta la actualidad obtenidas de artículos, libros y revistas digitales sobre la caracterización morfológica del parásito.
- Búsquedas en bases de datos confiables y certificados en idiomas inglés y español.
- Artículos científicos que incluyan pacientes con la enfermedad de Chagas.
- Artículos científicos que incluyan estudios de laboratorio para el diagnóstico de *T. cruzi*

#### **Criterios de exclusión**

- Artículos con información de estudios con más de diez años de publicación.
- Artículos duplicados, mal documentados e incompletos.
- Artículos sin autoría.
- Artículos con datos que no contengan información referente al tema de estudio.
- Artículos científicos que no incluyen técnicas ni información referente al tema.
- Artículos que no aporten a los objetivos de la investigación.

## DIAGRAMA DE FLUJO PARA BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA



## **CAPÍTULO IV.**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La enfermedad de Chagas es una afección parasitaria, sistémica, crónica, transmitida por vectores y causada por el protozooario *Trypanosoma cruzi*, con una firme vinculación con aspectos socio-económico-culturales deficitarios, considerándola como una enfermedad desatendida. Los factores de riesgo pueden variar espacialmente entre regiones debido a la variación en el comportamiento humano, vector, ecología y los factores ambientales.

Para el diagnóstico de laboratorio se debe identificar primero en qué fase clínica se encuentra el paciente. En la fase aguda se basa principalmente en métodos directos como: la microscopía convencional, Método de Strout y Microhematocrito. Por otro lado, en la fase crónica se utiliza métodos indirectos entre los más frecuentemente se encuentra la prueba de ELISA, Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y Hemaglutinación Indirecta (HAI).

Se evaluaron las diferentes bibliografías y se seleccionó 48 artículos los cuales representa el 94 % que se trabajó para la elaboración de las tablas. De los artículos seleccionados 12 mencionan las técnicas directas e indirectas utilizadas de acuerdo a la fase que se encuentra el paciente, tomando en cuenta que 8 artículos mencionan las técnicas, pero no detallan el procedimiento.

En los factores de riesgo para la transmisión de *T. cruzi* se seleccionó 11 artículos con información útil, que cumple con el primer objetivo. Posteriormente se utilizó 7 artículos que señalan las manifestaciones clínicas tanto en la fase aguda como en la fase crónica.

**Tabla 1.** Factores de transmisión

Autores	Formas de transmisión					Factores de Riesgo
	Vectorial	Congénita	Oral	Transfusión de sangre	Trasplante de órganos	
Rojo, et al <sup>8</sup>	x	x	x	x	x	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Consumo de alimentos contaminados</li> <li>• Factores ambientes y sociales</li> <li>• Madre infectada a hijo</li> <li>• Trasplante de órganos</li> <li>• Accidentes de laboratorio.</li> </ul>
Díaz, et al <sup>15</sup> .	x	x	x	x	x	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ingestión de alimentos contaminados: jugo de caña y de frutas (guayaba y naranja), comida casera.</li> <li>• Factores como la temperatura y humedad.</li> </ul>
Cazorla <sup>16</sup> .	x	x	x	x	x	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Contaminación de alimentos (jugos, hortalizas, frutas, vinos de palma) o ingestión de carnes crudas de reservorios animales.</li> </ul>
Salazar, et al <sup>19</sup> .	x	x	x	x	x	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Contaminación de alimentos</li> <li>• Calidad de las viviendas, el material de las paredes y los techos.</li> <li>• La presencia de árboles y otros hábitats del vector.</li> <li>• Nivel bajo de conocimiento de la enfermedad.</li> </ul>
Morales, et al <sup>21</sup> .	x	x	x	x	x	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alimentos contaminados por heces del vector.</li> <li>• Accidentes de laboratorio.</li> <li>• Manejo de cadáveres de animales infectados.</li> </ul>
Touriz, et al <sup>22</sup> .	x	x	x	x	x	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alimentos contaminados</li> </ul>

						<ul style="list-style-type: none"> <li>• Factores económicos sociales que incluyen la vivienda, hábitos de población.</li> <li>• Antecedentes de viajes a zonas endémicas.</li> <li>• Mujeres embarazadas provenientes de áreas de riesgo.</li> <li>• Factores bioclimáticos</li> </ul>
Sánchez, et al <sup>34</sup> .	x	x	x	x	x	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Materiales de construcción de viviendas: grietas en paredes de barro o concreto, uniones entre ladrillos de adobe, paredes de madera o caña, techos hechos de palmeras y pisos de tierra.</li> <li>• Consumo de frutas frescas y caña de azúcar.</li> <li>• Viajes a lugares endémicos.</li> </ul>
Newton, et al <sup>35</sup> .	x	x	x	x	x	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Contacto con las heces del vector.</li> <li>• Ingestión de alimentos contaminados con el parásito.</li> <li>• Personas que viven en comunidades endémicas.</li> <li>• Nivel socioeconómico bajo.</li> <li>• Mayor número de personas por vivienda.</li> </ul>
Lui, et al <sup>36</sup> .	x	x	x	x	x	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Consumo de alimentos contaminados.</li> <li>• Factores climáticos y ambientales</li> <li>• Accidentes de laboratorio</li> </ul>
Pinto, et al <sup>43</sup> .	x	x	x	x	x	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alimentos contaminados con heces del parásito.</li> <li>• Ingestión de leche materna de madre con diagnóstico de Enfermedad de Chagas Aguda.</li> <li>• Ingestión de carne cruda o mal cocida de mamíferos infectados.</li> </ul>

						<ul style="list-style-type: none"> <li>• Consumo de sangre de animales infectados como función terapéutica, según grupos indígenas de la Amazonía.</li> </ul>
Fuentes, et al. 45.	x	x	x	x	x	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ingestión accidental de alimentos o insectos contaminados.</li> </ul>

## Discusión

Salazar et al.<sup>19</sup> menciona que la principal vía de transmisión es la vectorial, en la que interactúan el parásito, el vector y el ser humano, además desempeña un papel importante, un conjunto de condiciones ambientales y sociales que permiten este encuentro. Sin embargo, se han descrito otras formas de transmisión, entre las que se encuentran la transfusional, congénita, por trasplante de órganos, accidentes laborales y, más recientemente, la controversial transmisión oral.

Al igual que Morales et al.<sup>21</sup> concuerda que los alimentos contaminados por heces del vector, accidentes de laboratorio o manejo de cadáveres de animales infectados sin protección son factores de alto riesgo.

Fuentes et al.<sup>45</sup> menciona que existen condiciones para que la transmisión vectorial se produzca en 2/3 del territorio seguida de transfusión, trasplante de órganos, transmisión materna y transmisión oral, este último mecanismo ha ganado atención recientemente debido a la ingestión accidental de alimentos o insectos contaminados con *T. cruzi*.

Díaz et al.<sup>15</sup> y Cazorla et al.<sup>16</sup> señalan que comúnmente los factores de riesgo de transmisión son por ingestión de alimentos contaminados: jugo de caña y de frutas (guayaba y naranja), carnes crudas, comida casera. Según Lui et al.<sup>36</sup> otros factores que intervienen para la transmisión de la enfermedad de Chagas son la temperatura y humedad, es decir factores climáticos y ambientales.

Touriz, et al.<sup>22</sup> y Sánchez et al.<sup>34</sup> coinciden en sus estudios que los factores de riesgos se dan por la transmisión vectorial, congénita, oral, por transfusiones de sangre y trasplante de

órganos. Tomando en cuenta que los dos autores concuerdan que los factores de alto riesgo se dan por un nivel económico social bajo, incluyendo los materiales de construcción de viviendas como: grietas en paredes de barro o concreto, uniones entre ladrillos de adobe, paredes de madera o caña, techos hechos de palmeras y pisos de tierra, y hábitos de población. Por otro lado, añade antecedentes de viajes a zonas endémicas.

Según Pinto et al.<sup>43</sup> y Newton et al.<sup>35</sup> afirman que las migraciones humanas no controladas, degradación ambiental, alteraciones climáticas, mayor concentración de la población en áreas urbanas y precariedad de las condiciones socioeconómicas (habitación, educación, alcantarillado, renta, entre otras) se insertan como determinantes y condicionantes sociales para la transmisión de *T. cruzi* al hombre.

De la investigación realizada acerca de los factores de transmisión de la enfermedad de Chagas, se concluye que las principales vías de transmisión son: vectorial, congénita, transfusión de sangre, trasplante de órganos y, más recientemente, la controversial transmisión oral, donde se destaca los factores de riesgo que pueden variar entre regiones debido al comportamiento humano, vector, ecología y los factores ambientales.

Además, dentro de los factores que intervienen en el ciclo de transmisión de *T. cruzi* se encuentran: vivir en lugares endémicos, ingesta de alimentos contaminados, calidad de las viviendas, ciertos materiales de construcción (paredes de barro o concreto, uniones entre ladrillos de adobe, paredes de madera o caña, techos de palmeras y pisos de tierra), la presencia de otros reservorios del parásito, otros hábitats del vector, nivel socioeconómico bajo, mayor número de personas por vivienda, nivel de conocimientos limitado de la enfermedad por parte de los habitantes de las comunidades, realizar viajes a lugares endémicos y ocasionalmente accidentes de Laboratorio.

**Tabla 2.** Características clínicas según las fases de enfermedad de Chagas

Autores	Manifestaciones clínicas											
	Fase Aguda									Fase Crónica		
	Fiebre	Escalofríos	Signo de Romana	Linfadenopatía	Hepatoesplenomegalia	Meningoencefalitis	Miocarditis	Diarrea	Anemia	Alteraciones neurológicas	Manifestaciones gastrointestinales	Alteraciones cardíacas
Pérez, et al <sup>1</sup> .	x		x	x	x		x	x	x		x	x
Roca, et al <sup>2</sup> .	x				x		x	x	x	x	x	x
Riera <sup>3</sup> .	x		x	x	x	x	x		x	x	x	x
Brooks, et al <sup>4</sup> .	x		x	x			x				x	x
Bern <sup>6</sup> .	x		x	x	x	x	x			x		x
Salazar, et al <sup>9</sup> .			x		x					x		x
Calvopina, et al <sup>10</sup> .	x		x	x	x	x	x			x		x
Maxfield, et al <sup>12</sup> .	x	x	x	x	x						x	x
Murcia, et al <sup>18</sup> .	x		x	x	x		x			x		x
Murillo <sup>23</sup> .	x		x		x	x	x		x	x	x	x
Cevallos, et al <sup>26</sup> .			x			x	x		x		x	

## Discusión

Molina et al. <sup>14</sup> menciona que la enfermedad de Chagas se divide en fase aguda y fase crónica. Se considera fase aguda desde la infección hasta que la parasitemia detectada



microscópicamente es negativa. La clínica se inicia entre 7 y 10 días tras la infección por *T.cruzi*, y consiste normalmente en síntomas leves e inespecíficos como fiebre, malestar general, hepatoesplenomegalia.

En contadas ocasiones puede aparecer, un nódulo cutáneo (chagoma) o un edema palpebral prolongado e indoloro (signo de Romaña) que pueden indicar el lugar de la inoculación lo cual concuerda con Murillo.<sup>23</sup> pero el autor señala que además puede haber meningoencefalitis y miocarditis (con insuficiencia cardíaca).

Riera.<sup>3</sup> también redacta los síntomas de la fase aguda similares a los mencionados anteriormente pero además que en un 5 -10 % de los casos sintomáticos se puede producir la muerte en la fase aguda. Esto va relacionado con Bern.<sup>6</sup> pues señala que la fase aguda es grave y potencialmente mortal debido a meningoencefalitis o miocarditis que se puede presentar. En cambio, Colvopina et al.<sup>10</sup> afirman que la muerte en la fase aguda es extremadamente rara siendo más frecuente en pacientes inmunodeprimidos o en etapas tempranas de la vida y, en algunos casos, debido a insuficiencia renal aguda.

Salazar et al.<sup>9</sup> los niños menores de 10 años son los más afectados, aproximadamente el 75% presenta signos y síntomas relacionados con la vía de entrada del parásito. Según Roca et al.<sup>2</sup> la mayoría de los recién nacidos con enfermedad de Chagas adquirida por transmisión congénita permanecen asintomáticos. Cuando aparecen, las manifestaciones y cuadros clínicos más importantes son hepatoesplenomegalia, hepatitis, sepsis, meningitis, miocarditis o anemia hemolítica, pudiendo ser ocasionalmente causa de muerte.

Según Roca et al.<sup>2</sup> y Brooks et al.<sup>4</sup> Aproximadamente un 20-30% de los pacientes, entre 10 y 20 años después de la primoinfección, evolucionan lentamente hacia una fase crónica sintomática que cursa con disfunción autonómica, micro inflamaciones y fibrosis, produciendo lesiones irreversibles en los órganos diana (corazón, esófago, colon y sistema nervioso periférico).

Por el contrario, Pérez et al.<sup>1</sup> y Murcia et al.<sup>18</sup> afirman que aproximadamente el 30-40% de los pacientes con infección crónica pueden desarrollar afectación de órganos 10-30 años después de la infección aguda y pueden ser de diferente gravedad, afectando a diferentes

órganos, principalmente corazón y sistema digestivo. De forma menos frecuente causa encefalitis, siendo más común en inmunodeprimidos.

Por otro lado, Maxfield, et al.<sup>12</sup> afirma que la etapa más devastadora de la enfermedad es la etapa crónica, hasta un tercio de los pacientes con enfermedad de Chagas progresan a esta etapa que presenta anomalías en la conducción cardíaca, insuficiencia cardíaca congestiva dilatada o eventos tromboembólicos.

Por otro lado, Cevallos et al.<sup>26</sup> habla sobre la enfermedad de Chagas en el embarazo y transmisión congénita en el cual menciona que, en casos severos en la fase crónica por transmisión congénita, uno o más órganos pueden verse afectados, más comúnmente el cerebro (meningoencefalitis que puede estar asociada con microencefalia) y/o el corazón (miocarditis aguda con cardiomegalia y arritmias). También pueden ocurrir púrpura y edema. Además, que las alteraciones hematológicas más frecuentes son la anemia y la trombocitopenia.

De la información que se obtuvo durante la investigación, sobre las características clínicas que presentan los pacientes tanto en la fase aguda y crónica son importantes en la selección de las técnicas de laboratorio para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. En la fase aguda, las principales características clínicas son: lesión cutánea indurada (chagoma) o edema palpebral (signo de Romana), fiebre, linfadenopatía, hepatomegalia, esplenomegalia, anemia, escalos fríos y en algunos casos miocarditis o meningoencefalitis.

En cambio, en la fase crónica, las características clínicas son: inflamaciones y fibrosis, produciendo lesiones irreversibles en los órganos diana (corazón, esófago, colon y sistema nervioso periférico).

**Tabla 3.** Técnicas de laboratorio utilizadas para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi* en la fase aguda

<b>Autores</b>	<b>Técnica Parasitológica</b>	<b>Población o muestra</b>	<b>Detalles de la técnica realizada</b>
Pérez, et al <sup>1</sup> .	Frotis Examen en fresco Microhematocrito Método Strout	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica).	El autor no detalla el procedimiento de la técnica utilizada.
Riera <sup>3</sup> .	Examen en fresco Microhematocrito Método Strout Xenodiagnóstico	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica).	El autor no detalla el procedimiento de la técnica utilizada.
Bern <sup>6</sup> .	Frotis Cultivo	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica).	El autor no detalla el procedimiento de la técnica utilizada.
Calvopina, et al <sup>10</sup> .	Frotis	Caso clínico: un paciente de 38 años. Ecuador estiman una prevalencia general de infección por <i>T. cruzi</i> de 1,38% de la población general.	Se identificó <i>T. cruzi</i> en frotis de sangre. Se realizaron pruebas serológicas para anti- <i>T. cruzi</i> IgG e IgM (Chagatest ELISA recombinante, Versión 3.0. Wiener-Argentina) que fueron negativas.
Edwards, et al <sup>27</sup> .	Frotis	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica).	El autor no detalla el procedimiento de la técnica utilizada.
Alarcón, et al <sup>31</sup> .	Frotis	249 casos (73,5% niños) y 4% de mortalidad.	El diagnóstico presuntivo se realizó en frotis teñidos. El

			<p>diagnóstico serológico simultáneo basado en la detección de IgG e IgM por ELISA ha sido la herramienta más efectiva y se ha utilizado como un primer enfoque de detección para identificar individuos infectados.</p>
Ahmad, et al <sup>30</sup> .	Frotis Xenodiagnóstico	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica).	El autor no detalla el procedimiento de la técnica utilizada
Sanabria <sup>40</sup> .	Método de Strout	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica).	Para esta técnica, se toma una muestra de sangre de 5 ml (1 ml en menores de 1 año) sin anticoagulante, luego se centrifuga el suero para obtener una mayor concentración de los parásitos y poder observarlos.
Salazar, et al <sup>44</sup> .	Examen en fresco Gota gruesa Prueba de Strout	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica).	El autor no detalla el procedimiento de la técnica utilizada.
López, et al <sup>50</sup> .	Examen en fresco Xenodiagnóstico Gota gruesa Prueba de Strout	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica).	<b>Xenodiagnóstico:</b> se utilizan ninfas o vectores adultos que no están infectados con el parásito, para posteriormente,

			<p>inducir a que succionen la sangre del paciente al cual se le realizará el diagnóstico y que se sugiere puede estar infectado. Después de 30, 60 y 90 días se recolecta la orina y las heces de los insectos para buscar formas de tripomastigotes en movimiento.</p> <p><b>Gota gruesa:</b> se utilizan aproximadamente tres gotas de sangre, con la cual, se realiza un barrido o frotis sobre un portaobjetos para fijar la muestra y, posteriormente, se realiza una tinción para poder observar los parásitos a 400 y 1,000 aumentos en un microscopio.</p> <p><b>Prueba de Strout:</b> consiste en concentrar los parásitos a partir de tres mililitros de sangre en un tubo sin anticoagulante y dejar</p>
--	--	--	---

			<p>incubar por dos horas a 37° C hasta que se forme el coágulo. Si hay parásitos, estos migrarán fuera del coágulo y se recolectan en otro tubo para poder realizar varios ciclos de centrifugación hasta formar un sedimento. Con el sedimento se realiza un frotis y se procede a una tinción de los parásitos, la muestra se observa a 40 y 1,000 aumentos.</p>
--	--	--	--

## Discusión

Riera.<sup>3</sup> afirma que el criterio para utilizar uno u otro test diagnóstico se basa en el conocimiento o sospecha respecto a que fase de la infección presenta el paciente. Durante la fase aguda los parásitos circulantes son abundantes y los métodos parasitológicos son los más adecuados para detectar la presencia de *T.cruzi* en muestras de sangre. Al igual que Bern.<sup>6</sup> confirma que los parásitos también se pueden visualizar en frotis de sangre teñidos con Giemsa u otras tinciones y se pueden cultivar con el uso de hemocultivo en un medio especializado.

En cambio, Sanabria.<sup>40</sup> menciona que, en el periodo agudo, en donde hay una alta parasitemia, se prefiere utilizar el método de Strout, que tiene una sensibilidad del 90-100% en esta fase.

Calvopina et al.<sup>10</sup> por medio de un caso clínico indica que un hombre de 38 años de un área subtropical de la cordillera de los Andes de Ecuador fue hospitalizado después de 3 semanas de evolución con fiebre alta, escalofríos y malestar, para su diagnóstico se realizó el examen microscópico de frotis gruesos y delgados de sangre periférica donde se confirmó la presencia de *T. cruzi*. Además, se realizaron pruebas serológicas para anti- *T. cruzi* IgG e IgM (Chagatest ELISA recombinante, Versión 3.0. Wiener-Argentina) que fueron negativas.

Edwards et al.<sup>27</sup> establece que la evaluación de sospecha de enfermedad de Chagas congénita debe realizarse lo antes posible. Después del nacimiento del recién nacido de las madres con prueba serológica positiva o enfermedad de Chagas confirmada se requiere pruebas serológicas de sangre materna, si no se realizaron durante el embarazo. El diagnóstico se basa en la detección de tripomastigotes móviles mediante examen microscópico en sangre entera fresca anticoagulada o capa leucocitaria, sangre teñida con Giemsa.

Alarcón et al.<sup>31</sup> afirma que la enfermedad de Chagas de transmisión oral se ha convertido en motivo de preocupación debido a los brotes informados en cuatro países de América Latina. La ausencia de contacto con el vector y de los tradicionales signos cutáneos y de Romaña, junto con un florido espectro de manifestaciones clínicas durante la fase aguda, confunden el diagnóstico de la enfermedad de Chagas de transmisión oral con otras enfermedades infecciosas. La detección simultánea de IgG e IgM por ELISA y la búsqueda de parásitos en todos los individuos de riesgo han sido valiosas herramientas.

López.<sup>50</sup> testifica que existen varias formas de realizar el diagnóstico de la enfermedad y el método utilizado depende de la fase clínica del padecimiento. Los métodos de evaluación pueden ser clasificados en directos (detección del parásito o moléculas propias) e indirectos (detección de anticuerpos contra el parásito).

En la fase aguda donde hay una alta parasitemia, las técnicas de laboratorio utilizadas para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi*, se basa principalmente en los métodos directos, los cuales permiten identificar tripomastigotes en sangre periférica o en la capa leucocítica, así como la caracterización morfológica de *T. cruzi*.

Dentro de los métodos tenemos examen en fresco, gota gruesa, microhematocrito, xenodiagnóstico, método de Strout, y cultivo que tiene una sensibilidad del 90-100% en esta fase.

Como mencionamos, en la etapa aguda hay una gran cantidad de parásitos circulando por el torrente sanguíneo y resultan fácilmente detectables por métodos parasitológicos directos. Estos últimos, que pueden ser realizados en laboratorios de relativamente baja complejidad, implican la obtención de una muestra de sangre, su extensión en un portaobjetos y la visualización en el microscopio (métodos de Gota fresca, micrométodos o Strout). En casos de personas con síntomas neurológicos, puede detectarse también la presencia de parásitos en líquido cefalorraquídeo.

Si el resultado es negativo, un triatomino criado en laboratorio puede ser alimentado con el paciente; más tarde se diseca y se examina en busca de la presencia de parásitos, procedimiento conocido como xenodiagnóstico. Otro método consiste en el cultivo de la sangre en diversos medios artificiales o en animales de experimentación.



**Tabla 4:** Pruebas de laboratorio utilizadas para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi* en la fase Crónica

Autores	Técnicas		Población o muestra	Detalles de la técnica realizada
	Serológicas	Moleculares		
Pérez, et al <sup>1</sup> .	Inmunofluorescencia indirecta (IFI) Hemoaglutinación indirecta (HAI) Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA)	PCR	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica)	El autor no detalla el procedimiento de la técnica utilizada.
Riera <sup>3</sup> .	Inmunofluorescencia indirecta (IFI) Hemoaglutinación indirecta (HAI) Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA)	PCR	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica)	El autor no detalla el procedimiento de la técnica utilizada.
Castellano, et al <sup>38</sup> .	Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) Inmunofluorescencia indirecta (IFI)		Participaron en el estudio un total de 23 establecimientos de salud de 23 municipios de las tres provincias endémicas. Se incluyeron un total de 1518 mujeres embarazadas de 13 a 46 años.	El autor no detalla el procedimiento de la técnica utilizada.

Sanabria <sup>40</sup> .	<p>Inmunofluorescencia indirecta (IFI)</p> <p>Hemoaglutinación indirecta (HAI)</p> <p>Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA)</p>		El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica)	El autor no detalla el procedimiento de la técnica utilizada
Hochberg, et al <sup>41</sup> .	<p>Inmunofluorescencia indirecta (IFI)</p> <p>Hemoaglutinación indirecta (HAI)</p> <p>Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA)</p>		El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica)	Diagnóstico de la enfermedad de Chagas disponible en los Estados Unidos, incluidos los ensayos utilizados para la enfermedad de Chagas aguda y crónica.
Salazar, et al <sup>44</sup> .	<p>Inmunofluorescencia indirecta (IFI)</p> <p>Hemoaglutinación indirecta (HAI)</p> <p>Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA)</p>	PCR	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica)	El autor no detalla el procedimiento de la técnica utilizada
Silgado, et al <sup>46</sup> .	<p>Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA)</p>		162 muestras emparejadas de sangre entera y suero almacenadas de inmigrantes latinoamericanos y 25 muestras de sangre de control negativo.	La detección de anticuerpos contra <i>T. cruzi</i> en muestras de sangre seca muestra una mayor sensibilidad cuando se utiliza E-CLIA en comparación con

				ELISA. Trypanosoma Detect™ es más fácil de usar, pero tiene una menor sensibilidad.
Lozano, et al 47.	Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA)		El tamaño de muestra necesario fue de 680 sujetos.	La concordancia entre las dos PDR principales fue del 93,1%. En comparación con el algoritmo ELISA, el uso combinado de las PDR proporcionó una sensibilidad del 97,7 % y una especificidad del 96,1 %. Estos resultados respaldan el uso de las PDR para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica en la región estudiada.
Egüez, et al 48.	Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) Hemoaglutinación indirecta (HAI)		342 muestras (223 mujeres y 119 hombres)	En este estudio, se utilizaron en paralelo dos pruebas rápidas utilizando muestras de sangre completa. Chagas Stat-Pak y Chagas

				Detect Plus que luego fueron validados por comparación con tres pruebas convencionales que arrojaron una sensibilidad del 100 % y 99.
López, et al. <sup>50</sup> .	Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) Inmunofluorescencia indirecta (IFI)	PCR	El autor no detalla la población o muestra (revisión bibliográfica)	Las pruebas serológicas son muy sensibles y solo determinan la presencia de anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> , los cuales podrían ser el resultado de una memoria inmunológica.

## Discusión

López et al.<sup>50</sup> establece que, en la fase crónica de la enfermedad de Chagas, la sensibilidad de los métodos directos se reduce notoriamente debido a la escasa parasitemia en sangre; sin embargo, los niveles de anticuerpos contra el parásito se elevan de forma importante, por lo que los métodos indirectos son lo más utilizados en esta fase.

Los métodos de diagnóstico a utilizar son los ensayos serológicos, ya que consiste en la búsqueda de la presencia de unas proteínas llamadas “anticuerpos” presentes en la sangre de los pacientes López et al.<sup>50</sup>.

Según Silgado et al.<sup>46</sup> en su investigación sobre la utilidad de la muestra de sangre seca y una prueba de diagnóstico rápido (Trypanosoma Detect™) como uso en el tamizaje comunitario serológico de la enfermedad de Chagas crónica obtuvo que, primero se debe realizar la prueba rápida, y un resultado negativo sea confirmado por una muestra de sangre secada en papel de filtro y procesada por el método de ECLIA para su uso en programas comunitarios de detección de la enfermedad de Chagas.

Egüez, et al.<sup>48</sup> en su investigación, utilizó dos pruebas rápidas basadas en distintos conjuntos de antígenos con el fin de obtener un diagnóstico rápido utilizando muestras de sangre completa. Chagas Stat-Pak y Chagas Detect Plus fueron validados por comparación con tres pruebas convencionales (IHA, ELISA de antígeno lisado y ELISA de antígeno recombinante) los resultados de este estudio muestran que las pruebas de diagnóstico rápido (PDR) para la detección de la enfermedad de Chagas son herramientas rápidas, confiables y precisas, lo que abre la posibilidad de incorporarlas en los protocolos de diagnóstico.

De igual manera Lozano, et al.<sup>47</sup> en su investigación describe el uso combinado de PDR como una alternativa al uso de métodos serológicos convencionales para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica. Realizando su investigación al aire libre y utilizando estas pruebas en forma de campañas de detección de campo por parte de equipos móviles. Al contrario de Egüez, et al.<sup>48</sup> quien realizó una revisión bibliográfica y no de campo.

Sin embargo, afirma Egüez et al.<sup>48</sup> que a pesar de la penetración de PDR en el sistema de salud, el diagnóstico serológico convencional aún es necesario para la confirmación de la infección. Las pruebas convencionales brindan alta sensibilidad y especificidad, pero consumen mucho tiempo, involucran múltiples pasos y necesitan personal capacitado. Allí, el diagnóstico por PDR puede marcar la diferencia (si no fuera necesaria una confirmación diagnóstica por una serología convencional para iniciar la terapia).

Así mismo, Hochberg et al.<sup>41</sup> señala que actualmente en los Estados Unidos, cuatro ensayos están aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) para la enfermedad de Chagas crónica (ORTHO *T. cruzi* Sistema de prueba ELISA, kit de Hemagen Chagas, Wiener Chagatest Recombinante v.3.0 e InBios Chagas Detect™ Plus prueba rápida).

Castellano et al.<sup>38</sup> afirma que para el diagnóstico de gestantes y niños se utiliza dos técnicas ELISA e IFAT para la detección de IgG anti- *T. cruzi*, donde se toma en cuenta los factores de riesgo de cada paciente. Una vez que una mujer embarazada es confirmada como positiva por dos pruebas serológicas, se le informa sobre la necesidad de realizar un seguimiento a su bebé después del nacimiento.

De la información que se obtuvo durante la investigación las principales técnicas utilizadas en la fase crónica se basan en la detección de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi*, debido a que la parasitemia disminuye drásticamente. Las técnicas serológicas más utilizadas son la inmunofluorescencia indirecta (IFI), la hemoaglutinación indirecta (HAI) y el inmunoensayo enzimático (ELISA), siendo este último el que alcanza valores de sensibilidad y especificidad óptimos.

Sin embargo, debido a que ninguna prueba ha alcanzado el 100% de sensibilidad y especificidad, la OMS sugiere que el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en la etapa crónica se realice por la positividad de dos pruebas serológicas con diferentes métodos. Si hay una discrepancia, se debe realizar una tercera prueba para confirmar o descartar una infección.

## CAPÍTULO V.

### CONCLUSIONES

- En esta investigación se destacó la búsqueda reflexiva, basada en artículos científicos mediante el uso de fuentes verídicas, que nos permitió obtener información necesaria acerca del diagnóstico temprano en la fase aguda y crónica, así como también los factores de transmisión de la enfermedad de Chagas, mediante revisión bibliográfica.
- Se analizó la caracterización clínica de *Trypanosoma cruzi* en la fase aguda y crónica, a través de investigaciones científicas, se evidenció que los pacientes que se encuentran en la primera fase son asintomáticos o tienen una enfermedad febril inespecífica leve. Los síntomas que se presenta son fiebre, escalofríos, manifestaciones gastrointestinales, linfadenopatía, hepatoesplenomegalia o una mezcla de manifestaciones cutáneas como el signo de Romaña; mientras que en la segunda fase los pacientes en muchos casos presentan anomalías como: insuficiencia cardíaca congestiva dilatada o eventos tromboembólicos, afectación gastrointestinal y alteraciones neurológicas.
- Se relacionó los métodos de diagnóstico dependiendo de las características clínicas que presenten los pacientes. Los métodos directos en la fase aguda donde hay una alta parasitemia permiten identificar al parásito en sangre o en líquido cefalorraquídeo. Esto comprende el examen en fresco, gota gruesa, microhematocrito, xenodiagnóstico y método de Strout; mientras que en la fase crónica, los métodos indirectos se basan en la detección de anticuerpos IgG anti-*T.cruzi*, debido a que la parasitemia disminuye drásticamente, las técnicas serológicas más conocidas son la inmunofluorescencia indirecta (IFI), hemoaglutinación indirecta (HAI) e inmunoensayo enzimático (ELISA). Hoy en día el problema es que las técnicas de inmunoensayos heterogéneos son laboriosas, requieren equipo y personal capacitado que no está disponible en regiones remotas con alta prevalencia de enfermedades. Para evitar estos inconvenientes, se están utilizando pruebas de diagnóstico rápido como son los inmunoensayos homogéneos que son fáciles de usar.
- Se relacionó las técnicas de laboratorio según la clínica del paciente, para el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi*. En la fase aguda en algunos casos se utiliza los métodos directos

como examen en fresco, gota gruesa, pruebas de concentración (microhematocrito), si el resultado es negativo, se recomienda realizar el examen xenodiagnóstico. Otro método consiste en el cultivo de la sangre en diversos medios artificiales. La reacción en cadena de polimerasa y los exámenes parasitológicos directos también son las modalidades de elección para diagnosticar la enfermedad de Chagas aguda y reactivada en pacientes inmunocomprometidos.



## BIBLIOGRAFÍA

1. Pérez-Molina JA, Molina I. Chagas disease. ScienceDirect [Internet]. 2018 [cited 2022 Jan 23];391. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673617316124>
2. Roca Saumell C, Soriano-Arandes A, Solsona Díaz L, Gascón Brustenga Grupo de consenso Chagas-APS J. Documento de consenso sobre el abordaje de la enfermedad de Chagas en atención primaria de salud de áreas no endémicas. Scielo. 2015;47(5):308–17. Available from: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1139-76322015000100002](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322015000100002)
3. Riera C. Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas. 2013 [cited 2022 Feb 16];16:82–92. Available from: <https://www.seqc.es/download/tema/7/3322/64814485/1217704/cms/tema-7-diagnostico-de-laboratorio-de-la-enfermedad-de-chagas.pdf>
4. Geo. F. Brooks, Karen C. Carrol, Janet. Butel, Stephen A. Morse TAM. Microbiología Médica. 25 a Edici. Carvajal N, editor. México; 2011. 814 p.
5. Organización Mundial de la Salud. La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana) [Internet]. 2021 [cited 2022 Feb 24]. Available from: [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))
6. Bern C. La Enfermedad de Chagas. new Engl J o f Med [Internet]. 2015 [cited 2022 Jan 23];373(5):456–66. Available from: [https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc1510996?query=recirc\\_curatedRelated\\_article](https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc1510996?query=recirc_curatedRelated_article)
7. Organización Panamericana de la Salud. Enfermedad de Chagas [Internet]. 2020 [cited 2022 Feb 24]. Available from: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>
8. Rojo, Julieta;Ruiz, Cuitláhuac; Salazar, Maria;González F. Enfermedad de Chagas en México. Medigraphic [Internet]. 2018 [cited 2022 Feb 24];154:605–12. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2018/gm185k.pdf>
9. Salazar-Schettino PM, Bucio-Torres MI, Cabrera-Bravo M, Citlalli De Alba-Alvarado M, Rocío Castillo-Saldaña D, Zenteno-Galindo EA, et al. Enfermedad de

- Chagas en México. Medigraphic [Internet]. 2016 [cited 2022 Feb 16];59(3). Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2016/un163c.pdf>
10. Calvopina M, Segovia G, Cevallos W, Vicuña Y, Costales JA, Guevara A. Enfermedad de Chagas aguda fatal por Trypanosoma cruzi DTU TcI, Ecuador. Springer [Internet]. 2020;20(143). Available from: <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4851-0>
  11. Palmezano M, Plazas L, Rivera K, Rueda V. Revisión de Tema Infectología Chagas disease: reality of a frequent pathology in Santander, Colombia. Scielo [Internet]. 2015 [cited 2022 Feb 16];28(1):81–90. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/muis/v28n1/v28n1a08.pdf>
  12. Maxfield L, Bermudez R. Trypanosomiasis. StatPearls [Internet]. 2021 Aug 11 [cited 2022 Jan 23]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535413/>
  13. Ferrer E. Artículo de revisión biomedicina técnicas moleculares para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Scielo [Internet]. 2015 [cited 2022 Feb 25];27:359–71. Available from: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-01622015000300002](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-01622015000300002)
  14. Molina I, Salvador F, Sánchez-Montalvá A. Actualización en enfermedad de Chagas. Elsevier [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2022 Feb 23];34(2):132–8. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-actualizacion-enfermedad-chagas-S0213005X16000045>
  15. Díaz M, González C. Enfermedad de Chagas agudo: transmisión oral de Trypanosoma cruzi como una vía de transmisión re-emergente. Scielo [Internet]. 2014 [cited 2022 Apr 3];46(2). Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-08072014000200009](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072014000200009)
  16. Cazorla Perfetti D. Revisión de los vectores de la enfermedad de Chagas en Venezuela (Hemiptera-Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). Scielo [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2022 Mar 23];53(4):776–81. Available from: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-01622016000300003](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-01622016000300003)
  17. Campos AA, Rubio Ortiz M, Itandehui T, Cuevas M, Alberto L, Osorio H, et al. Enfermedad de Chagas: Vectores. Ciencia [Internet]. 2017;68(1):30–3. Available from: <https://biblat.unam.mx/es/revista/ciencia-academia-mexicana-de-ciencias/articulo/enfermedad-de-chagas-vectores>
  18. Murciaa Laura, Carrileroa Bartolomé, Saurac Daniel , Iborraa Asunción SM.

- Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Chagas. Elsevier [Internet]. 2012 [cited 2022 Feb 23];31(1):26–34. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/parasitologia/ccs-2011-parasitologia.pdf>
19. Salazar Hernández JJ, Gallego Jaramillo LM, Suárez Hurtado LB, Heredia Martínez LH, Hernández Muñoz TM, Naranjo García MM. Estudio seroepidemiológico de la enfermedad de Chagas en la comunidad Copey-El Guayabillo, Estado Carabobo, Venezuela. Scielo [Internet]. 2014 [cited 2022 Feb 25];66(1):34–47. Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602014000100004](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602014000100004)
  20. De Souza BE. ¿Puede ser infecciosa la forma epimastigota de Trypanosoma cruzi? ScienceDirect [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2022 Mar 16];212:105688. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X20309244?via%3Dihub>
  21. Morales Viteri D, Quinatoa Tutillo P, Sánchez Mackenzie D, Cagua Ordoñez J, Veloz Pérez H. Enfermedad de Chagas en el Ecuador: una revisión sistemática de los aspectos epidemiológicos y entomológicos. Inspilip [Internet]. 2021 [cited 2022 Mar 22];5(1). Available from: <https://www.inspilip.gob.ec/index.php/inspi/article/view/2>
  22. Bonifaz Touriz MA, Santos Paladines PR, San Lucas SF, Tobar Moran MR. Caracterización epidemiológica de la enfermedad de Chagas, en la provincia de Guayas del Ecuador. RECIMUNDO [Internet]. 2021 Jul 25 [cited 2022 Mar 22];5(3):149–57. Available from: <https://recimundo.com/index.php/es/article/view/1240>
  23. Murillo Godínez Guillermo. Enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Scielo [Internet]. 2018 [cited 2022 Feb 16];34(6):959–70. Available from: <http://www.scielo.org.mx/pdf/mim/v34n6/0186-4866-mim-34-06-959.pdf>
  24. Duque Montoya D, Ospina Ríos JP, Duque Montoya D, Ospina Ríos JP. Enfermedad de Chagas y sus manifestaciones neurológicas. Scielo [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2022 Mar 19];37(1):154–62. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-87482021000200154&lang=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-87482021000200154&lang=es)
  25. Messenger LA, Bern C. Enfermedad de Chagas congénita: diagnóstico actual, limitaciones y perspectivas futuras. Pubmed [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2022 Mar 16];31(5):415–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30095485/>

26. Cevallos AM, Hernández R. Enfermedad de Chagas: Embarazo y Transmisión Congénita. Pubmed [Internet]. 2014 [cited 2022 Mar 16];2014:1–10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4052072/>
27. Edwards M, Montgomery S. Enfermedad de Chagas: implementación de tamizaje en beneficio de la madre y el bebé. Pubmed [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2022 Mar 22];48(2):331–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34030817/>
28. Sanmartino M. Hablamos de chagas [Internet]. 1 ed. Buenos Aires; 2015. Available from: <https://www.conicet.gov.ar/wp-content/uploads/2015/09/Hablamos-de-Chagas.pdf>
29. Rodrigues J. Los principales escenarios de transmisión de la enfermedad de Chagas. Los vectores, la sangre y las transmisiones orales: una revisión exhaustiva. Pubmed [Internet]. 2015 [cited 2022 Mar 16];110(3):277. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4489464/>
30. Ahmad N, Plorde J, Drew L. Características principales de Sherris. Microbiología Medica [Internet]. 5 ed. México; 2010. Available from: <http://ifssa.ddns.net/biblioteca/files/original/8330679743987ea4d48b74419346d18a.pdf>
31. Alarcón B, Díaz-Bello Z, Colmenares C, Ruiz-Guevara R, Mauriello L, Muñoz-Calderón A, et al. Actualización sobre brotes de enfermedad de Chagas oral en Venezuela: abordajes epidemiológicos, clínicos y diagnósticos. Pubmed [Internet]. 2015 [cited 2022 Mar 16];110(3):377. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4489475/>
32. Rojas Rivero L. La vía oral como forma de transmisión de la Enfermedad de Chagas. Una amenaza y un desafío creciente a tener en cuenta en su control integral. Scielo [Internet]. 2014 [cited 2022 Mar 23];66(2). Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602014000200001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602014000200001)
33. Parra-Henao G, Cardona ÁS, Quirós-Gómez O, Angulo V, Alexander N. Factores de riesgo a nivel de vivienda para la infestación de *Triatoma dimidiata* en Colombia. Pubmed [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2022 Apr 6];92(1):193. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4347379/>
34. Sánchez Montalvá A, Salinas C, Sullerio E, Salvador F, Bosch Nicolau P, Crespillo-Andújar C, et al. Riesgo de infección por *Trypanosoma cruzi* entre viajeros que visitan amigos y familiares a América Latina continental. Pubmed [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2022 Apr 6];15(7). Available from:

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8281994/>
35. Newton-Sánchez OA, Espinoza-Gómez F, Melnikov V, Delgado-Enciso I, Rojas-Larios F, Dumonteil E, et al. Seroprevalence of Trypanosoma cruzi (TC) and risk factors in Colima, Mexico. Pubmed [Internet]. 2017 [cited 2022 Apr 6];153:179–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28474704/>
  36. Liu Q, Chen J, Zhou XN. Preparación para la propagación de la enfermedad de Chagas en todo el mundo. Pubmed [Internet]. 2020 Apr 27 [cited 2022 Mar 19];9(1). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7184715/>
  37. Malik LH, Singh GD, Amsterdam EA. Cardiopatía chagásica: una actualización. Elsevier [Internet]. 2015 Nov 1 [cited 2022 Mar 16];128(11):1251.e7-1251.e9. Available from: [https://www.amjmed.com/article/S0002-9343\(15\)00447-7/fulltext](https://www.amjmed.com/article/S0002-9343(15)00447-7/fulltext)
  38. Castellanos-Domínguez YZ, Cucunubá ZM, Orozco LC, Valencia-Hernández CA, León CM, Florez AC, et al. Factores de riesgo asociados a la enfermedad de Chagas en mujeres embarazadas de Santander, una zona colombiana altamente endémica. Pubmed [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2022 Mar 19];21(1):140. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4737279/>
  39. Sánchez E, Vélez MC, Restrepo M, Sebastián Marín J, Gallego D. Tripanosomiasis americana, una mirada desde el tratamiento. Scielo [Internet]. 2016 Apr 12 [cited 2022 Mar 23];77(1):39–44. Available from: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832016000100007](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000100007)
  40. Sanabria Calvo M. Tripanosomiasis Americana o enfermedad de Chagas. Medigraphic [Internet]. 2015 [cited 2022 Mar 22];616:539–44. Available from: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=66599>
  41. Hochberg NS, Wheelock A, Hamer DH, Marcus R, Nolan MS, Meymandi S, et al. Enfermedad de Chagas en los Estados Unidos: una perspectiva sobre las limitaciones de las pruebas de diagnóstico y los próximos pasos. Pubmed [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2022 Mar 16];104(3):800. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7941835/>
  42. Balouz V, Agüero F, Buscaglia CA. Aplicaciones diagnósticas de la enfermedad de Chagas: conocimiento actual y pasos futuros. Pubmed [Internet]. 2017 [cited 2022 Mar 16];97:1. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5363286/>
  43. Pinto Dias JC, Novaes Ramos A, Dias Gontijo E, Luquetti A, Rodrigues Coura J,

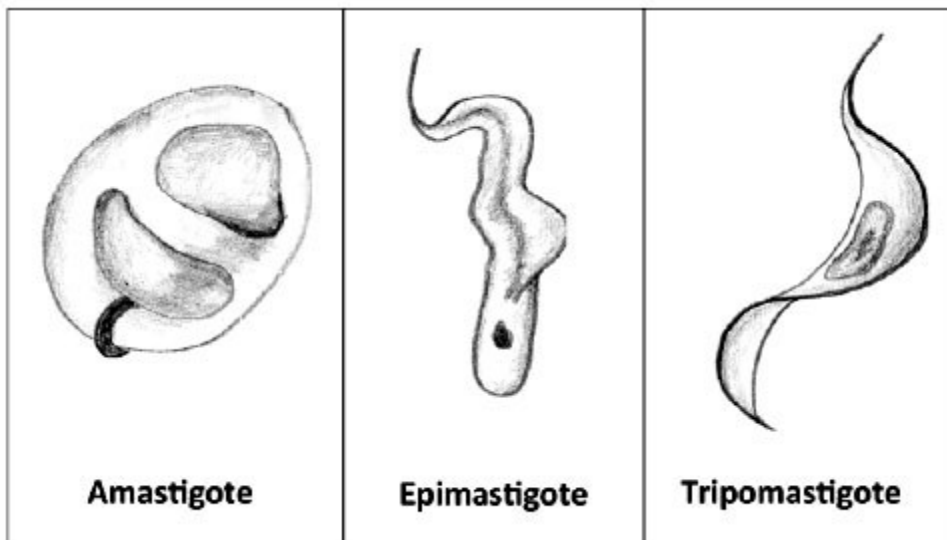
- Morais Torres R. Consenso Brasileño en Enfermedad de Chagas, 2015. Scielo [Internet]. 2016 [cited 2022 Mar 22];25(ESP):7–86. Available from: [http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742016000500007&lng=es&nrm=is&tlng=es](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742016000500007&lng=es&nrm=is&tlng=es)
44. Salazar Schettino PM, Bucio Torres MI, Rojo Medina J. Manual de procedimientos para la enfermedad de Chagas en Mexico [Internet]. México; 2019 [cited 2022 Mar 22]. Available from: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/447946/Manual\\_de\\_Procedimientos\\_para\\_la\\_Enfermedad\\_de\\_Chagas\\_en\\_Mexico.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/447946/Manual_de_Procedimientos_para_la_Enfermedad_de_Chagas_en_Mexico.pdf)
  45. Fuentes-Vicente J, Vidal López D, Flores Villegas F, Moreno Rodríguez A, Alba Alvarado M, Salazar Schettino P, et al. Trypanosoma cruzi: A review of biological and methodological factors in Mexican strains. Acta Tropica | 10.1016/j.actatropica.2019.04.024. Elsevier [Internet]. 2019 [cited 2022 Jan 23];51–7. Available from: <https://sci-hub.se/10.1016/j.actatropica.2019.04.024>
  46. Silgado A, Gual-Gonzalez L, Sánchez-Montalvá A, Oliveira-Souto I, Goterris L, Serre-Delcor N, et al. Evaluación analítica de la mancha de sangre seca y la prueba de diagnóstico rápido como nueva estrategia para el tamizaje comunitario serológico de la enfermedad de Chagas crónica. Pubmed [Internet]. 2021 Sep 15 [cited 2022 Mar 19];11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8479190/>
  47. Lozano D, Rojas L, Méndez S, Casellas A, Sanz S, Ortiz L, et al. Uso de pruebas de diagnóstico rápido (PDR) para el diagnóstico concluyente de la enfermedad de Chagas crónica – implementación de campo en la región del Chaco boliviano. Pubmed [Internet]. 2019 Dec 19 [cited 2022 Mar 22];13(12). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6922313/>
  48. Egüez KE, Alonso-Padilla J, Terán C, Chipana Z, García W, Torrico F, et al. Rapid diagnostic tests duo as alternative to conventional serological assays for conclusive Chagas disease diagnosis. Pubmed [Internet]. 2017 Apr 3 [cited 2022 Mar 22];11(4). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5391121/>
  49. Botero D, Restrepo M. Parasitosis Humana Botero [Internet]. 5ed ed. Colombia; 2012 [cited 2022 Mar 22]. Available from: <https://www.yumpu.com/es/document/read/60866826/parasitosis-humana-botero-5ed-booksmedicosorg>
  50. López Domínguez, J.; Ramos Ligonio, A.; Cessa Mendoza, A.; Mora Díaz, M.C.; Romero Cruz, V.A. & López Monteon A. Vista de el Diagnóstico para la enfermedad

- de Chagas. 2021 [cited 2022 Feb 16];31–9. Available from:  
<https://revistas.ujat.mx/index.php/kuxulkab/article/view/3850/3483>
51. Schijman AG. Diagnóstico molecular de *Trypanosoma cruzi*. Elsevier [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2022 Mar 22];184:59–66. Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X17308847?via%3>  
Dihub

# ANEXOS

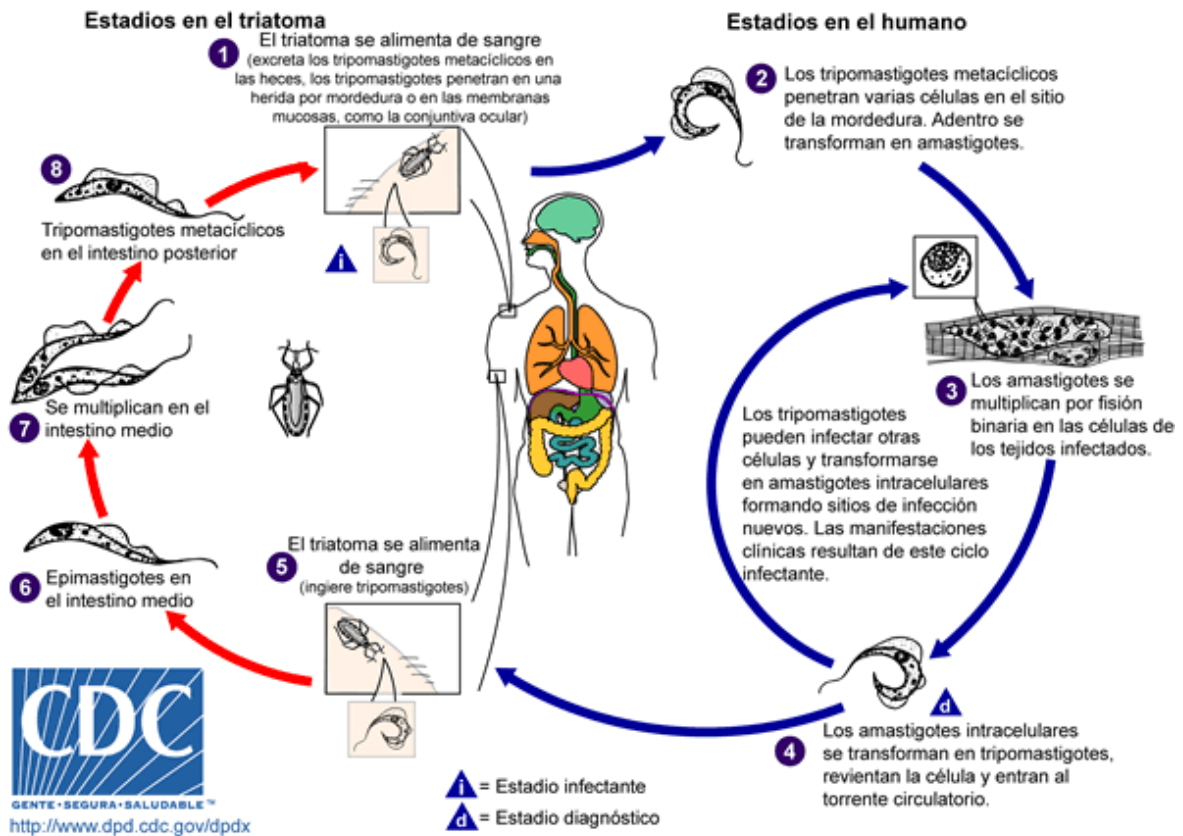


**Anexo 1.** Formas celulares de *Trypanosoma cruzi*



Fuente: <https://n9.cl/3h2cw>

## Anexo 2. Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*



Fuente: <https://www.mcdinternational.org/trainings/malaria/spanish/dpdx/HTML/TrypanosomosisAmericana>

**Anexo 3.** Casos confirmados de enfermedad de Chagas en Ecuador 2013 –2019

<b>Tabla 3. Casos confirmados de enfermedad de Chagas en Ecuador, por provincia, 2013 – 2019</b>				
<b>Provincias</b>	<b>Chagas Agudo</b>	<b>Chagas Crónico</b>	<b>Total De Casos</b>	<b>%</b>
El Oro	28	76	104	23,69
Guayas	11	53	64	14,58
Loja	6	54	60	13,67
Sucumbios	15	24	39	8,88
Pichincha	7	29	36	8,20
Manabí	13	21	34	7,74
Orellana	11	9	20	4,56
Los Ríos	2	12	14	3,19
Esmeraldas	3	8	11	2,51
Morona Santiago	3	7	10	2,28
Zamora Chinchipe	1	9	10	2,28
Azuay	2	5	7	1,59
Napo	1	6	7	1,59
Santa Elena	1	6	7	1,59
Santo Domingo De Los Tsáchilas	2	4	6	1,37
Cotopaxi	1	2	3	0,68
Pastaza	1	2	3	0,68
Carchi	0	2	2	0,46
Imbabura	0	1	1	0,23
Tungurahua	0	1	1	0,23

Fuente: <https://www.inspilip.gob.ec/index.php/inspi/article/view/2/145>

**Anexo 4.** Signo de Romaña en fase aguda



**Fuente:** <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/es/enfermedad.html>

## Anexo 6. Prueba Inmunocromatográfica



### Chagas Detect™ Plus Rapid Test

Para la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* en suero o sangre entera humanos

#### 1 USO PREVISTO

La Prueba Rápida Chagas Detect™ Plus (CDP) es un ensayo de tira de inmuno-cromatografía para la detección cualitativa de anticuerpos IgG humanos contra *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) en suero humano y matrices de sangre entera (sangre entera venosa y capilar (punción capilar)). CDP es una prueba diagnóstica no invasiva para uso en un establecimiento de atención primaria por personal entrenado para obtener muestras de sangre entera o suero. Los resultados de las pruebas reactivas serán evidencia presuntiva de infección por *T. cruzi*. La CDP, cuando se utiliza junto con otra información serológica y clínica, es útil para el diagnóstico de personas con enfermedad de Chagas. El diagnóstico definitivo de una infección de fase aguda (incluyendo infección congénita aguda) debe realizarse por métodos alternativos, por ejemplo, hemocultivo, frotis de sangre. Esta prueba no está diseñada para ser utilizada en sangre de cordón umbilical o para cribar donadores de sangre o plasma.

**Precaución:** La ley federal de los EE.UU. restringe este dispositivo a su venta por o bajo órdenes de un médico.

#### 2 RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La enfermedad de Chagas es causada por el protozoa flagelado *Trypanosoma cruzi* y es una infección endémica en América Central y del Sur que afecta a entre 16 y 18 millones de personas<sup>1</sup>. En los últimos años, con campañas de erradicación intensiva dirigidas contra los triatomíneos, la transmisión vectorial de *T. cruzi* disminuyó drásticamente, particularmente en zonas rurales, y no existe hoy en muchas regiones donde la infección era endémica. Sin embargo, la transfusión de sangre que contiene parásitos continúa siendo un modo importante de transmisión<sup>2,3,4</sup>. Existen varias estrategias para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. La detección directa del parásito en la sangre mediante microscopía, hemocultivo, xenodiagnóstico o PCR es altamente

específica y confirma la existencia de una infección<sup>1,5</sup>. Sin embargo, estos procedimientos son técnica y operativamente exigentes. Otros ensayos utilizados actualmente incluyen la medición de anticuerpos contra el lisado bruto, fijación del complemento, hemaglutinación indirecta y anticuerpo fluorescente (IFA). Todos carecen de especificidad y/o sensibilidad<sup>6,7,8</sup>. Las pruebas serológicas que detectan anticuerpos específicos para antígenos expresados por las diferentes etapas del desarrollo del parásito son adecuadas para un diagnóstico rápido y fácil de la enfermedad<sup>9,10,11,12,13</sup>. En un intento por mejorar el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas, hemos identificado y utilizado un antígeno recombinante multi epitopo derivado de diferentes antígenos de *T. cruzi*.

#### 3 PRINCIPIO

La Prueba Rápida Chagas Detect™ Plus es un inmunosensayo cualitativo basado en membranas para la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* en suero y matrices de sangre entera humano (sangre entera venosa y capilar (punción capilar)). La membrana de ensayo rápido está pre-recubierta con un antígeno recombinante en la región de la línea de prueba y utiliza un control separado para asegurar el flujo y el rendimiento del ensayo. Durante la prueba, la muestra de ensayo se añade a la almohadilla de muestra y se añade a la almohadilla de muestra una mezcla patentada de un conjugado líquido estable etiquetado con proteína A. La mezcla de conjugado y suero migra hacia arriba en la membrana (vía capilaridad) para reaccionar con el antígeno recombinante de *T. cruzi* en la membrana. Si hay anticuerpos contra el antígeno de *T. cruzi*, aparecerá una línea roja en la línea de prueba. Si el ensayo se realiza correctamente, siempre debe aparecer la línea roja en la región de control. La presencia de esta línea roja verifica que se ha producido un flujo adecuado y no ha ocurrido un fallo catastrófico del conjugado.

El procedimiento completo dura aproximadamente 20 minutos.

#### 4 MATERIALES SUMINISTRADOS

1. Cincuenta (50) pruebas rápidas en caja de cartucho de plástico, envueltas individualmente.
2. Un (1) vial de solución Gold, 3 mL.
3. Un (1) vial de Chase Buffer Tipo A, 6 mL.

Materiales requeridos pero no proporcionados:

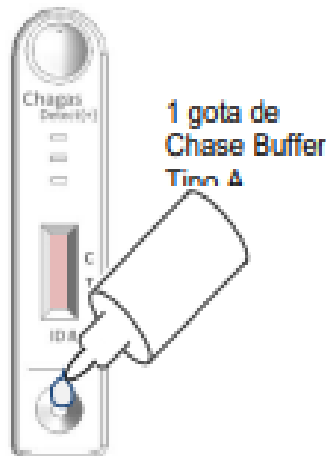
1. Tubos capilares MICROSAFE® (Safe-Tec Clinical Products LLC, número de catálogo 1005-25) o pipetas y puntas capaces de dispensar 5µL con precisión.
2. Temporizador

Chagas Detect™ Plus Rapid Test Insert Part No. 900218-03

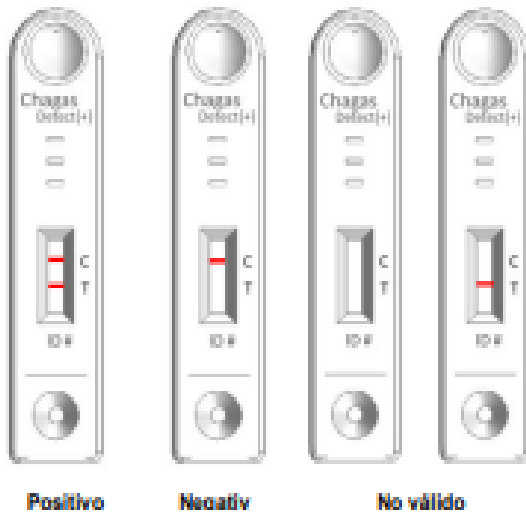
Effective Date: 03/19/2019

Página 1 de 10

- 5 Añada una gota (aproximadamente 40 µL) de Chase Buffer Tipo A a la Almohadilla de Muestra.



- 6 Leer e interpretar la prueba rápida después de 15 minutos adicionales (20 minutos de tiempo de prueba total). No interprete resultados en puntos de tiempo posteriores.



## 9 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

### Un Resultado Positivo

La prueba es positiva para anticuerpos de *T. cruzi* cuando la línea de control (C) y la línea de prueba (T) aparecen en el área de prueba. Una línea de prueba débil pero clara se considera un resultado positivo. Como guía para la interpretación, el color rojo en la región de prueba variará

dependiendo de la concentración de anticuerpos de *T. cruzi* presentes. La línea de prueba para muestras de sueros "débilmente positivo" puede mostrar una línea positiva débil pero claramente roja. La presencia de una línea de prueba roja débil debe considerarse un resultado positivo.

**Nota:** El color rojo en la región de prueba variará dependiendo de la concentración de anticuerpos presentes. Sin embargo, ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento de anticuerpos pueden determinarse mediante esta prueba cualitativa.

### Un Resultado Negativo

La prueba es negativa cuando sólo aparece la línea de control (C). No hay ninguna línea de prueba presente.

### Un Resultado No Válido

La prueba no es válida si no aparece ninguna línea de control, independientemente de si se ve una línea de prueba o no. Se recomienda volver a realizar la prueba utilizando una nueva Prueba Rápida Chagas Detect™ Plus y una muestra fresca de suero o sangre entera.

## 10 RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. La membrana no se aclaró y permanece rosada y difícil de interpretar. Vuelva a probar la muestra, asegurándose de seguir las instrucciones con exactitud. Opcionalmente, retire la tapa del frasco de solución Gold y mida 40µl. usando una pipeta para ejecutar el ensayo para asegurar volúmenes precisos.
2. La línea de prueba es muy fuerte pero la línea de control permanece débil. Es posible que la línea de ensayo reaccione tan fuertemente que el flujo de las soluciones por la membrana esté completamente bloqueada. Esto hará que la membrana debajo de la línea de prueba permanezca rosada. En esta situación, la muestra ciertamente debe considerarse positiva y en tanto haya presente una línea de control mínimamente débil, el ensayo se considera válido.

## 11 Limitaciones

- Solo para uso en diagnósticos *in vitro*.
- Esta prueba indicará solamente la presencia de anticuerpos para nuestro antígeno recombinante en suero/sangre entera humanas.
- No se ha evaluado el rendimiento con muestras de pacientes pediátricos congénitos.
- El rendimiento con muestras de sangre venosa no se ha evaluado en situaciones clínicas.



# Chagatest

## ELISA lisado

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*

### SIGNIFICACION CLINICA

La enfermedad de Chagas es una infección parasitaria producida por el *Trypanosoma cruzi*. El diagnóstico de laboratorio depende del estadio en el cual se encuentre la enfermedad. Durante la fase aguda, se efectúa directamente mediante la comprobación de los parásitos en sangre o por métodos inmunológicos que detecten IgM. Durante la fase crónica, se pueden usar métodos inmunológicos como: hemaglutinación, inmunofluorescencia, ensayo inmunoenzimático o Western blot.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

Chagatest ELISA lisado es un ensayo inmunoenzimático "in vitro" para la detección cualitativa de anticuerpos anti-*T. cruzi* en muestras de suero o plasma humano.

La muestra se diluye en la policubeta, cuyos pocillos se encuentran sensibilizados con antígenos de *T. cruzi*, correspondientes a zonas altamente conservadas entre distintas cepas. Si la muestra contiene anticuerpos específicos, éstos formarán un complejo con los antígenos y permanecerán unidos a la fase sólida. La fracción no unida se elimina por lavado y luego se agrega el conjugado (anticuerpo monoclonal anti-IgG humana conjugado con peroxidasa), el cual reacciona específicamente con los anticuerpos anti-*T. cruzi* inmunocapturados. El conjugado no unido se elimina por lavado. La presencia de peroxidasa unida al complejo se revela mediante el agregado del sustrato cromogénico, tetrametilbencidina. Las muestras reactivas desarrollan color celeste. La reacción enzimática se detiene mediante el agregado de ácido sulfúrico, produciendo un viraje del color celeste al amarillo. La densidad óptica se mide en forma bicromática a 450/620-650 nm o a 450 nm.

### REACTIVOS PROVISTOS

**Policubeta sensibilizada:** policubeta de tiras removibles, con 96 pocillos recubiertos con antígenos de *T. cruzi*.

**Diluyente de Muestra:** buffer salino con tensioactivo. Color violeta.

**Conjugado Concentrado:** anticuerpo monoclonal anti-IgG humana conjugado con peroxidasa (10x). Color rojo.

**Diluyente de Conjugado:** buffer salino con proteínas.

**Revelador:** solución de tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno.

**Stopper:** ácido sulfúrico 2 N.

**Buffer de Lavado Concentrado:** buffer salino con tensioactivo (25x). Color verde.

**Control Positivo:** suero humano inactivado conteniendo anticuerpos anti-*T. cruzi*. Color naranja.

**Control Negativo:** suero humano no reactivo inactivado. Color amarillo.

### REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada o desionizada

### MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Micropipetas para medir los volúmenes indicados
- Tips descartables
- Material volumétrico para preparar las diluciones indicadas
- Estufa a 37°C
- Papel absorbente
- Guantes descartables
- Reloj alarma o cronómetro
- Hipoclorito de sodio
- Sistema de lavado de policubetas (manual o automático)
- Espectrofotómetro para lectura de policubetas

### PRECAUCIONES

- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Los sueros controles han sido examinados para antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) y anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia humana (HIV) y hepatitis C (HCV), encontrándose no reactivos. Sin embargo, se recomienda manipularlos con las precauciones requeridas para muestras potencialmente infecciosas.
- Al descartar los materiales empleados en el ensayo se deben tratar a fin de asegurar la inactivación de agentes patógenos. El método recomendado para este procedimiento es autoclavar durante 1 hora a 121°C. Los líquidos de desecho pueden ser desinfectados con hipoclorito de sodio (concentración final 5%) durante por lo menos 60 minutos.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes.
- No emplear reactivos de otro origen.
- Evitar tocar las paredes de los pocillos con los tips.
- No utilizar elementos metálicos que puedan entrar en contacto con los reactivos.
- Las policubetas deben incubarse en estufa. Debe evitarse abrir la estufa durante este proceso. No usar baño de agua.
- Evitar que los vapores de hipoclorito provenientes de los recipientes para desechos biológicos u otras fuentes entren en contacto con los reactivos, ya que el hipoclorito afecta la reacción.
- Evitar contacto del ácido sulfúrico (Stopper) con piel y mucosas. Si esto ocurre enjuagar con abundante agua. R36/



38: irrita los ojos y la piel. R34: provoca quemaduras. S24/25: evitese el contacto con los ojos y la piel. S26: en caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. S28: en caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con agua. S37/39: usar guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.

- Evitar el derrame de líquidos y formación de aerosoles.
- No pipetear con la boca. Usar guantes descartables y protección en los ojos durante la manipulación de las muestras y reactivos del ensayo.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa vigente.

#### PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Es importante que todo el material utilizado para la preparación de los reactivos esté limpio y libre de detergente e hipoclorito.

**Buffer de Lavado:** a baja temperatura los componentes del reactivo concentrado pueden precipitar. En tal caso, llevar la solución a 37°C hasta disolución completa. Para la obtención del buffer de lavado listo para usar, diluir una parte de Buffer de Lavado Concentrado (25x) con 24 partes de agua destilada o desionizada. Ej.: 20 ml con 480 ml para una pollicubeta.

**Conjugado:** diluir una parte de Conjugado Concentrado (10x) con 9 partes de Diluyente de Conjugado (ej.: ver tabla siguiente con volumen requerido de Conjugado Concentrado y Diluyente de Conjugado):

Nº de pocillos	Conjugado Concentrado	Diluyente de Conjugado
8	100 ul	0,9 ml
16	200 ul	1,8 ml
24	300 ul	2,7 ml
32	400 ul	3,6 ml
96	1200 ul	10,8 ml

**Pollicubeta sensibilizada, Diluyente de Muestra, Diluyente de Conjugado, Revelador, Stopper, Control Positivo y Control Negativo:** listos para usar.

#### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provisos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

**Buffer de Lavado Concentrado y Stopper:** se pueden conservar a temperatura entre 2 y 25°C.

**Buffer de lavado:** una vez diluido es estable 3 meses a temperatura entre 2 y 25°C.

**Conjugado:** una vez diluido es estable 6 horas a temperatura entre 2 y 25°C.

**Pollicubeta sensibilizada:** no abrir el sobre hasta el momento de usar, ni antes que haya tomado temperatura ambiente, de lo contrario se favorecerá la condensación de humedad sobre la superficie de los pocillos. Las tiras no utilizadas deben conservarse entre 2-10°C dentro del sobre con desecante bien cerrado. Las tiras conservadas en

estas condiciones pueden ser utilizadas dentro de los 4 meses posteriores mientras no supere la fecha de vencimiento indicada en la caja.

#### MUESTRA

Suero o plasma

**a) Recolección de muestra:** obtener de la manera habitual.  
**b) Aditivos:** no se requieren para suero. Para las muestras de plasma se puede emplear heparina, citrato o EDTA como anticoagulante.

**c) Sustancias Interferentes conocidas:** no se observa interferencia por bilirrubina hasta 21 mg/dl de bilirrubina, ácido ascórbico hasta 50 mg/dl, triglicéridos hasta 1500 mg/dl o hemoglobina hasta 300 mg/dl. Las muestras conteniendo partículas deberán clarificarse mediante centrifugación.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** la muestra se debe conservar refrigerada (2-10°C). En caso de no realizar el análisis dentro de las 72 horas se debe congelar a -20°C. No es recomendable realizar múltiples ciclos de congelamiento y descongelamiento, ya que puede generar resultados erróneos. En caso de utilizar muestras congeladas, éstas deben ser homogeneizadas y centrifugadas antes de su uso.

La inactivación por calor puede afectar el resultado.

No utilizar muestras con contaminación microbiana.

Si las muestras deben ser transportadas, embalarlas de acuerdo a las especificaciones legales relativas al envío de material infeccioso.

#### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1- Llevar a temperatura ambiente los reactivos y las muestras antes de iniciar la prueba.

2- Preparar el volumen necesario de buffer de lavado (1x).

3- Colocar en el soporte de tiras, el número de pocillos requeridos para la cantidad de determinaciones a realizar, incluyendo 2 pocillos para el Control Positivo (CP) y 3 para el Control Negativo (CN).

4- Dispensar el Diluyente de Muestra, luego la muestra (M) y los controles según el siguiente esquema:

	M	CP	CN
<b>Diluyente de Muestra</b>	100 ul	100 ul	100 ul
<b>Control Positivo</b>	-	20 ul	-
<b>Control Negativo</b>	-	-	20 ul
<b>Muestra</b>	20 ul	-	-

Homogeneizar mezclando 2-3 veces por carga y descarga de la micropipeta. Al adicionar la muestra, el Diluyente de Muestra virará de color, de acuerdo a la tabla siguiente:

Tipo de muestra	Sin muestra	Suero o plasma	Control Positivo	Control Negativo
<b>Color</b>	Violeta	Celeste	Naranja oscuro	Verde



Se puede verificar la dispensación de controles o muestras a los pocillos visualmente o mediante lectura espectrofotométrica (a 610/650 nm).

**Advertencia:** las muestras hemolizadas, ictericas o turbias pueden alterar el color final sin afectar los resultados. El viraje de color puede depender del volumen de muestra adicionado y de su composición. Un viraje de color de menor intensidad puede deberse a que se dispense un volumen inferior de muestra, a que la muestra no se encuentra en las condiciones adecuadas, o a que tiene un bajo nivel de proteínas.

5- Para evitar la evaporación, cubrir la placa con la cinta autoadhesiva provista, e incubar  $30 \pm 2$  minutos a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . En forma paralela, preparar el conjugado diluido (ver Tabla en PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS).

6- Después de la incubación eliminar el líquido de cada pocillo por completo. Lavar 5 veces según instrucción de lavado (ver PROCEDIMIENTO DE LAVADO).

7- Agregar el Conjugado:

<b>Conjugado diluido</b>	100 ul	100 ul	100 ul
--------------------------	--------	--------	--------

Para evitar la evaporación cubrir la polibuteta con cinta autoadhesiva.

8- Incubar  $30 \pm 2$  minutos a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ .

9- Lavar 5 veces según instrucción de lavado.

10- Dispensar el Revelador. Para ello, trasvasar a un recipiente limpio solamente el volumen de Revelador que se requiera. No devolver el Revelador restante al frasco original. Evitar el contacto del reactivo con agentes oxidantes.

<b>Revelador</b>	100 ul	100 ul	100 ul
------------------	--------	--------	--------

11- Incubar  $30 \pm 2$  minutos a temperatura ambiente ( $18-25^\circ\text{C}$ ), protegido de la luz.

12- Agregar el Stopper:

<b>Stopper</b>	100 ul	100 ul	100 ul
----------------	--------	--------	--------

13- Leer absorbancia en espectrofotómetro en forma bicromática a 450/620-650 nm o a 450 nm.

**Nota:** se recomienda efectuar siempre la lectura en forma bicromática. En caso de que la lectura sea monocromática, realizar un blanco de reactivos que luego deberá ser restado de todos los valores de las muestras.

#### ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 10 minutos, por lo que los resultados deben leerse dentro de ese lapso.

#### PROCEDIMIENTO DE LAVADO

Eliminar el líquido de los pocillos por aspirado o volcado. Los pocillos se lavan con 300 ul de buffer de lavado diluido. Asegurar que la altura alcanzada al llenar los pocillos no cause desbordes.

La solución de lavado debe estar en contacto con los pocillos entre 30 y 60 segundos.

Garantizar que luego del último lavado no quede líquido residual. Realice un doble aspirado para eliminar el excedente de buffer. Si persiste luego de este procedimiento, invertir la placa sobre papel absorbente y golpearla varias veces, de lo contrario podrán obtenerse resultados erróneos.

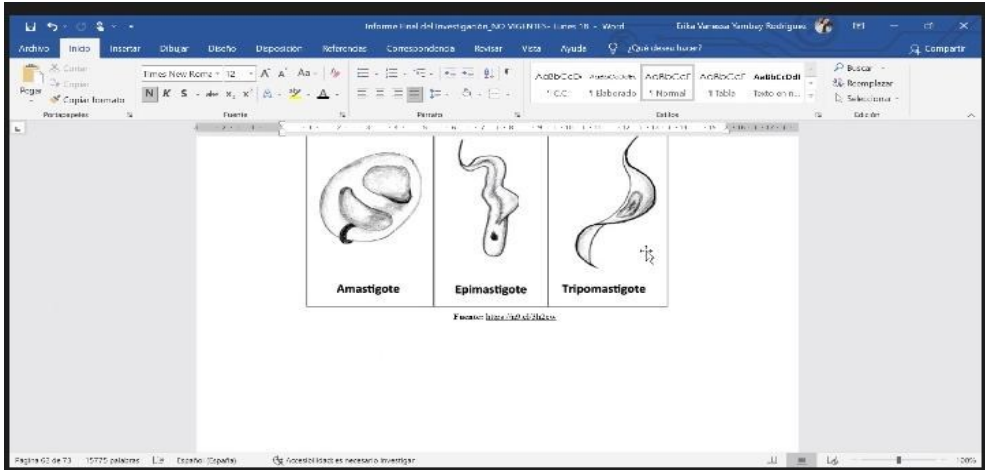
**Nota:** el procedimiento de lavado es crítico para el resultado del ensayo. Si queda buffer de lavado en los pocillos o si los mismos no están completamente llenos se obtendrán resultados erróneos. No dejar que los pocillos se sequen durante el procedimiento. Los lavadores automáticos deben ser enjuagados con agua destilada o desionizada al final del día para evitar obstrucciones debido a las sales presentes en el buffer de lavado.

#### RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO

ETAPA	PROCEDIMIENTO	PRECAUCION/OBSERVACIONES
Dilución	Preparación de la solución de lavado (1x)	Disolución de los cristales de sales
Diluyente de Muestra	Agregar 100 ul de Diluyente de Muestra en cada pocillo	
Muestras	Agregar 20 ul de M, CP y CN	Se observa cambio de color al agregar la muestra y los controles
Incubación	Cubrir los pocillos e incubar durante $30 \pm 2$ minutos a $37 \pm 1^\circ\text{C}$	En estufa
Lavado	Lavar cada pocillo con 300 ul de buffer de lavado (5 veces)	Tiempo de contacto de la solución de lavado entre 30 y 60 segundos. Eliminar completamente el líquido residual de los pocillos
Dilución	Preparación del conjugado (1x)	Durante la incubación con la muestra, diluir Conjugado Concentrado (10x)
Conjugado	Agregar 100 ul de Conjugado diluido	

Fuente: <https://n9.cl/5lwde>





Erika Vanessa Y ...



Erika Vanessa...



Aida Mercedes...

