
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA INFECCIÓN CHAGÁSICA
HUMANA EN LA LOCALIDAD DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO
DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

CHRISTIAN ELOY MONTAÑO LUNA



Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y
Agropecuarias

*Coordinación de Titulación y Carrera de Licenciatura
en Biología*

263/ C. C. BIOLOGÍA

C. CHRISTIAN ELOY MONTAÑO LUNA
PRESENTE

Manifiestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de: **TESIS E INFORMES** opción **TESIS** con el título : “ **DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA INFECCIÓN CHAGÁSICA HUMANA EN LA LOCALIDAD DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO**” para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director / a de dicho trabajo al **Q.F.B. MA. MARGARITA SOTO GUTIÉRREZ** y el Asesor / a es: **M en C. EZEQUIEL MAGALLÓN GASTÉLUM.**

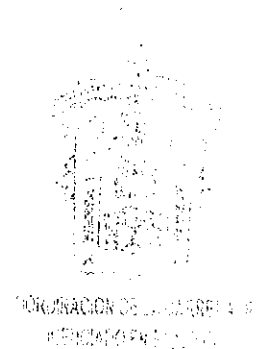
Sin más por el momento, le envío un caluroso saludo.

ATENTAMENTE
“PIENSA Y TRABAJA”

Las Agujas, Zapopan., 27 de Junio del 2005.
“2006. Año del Bicentenario del natalicio del Benemérito de las Américas.
Don Benito Juárez García”


DR. CARLOS ALVAREZ MOYA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN


DRA. LAURA GUADALUPE MEDINA CEJA
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN



C.c.p. Q.F.B. MA. MARGARITA SOTO GUTIÉRREZ - Director del trabajo

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Dr. Carlos Álvarez Moya.
Presidente del Comité de Titulación.
Carrera de Licenciado en Biología.
CUCBA.
Presente

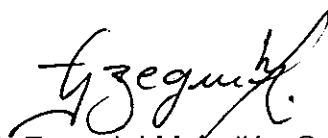
Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad **TESIS**, opción **TESIS** con el título "**DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA INFECCIÓN CHAGÁSICA HUMANA EN LA LOCALIDAD DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO**" que realizó el pasante **CHRISTIAN ELOY MONTAÑO LUNA** con número de código **395429211** consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

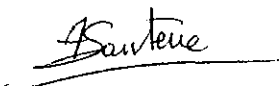
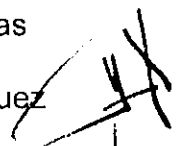
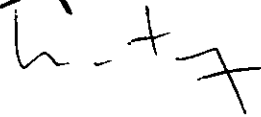
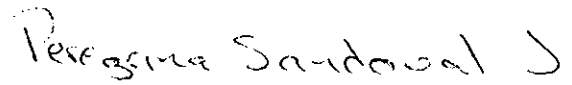
Atentamente

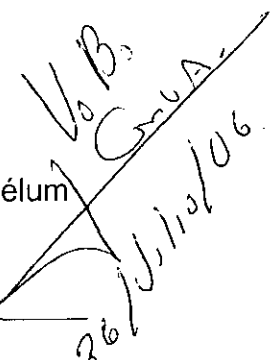
Las agujas, Zapopan, Jal., 29 de junio de 2006


QFB. Ma. Margarita Soto Gutiérrez
Directora


M.C. Ezequiel Magallón Gastélum
Asesor

SINODALES

Dra. Anne Santerre Lucas		29/06/06
Dr. Alfonso Islas Rodríguez		29/06/06
Dr. Gustavo Moya Raygoza		29/06/06
Supl. M.C. Jorge Peregrina		29/06/06


26/6/06

Agradecimientos:

A Dios y a la Virgen María...

A mis padres por sus grandes esfuerzos,
apoyo y darme la mejor arma
para la vida, mis estudios.

A mis hermanas por su cariño y comprensión.

Al grupo de investigación de la Enfermedad de Chagas
(CUCS, U. de G. – IRD) por la dedicación
que han puesto en mi formación profesional.

A mis amigos que han estado conmigo
en mis victorias y derrotas, enriqueciendo
así, mi vida.

ÍNDICE

RESUMEN	IV
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	16
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
JUSTIFICACIÓN	18
HIPÓTESIS	19
OBJETIVOS	19
MATERIAL Y MÉTODOS	20
RESULTADOS	35
DISCUSIÓN	42
CONCLUSIÓN	45
BIBLIOGRAFÍA	47

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURA 1. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA TRIPANOSOMIASIS AMERICANA_____	3
FIGURA 2.- ESTADÍOS EVOLUTIVOS DE <i>Trypanosoma cruzi</i> _____	5
FIGURA 3.- COMPONENTES ESTRUCTURALES DE <i>T. cruzi</i> _____	6
FIGURA 4.- CICLO BIOLÓGICO DE <i>Triatoma pallidipennis</i> Stål_____	9
FIGURA 5.- CICLO BIOLÓGICO PARASITARIO DE <i>T. cruzi</i> _____	10
FIGURA 6.- UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL MUNICIPIO ESTUDIADO DENTRO DEL ESTADO DE JALISCO_____	21
FIGURA 7.- PRUEBA DE HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA (HAI) _____	27
FIGURA 8.- ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO (ELISA) _____	31
FIGURA 9.- PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)_____	34
FIGURA 10.- POBLACIÓN ESTUDIADA EN LA LOCALIDAD DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO_____	35
FIGURA 11.-DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA DE ACUERDO AL GENERO EN LA LOCALIDAD DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO JALISCO_____	36
FIGURA 12.-DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA POR GRUPOS ETÁREOS EN LA LOCALIDAD DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO_____	37

FIGURA 13- PIRÁMIDE POBLACIONAL DE LAS PERSONAS ESTUDIADAS EN LA LOCALIDAD DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO _____38

TABLA 1.- RESULTADOS SEROLÓGICOS Y PREVALENCIA DE LA POBLACIÓN DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO _____40

TABLA 2.- RELACIÓN DE INDIVIDUOS SEROPOSITIVOS A *Trypanosoma cruzi* EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA _____41

ANEXOS

ANEXO 1.- LOCALIDAD LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO _____52

ANEXO 2.- HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO _____53

ANEXO 3.- MEDIO DE CULTIVO MONOFÁSICO (LIT) _____54

GLOSARIO.- _____55

RESUMEN

La Tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es una enfermedad parasitaria causada por el *Trypanosoma cruzi* (L.), el cual es transmitido por insectos hematófagos (*Hemiptera: Reduviidae*). Esta enfermedad presenta tres etapas: una aguda de corta duración que comprende fiebre, anemia, hepatoesplenomegalia y linfadenopatías; una etapa indeterminada caracterizada por cursar un periodo clínico asintomático y una crónica, donde en los adultos es la principal causa de miocardiopatías, megaesófago, megacolon y muerte.

Durante los meses de noviembre del 2002 a enero del 2004, se realizó el diagnóstico serológico para la enfermedad de Chagas en la comunidad de Los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco. Esta comunidad reúne las condiciones necesarias para el desarrollo de la enfermedad. Se analizaron un total de 447 muestras en población abierta mediante las pruebas de hemaglutinación indirecta (HAI), ensayo inmunoenzimático (ELISA) e inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se consideraron como seropositivos aquellos sueros que fueron reactivos en al menos dos de las tres pruebas aplicadas, según pautas de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se encontraron anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en 8 de 447 individuos. La seroprevalencia estimada para la comunidad estudiada fue de 1.8%.

Entre las muestras reactivas se encuentra una niña de 2 años, y un adolescente de 14 años de edad, lo que indica que en la actualidad, la transmisión de *Trypanosoma cruzi* es activa.

INTRODUCCIÓN

La Tripanosomiasis americana o Enfermedad de Chagas es una parasitosis producida por un protozooario, el *Trypanosoma cruzi* (L.), el cual es transmitido por las heces de insectos hematófagos (*Hemiptera: Reduviidae*). Fue descrita por Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas en 1909, quien aisló el parásito de una persona y posteriormente de un gato, e identificó a sus vectores, así como a las patologías asociadas en la etapa crónica (López et al., 2000; Chester et al., 2003).

La Tripanosomiasis americana es una de las seis enfermedades tropicales más importantes del mundo, debido a su amplia distribución geográfica, elevada prevalencia y gran impacto sobre la salud pública. El vector de la enfermedad de Chagas se encuentra diseminado en el continente Americano desde México hasta el sur argentino (Figura 1). Datos conservadores de la Organización Mundial de la Salud (OMS) señalan que en una población de 360 millones de personas que viven en los países endémicos, al menos 90 millones se hallan expuestos al riesgo de contraer la enfermedad y 35 millones de personas se encuentran infectadas (OPS, 1994; Dumonteil, 1999; Rosas et al., 2002; Cárdenas et al., 2003).

Esta enfermedad afecta principalmente las áreas rurales, en donde las condiciones ecológicas, aunadas a las tradiciones culturales de los habitantes y las precarias condiciones socioeconómicas; contribuyen a que el vector conviva en la vivienda con los humanos y mamíferos reservorios domésticos (perros y gatos); propiciando con esto la continuidad de esta enfermedad (Magallón et al., 1998).

La enfermedad presenta varias vías de infección, entre las cuales se encuentran: la vectorial, transfusional, trasplacentaria o congénita, accidentes de laboratorio, deshoyamiento de animales infectados en campo; por vía oral a partir de la ingesta de animales infectados o bien a través de alimentos contaminados por deyecciones de vectores y en muy pocos casos se ha comprobado la infección a través de la leche materna (Carcavallo et al., 1985, Tomo I; Lozano et al., 1991; OPS, 1994; Dumonteil, 1999; Rosa et al., 2001).

Durante mucho tiempo se ha especulado sobre la importancia de la enfermedad de Chagas en nuestro país. Acerca de ella existen diversas posiciones: desde la que la consideran un padecimiento exótico y le niegan cualquier importancia, hasta los que la consideran como un problema de salud pública; incluso, hay quienes basados en encuestas

seroepidemiológicas de los últimos años, calculan que están infectados entre tres y cuatro millones de mexicanos. La Oficina Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud consideran que en México existe la enfermedad y hay riesgo de infección (Velasco et al., 1992; Trujillo et al., 1993; Pinto y Rodrigues, 1997; Cárdenas et al., 2003).

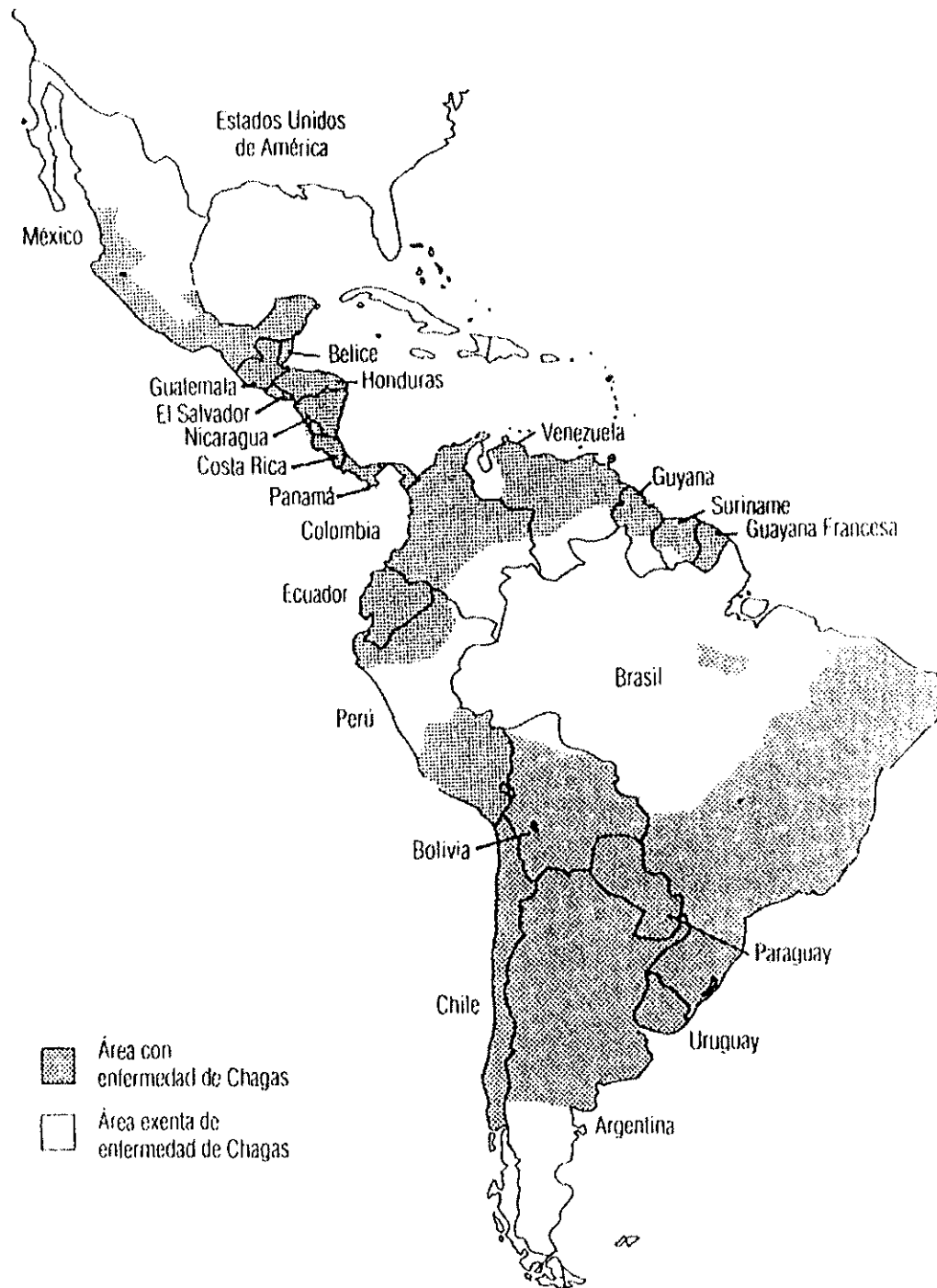
En México se desconoce su magnitud y trascendencia, las cuales solo se han estimado en localidades aisladas. En realidad se considera como área endémica probable, todo el territorio que se encuentre en una altitud entre los 0 y los 2, 200 msnm, es decir las dos terceras partes del territorio nacional, ya que en poblaciones localizadas dentro de las altitudes mencionadas se han encontrado triatominos infectados por *T. cruzi* dentro de la habitación humana (Velasco et al, 1992; Monteón et al., 2002; Gutiérrez et al., 2003; Becerril y Romero, 2004; Segura y Escobar, 2005).

Biología del Parásito

Los parásitos de la familia *Trypanosomatidae* se caracterizan por tener un flagelo y un cinetoplasto único. El género *Trypanosoma* comprende parásitos digenéticos que tienen por lo menos en uno de sus estadios de desarrollo la forma tripomastigote. Este género se divide en dos secciones: *Salivaria* y *Estercoraria*. La primera comprende un grupo de *Trypanosomas* patógenos, que se multiplican en el mamífero en el estadio tripomastigote, completan el desarrollo en la parte anterior del vector, y son transmitidos por inoculación; la única excepción es el *T. equiperdum*, que se transmite directamente de mamífero a mamífero. La segunda sección agrupa especies no patógenas, con la excepción de *T. cruzi*. Los parásitos agrupados en esta sección se multiplican en el mamífero como amastigotes o epimastigotes, completan su desarrollo en la estación posterior del huésped intermediario y son transmitidos por contaminación, a excepción de *T. rangeli*, que completa su desarrollo en la porción anterior y es transmitido por inoculación (Carcavallo et al., 1985, Tomo II; Lozano et al., 1991).

El *Trypanosoma cruzi* es un organismo pleomórfico que tiene dos fases en su ciclo vital, una en los animales de sangre caliente incluyendo el hombre (huésped definitivo) y otra en los insectos transmisores. Los estadios se definen por su forma, la posición del cinetoplasto respecto al núcleo y la región por donde emerge el flagelo; estos son: tripomastigote, epimastigote, promastigote y amastigote (Chester et al., 2003; Becerril y Romero, 2004) (Figura 2).

FIGURA 1.- DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA TRIPANOSOMIASIS AMERICANA



FUENTE: Organización Panamericana de la Salud.

En el huésped definitivo, *T. cruzi* es un tripomastigote fusiforme, de unos 20 – 25 μm de largo; presenta un núcleo situado en el centro del cuerpo y un cinetoplasto en el extremo posterior. La raíz del flagelo, el axonema, nace en el blefaroplasto y se extiende por el borde de una delgada membrana ondulante que tiene pocos pliegues, y sale por el extremo anterior del cuerpo como flagelo libre. En las preparaciones teñidas, los tripomastigotes asumen la forma característica de “C” (López et al., 2000; Chester et al., 2003) (Figura 2A, 3A).

La forma de epimastigote se encuentra en el tubo digestivo del triatomino, así como también en medios de cultivo; mide de 8 – 13 μm de largo, el cinetoplasto está localizado en el extremo anterior, y el núcleo se encuentra en posición ventral; la membrana ondulante es corta al igual que el flagelo (Chester et al., 2003) (Figura 2B, 3B).

La forma de promastigote es un estadio flagelado alargado, en el que el cinetoplasto se localiza en la porción anterior y lejano al núcleo del cual emerge el flagelo por la porción anterior del cuerpo sin formar la membrana ondulante. Esta forma es de duración fugaz y solo se ha visto *in vitro* (Chester et al., 2003; Gutiérrez et al., 2003) (Figura 3C).

Las formas amastigotes son redondeadas (forma leishmanoide), miden de 2 – 2.5 μm , sin flagelo libre, pero al microscopio electrónico se ve el flagelo dentro de una bolsa, además presenta un gran núcleo y cinetoplasto. En las células de la neuroglia y en el miocardio, los amastigotes se reúnen en cavidades pseudoquísticas dentro de las células invadidas y son liberados, tras multiplicarse por fisión binaria y desarrollarse en masa destruyendo las células, en forma de tripomastigotes (Chester et al., 2003; Gutiérrez et al., 2003) (Figura 2C, 3D).

Biología del Vector

Como en todos los insectos, el cuerpo del triatomino está compuesto por tres regiones: cabeza, tórax y abdomen. Exteriormente se puede observar que la cabeza posee los órganos sensoriales, en el tórax están insertados los órganos locomotores y en el abdomen, el aparato reproductor y las aberturas respiratorias (Harwood y James, 1987).

La cabeza es alargada, fusiforme en la mayoría de las especies. Posee un par de ojos compuestos, que son globosos y salientes, un par de antenas y los ocelos, órganos receptores de sensaciones que no han sido bien determinados aún. En la cara ventral del tórax se insertan las patas que son delgadas y relativamente largas. Gran parte del dorso del abdomen

FIGURA 2.- ESTADÍOS EVOLUTIVOS DE *Trypanosoma cruzi*

A)

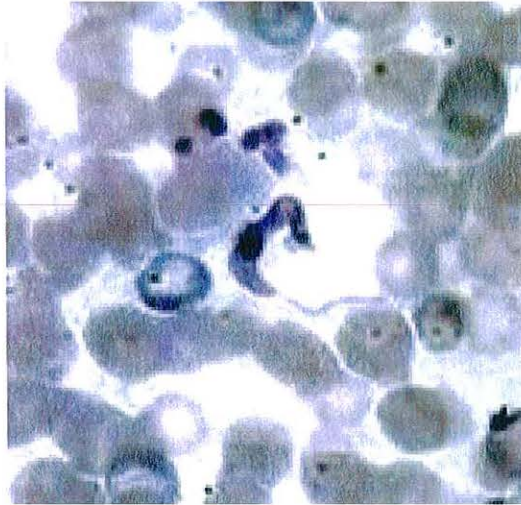


Fig. 2A.- Forma tripomastigote de T. cruzi, en torrente sanguíneo.

FUENTE: Ecplanet cotidiano tecnologico e científico.

B)

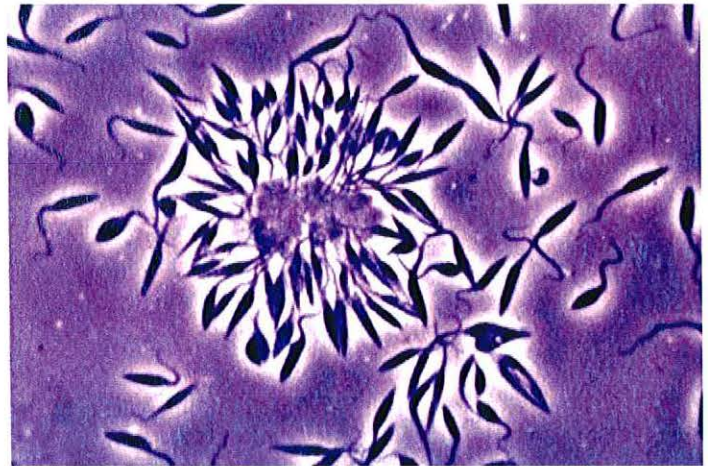


Fig. 2B.- Formas epimastigotes de T. cruzi, en forma de rosetas dentro de un medio de cultivo.

FUENTE: University of illinois at urbana-champaign

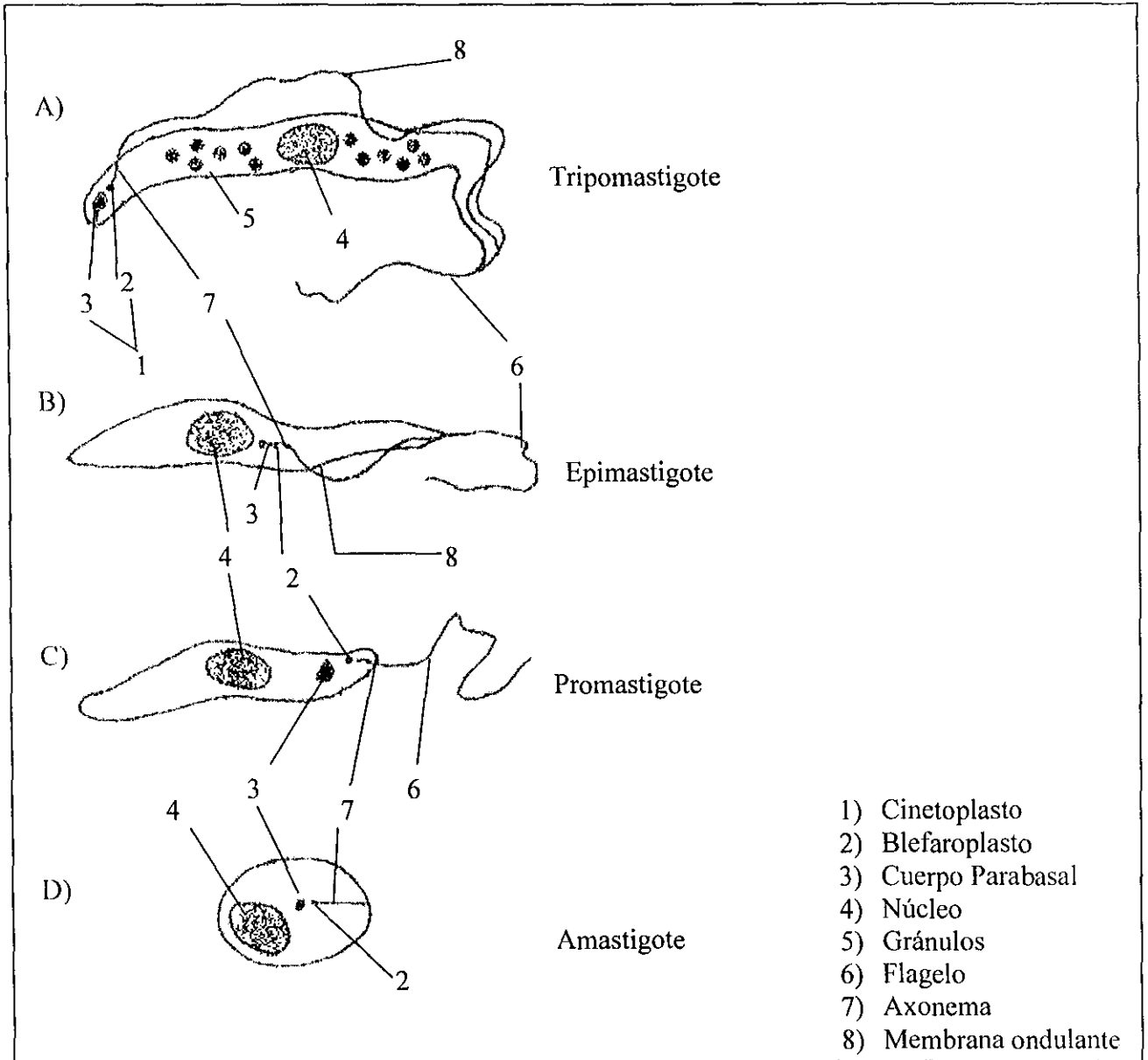
C)



Fig. 2C.- Formas amastigotes de T. cruzi, dentro de una cavidad pseudoquística en tejido muscular cardiaco.

FUENTE: Department of cellular biology. The university of Georgia.

FIGURA 3.- COMPONENTES ESTRUCTURALES DE *T. cruzi*



esta cubierto por alas funcionales; donde queda descubierto el “conexivo”, que es el reborde que rodea al abdomen y se destaca por mostrar manchas transversales claras, característica muy importante para identificar a los triatominos (Harwood y James, 1987; Lent y Wigodzinsky, 1979).

Los triatominos son hematófagos estrictos con hábitos nocturnos y cuando chupan sangre inyectan una saliva anticoagulante de efectos anestésicos en la piel y que contribuye a dilatar los vasos sanguíneos, provocando una reacción de hipersensibilidad local (Chagoma), el cual es de tamaño variable y dura muchos días en desaparecer. Cuando estos insectos pican prefieren las partes descubiertas especialmente el rostro, labio o el ángulo externo del ojo (Signo de Romaña) (Harwood y James, 1987; Lozano et al., 1991; Pinto y Rodrigues, 1997).

Son ovíparos; la hembra pone hasta 200 huevos durante su vida que son de forma elíptica y de color blanco cuando son recién puestos. Luego este color virara a color naranja al adelantar el desarrollo del embrión, cuya evolución se completa entre 20 y 50 días, según sea la temperatura y la especie. Sus nidos o criaderos son las grietas de las paredes de adobe, ladrillo, carrizo, madera; los techos de paja, teja y los echaderos de los animales domésticos. Las especies silvestres se refugian en cuevas, rocas o echaderos de animales que habitan estos sitios, alimentándose de ellos (Harwood y James, 1987; Gutiérrez et al., 2003).

Al nacer, el insecto es parecido al adulto, pero carece de alas, y no se encuentra infectado con *T. cruzi*. Unas semanas después, la ninfa muda de exoesqueleto y aumenta de tamaño pero sigue careciendo de alas. Estas mudas se repiten en número de cinco: cada una de ellas da origen a una ninfa cada vez mayor. Con la última muda aparecen las alas y el insecto adquiere su aspecto definitivo. La resistencia de los triatominos al ayuno es notable, ya que pueden durar hasta tres meses sin alimentarse (Harwood y James, 1987; Lozano et al., 1991; Pinto y Rodrigues, 1997; Gutiérrez et al., 2003) (Figura 4).

Los miembros de la familia *Reduviidae* reciben distintos nombres vulgares de acuerdo con la región de América o México que se trate; así en Sudamérica se les conoce como vinchucas, barbeiros, pitos, etcétera, y en México se les conoce como Pick, chinche de Compostela, talaje, chinche hocicona, besucona, etcétera (Pinto y Rodrigues, 1997; Gutiérrez et al., 2003).

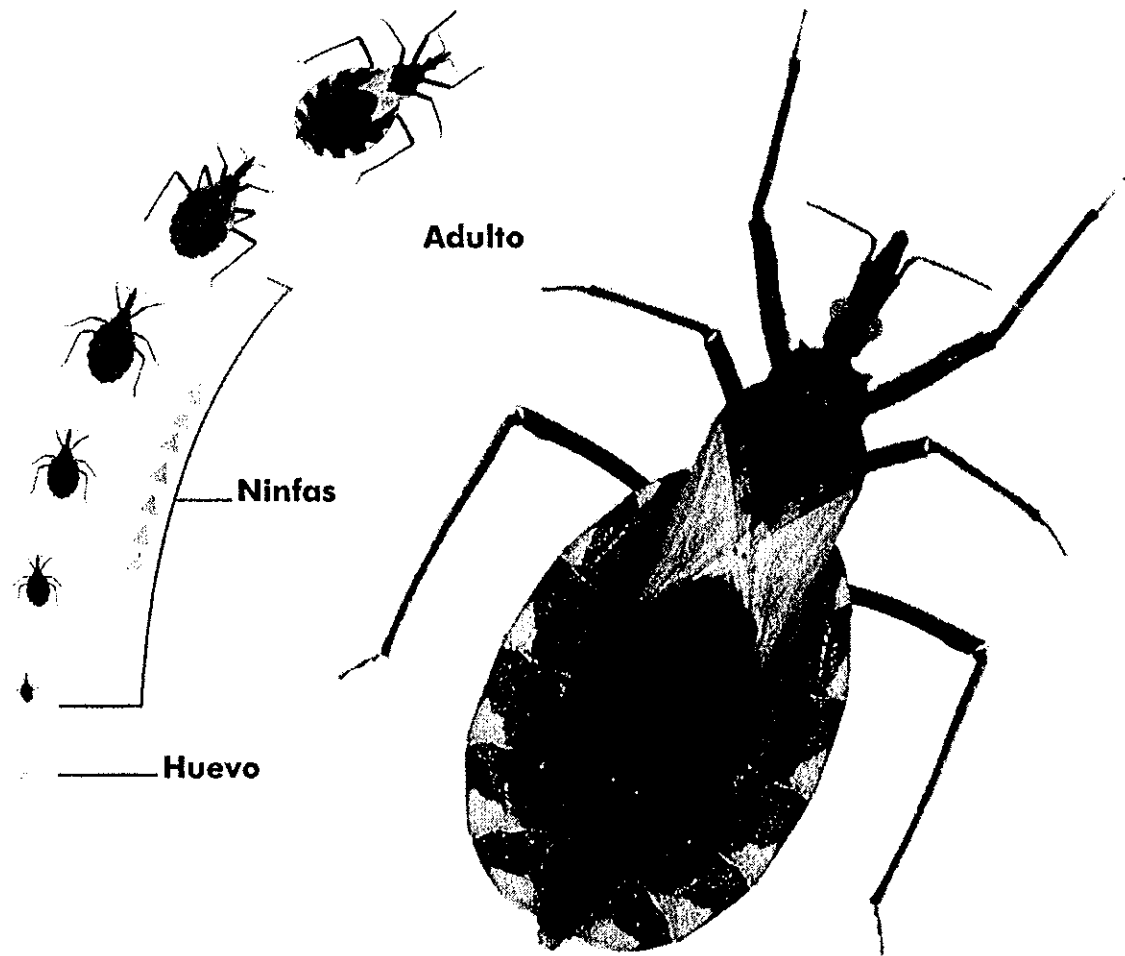
Un total de 31 especies es sabido que se encuentran en México, de las cuales 18 especies son de cierta importancia epidemiológica y han sido reportadas como infectadas

naturalmente con *Trypanosoma cruzi*, entre las más importantes se encuentran *Triatoma longipennis*, *T. mazzottii*, *T. pallidipennis*, *T. phyllosoma*, *T. picturata*, *T. barberi*, *T. brailovskyi* y *T. dimidiata* (Lent y Wigodinsky, 1979; OPS, 1994; Sosa et al., 2004).

Ciclo biológico parasitario

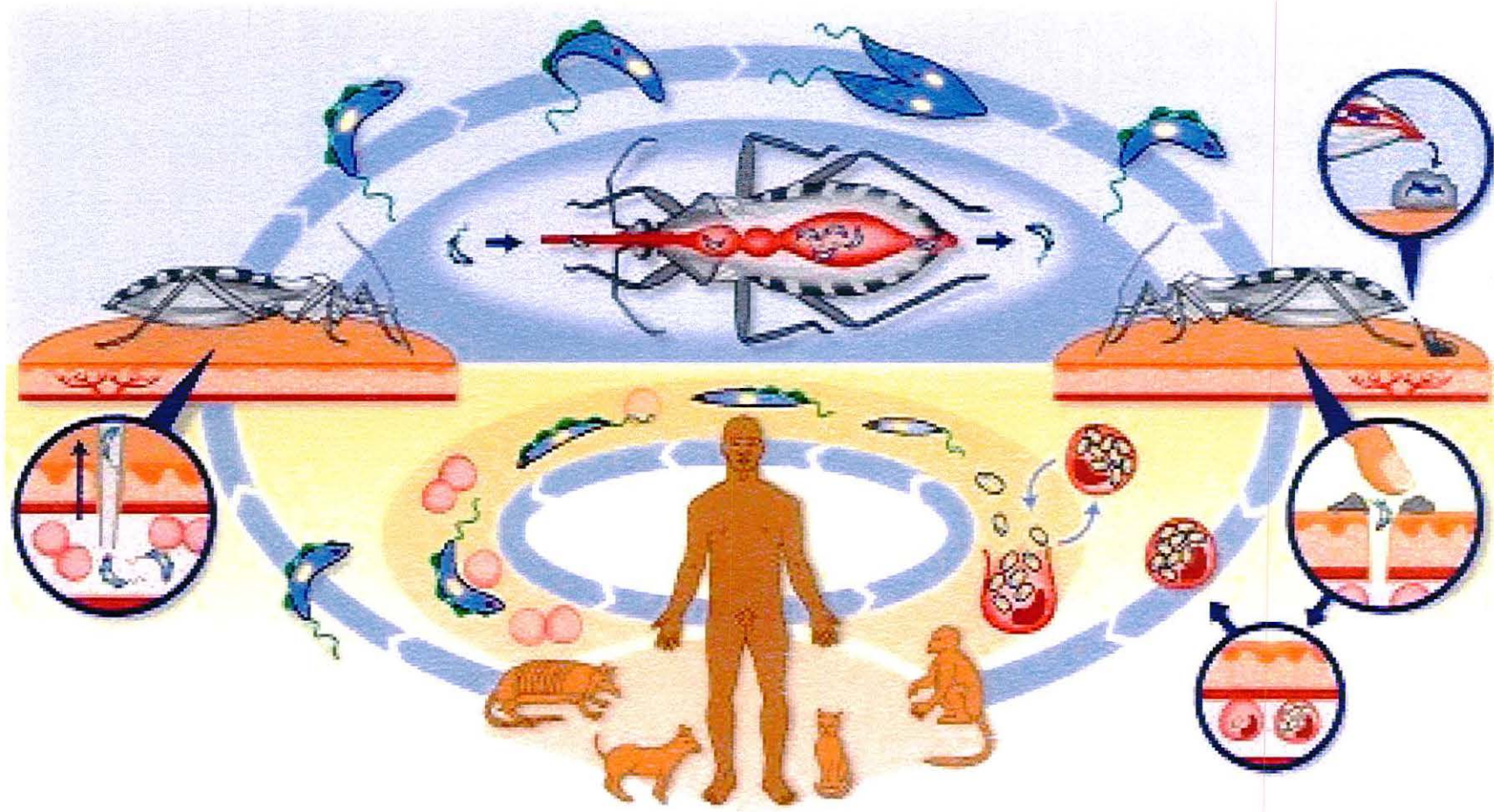
Los triatominos adquieren el parásito (en su estadio de tripomastigote) al alimentarse de un animal infectado. Dentro del triatomino y a lo largo de su tracto digestivo, el parásito sufre una serie de transformaciones que incluyen los estadios tripomastigote – epimastigote – tripomastigote metacíclico; siendo este último estadio el que es expulsado en las heces. La infección del mamífero se inicia cuando un insecto infectado defeca mientras se alimenta de este último, liberando tripomastigotes metacíclicos en sus heces y orinas. Los tripomastigotes, incapaces de atravesar la piel intacta, entran en el organismo a través de excoriaciones de la piel (sitio de la mordedura), ó a través de las mucosas, invadiendo las células hospederas. Dentro de las células, los tripomastigotes pierden su flagelo y se transforman en amastigotes, los cuales se multiplican intracelularmente por fisión binaria. Cuando los amastigotes casi llenan la célula, se transforman en tripomastigotes, que son liberados a los espacios intersticiales y al torrente sanguíneo después de romper la célula. Los tripomastigotes tienen la habilidad de invadir otras células, donde se transforman de nuevo en amastigotes, repitiéndose indefinidamente el ciclo de infección. Cabe mencionar que cualquier órgano del cuerpo puede ser invadido, pero particularmente las células de origen mesenquimatoso, en especial las miocárdicas, reticuloendoteliales y neurogliales. El ciclo se cierra cuando un triatomino no infectado se alimenta de un animal con tripomastigotes circulantes (Carcavallo et al., 1985, Tomo II; Gutiérrez et al., 2003) (Figura 5).

FIGURA 4.- CICLO BIOLÓGICO DE *Triatoma pallidipennis* Stål



FUENTE: Instituto Nacional de Salud Pública.

FIGURA 5.- CICLO BIOLÓGICO PARASITARIO DE *T. cruzi*



FUENTE: World Health Organization.

Fisiopatología

Cualquiera que sea el mecanismo de transmisión, el tripomastigote necesita parasitar células para cumplir con su ciclo biológico en el huésped vertebrado y es así como invade una gran variedad de células y tejidos, como músculo liso y estriado, células nerviosas, macrófagos, células epiteliales y fibroblastos. Después de penetrar se diferencia en amastigote, el cual por fisión binaria produce entre 50 y 500 nuevos amastigotes que van a diferenciarse nuevamente en tripomastigotes, los cuales al romperse las células parasitadas llegan a la sangre o van a parasitar células vecinas. Este aumento exponencial en el número de parásitos puede llevar a la invasión de corazón, sistema nervioso, músculo, sistema retículoendotelial, aparato digestivo y potencialmente cualquier otro órgano, situación que puede llevar a la muerte del huésped, como ocurre en la mayoría de los pacientes, la respuesta inmune que se genera empieza a controlar la proliferación parasitaria y de una parasitemia fuertemente detectable en la etapa aguda se pasa a una parasitemia subpatente en la etapa crónica, la cual puede reactivarse en circunstancias de inmunosupresión por el uso de drogas o por la adquisición del SIDA (Cerisola et al., 1967; Andrade, 1988; Ángulo et al., 1997).

Sintomatología

Los síntomas de la enfermedad de Chagas pueden variar en su gravedad según sea la zona geográfica, lo que hace pensar que existen diferencias en la virulencia de las cepas circulantes e incluso en la resistencia natural a la enfermedad que existiera en algunas poblaciones (Becerril y Romero, 2004).

Por lo general, el periodo de incubación toma de tres a cuatro días y se pueden encontrar parásitos en la circulación sanguínea en un lapso de 14 a 28 días después de la infección. La etapa aguda puede durar hasta 60 días y se caracteriza por: fiebre continua de 37.5 a 38.5°, síndrome oftalmo ganglionar (signo de Romana) o Chagoma de inoculación en la piel, además se observa edema, hepatoesplenomegalia, hipertrofia de ganglios linfáticos y en las formas graves en los niños presentan taquicardia, hipertensión arterial y cambios electrocardiográficos que originan una miocarditis grave o meningoencefalitis aguda que ocasiona la muerte. También pueden encontrarse alteraciones electrocardiográficas, en especial arritmias y taquicardias, e incluso miocarditis, que pueden ser fatales (Hernández et al., 1988; Gutiérrez et al., 2003; Becerril y Romero, 2004).

Después del periodo agudo se presenta una etapa de latencia que se caracteriza por el establecimiento de una fuerte inmunidad contra el parásito, el cual de alguna manera consigue evadir el ataque inmune, pero no consigue ya mantener el nivel de replicación de la etapa aguda. Las lesiones que provoca al destruir las células parasitadas son mínimas. Así, con pocos parásitos y pocas lesiones, se puede establecer un estado de equilibrio parásito – huésped por periodos más o menos prolongados. Sin embargo, quedan lesiones irreversibles en el organismo parasitado, dependientes de los focos necróticos de la inflamación de la etapa aguda. Estas lesiones dependen, de la intensidad de la etapa aguda, de la virulencia de la cepa, del parásito y del grado de modulación que el sistema inmune fue capaz de establecer. Esta etapa ha sido denominada “forma subclínica” o simplemente “infección chagásica”. (Velasco et al., 1992; Andrade, 1988; Gutiérrez et al., 2003).

Durante la etapa crónica, los problemas cardiacos son los más serios y se manifiestan principalmente como daño al tejido muscular estriado cardiaco y con trastornos de la conducción de la señal eléctrica del corazón, lo que produce insuficiencia cardiaca y facilita la producción de tromboembolias. La afectación gastrointestinal consiste en la dilatación del esófago (megaesófago) y del colon (megacolon) y se debe muy probablemente al daño local del sistema neuronal autonómico. El primer síntoma de la afectación del esófago por la enfermedad de Chagas es la disfagia, que algunas veces va acompañada de un dolor retroesternal, posteriormente aparece la regurgitación espontánea o provocada, la odinofagia, la sensación de repleción retroesternal, la pirosis, los eructos, la tos y la hipertrofia de las parotidas. En el caso del megacolon, hay meteorismo, estreñimiento –que puede durar meses– y presencia de fecalomas. El megacolon se encuentra asociado al megaesófago en casi un 50 por 100 de los enfermos. Más de la mitad de los casos de forma digestiva de la enfermedad de Chagas tratados en los hospitales presentan también la forma cardiaca (Lozano et al., 1991; Chester et al., 2003).

Respuesta Inmunológica

En una etapa inicial de la infección, los anticuerpos contra *T. cruzi* son de la clase IgM siendo reemplazados gradualmente por anticuerpos del tipo IgG a medida que progresa la infección. La inmunidad mediada por anticuerpos se ha visto asociada principalmente a las inmunoglobulinas tipo IgG. La lisis de los tripomastigotes se debe a la activación del complemento por la vía alterna. La resistencia mediada por células da muerte a los

tripomastigotes por medio de macrófagos activados, eosinófilos y neutrófilos, a través de los mecanismos dependientes de anticuerpos. Sin embargo, se ha demostrado que los títulos elevados de anticuerpos no se relacionan de manera directa con la gravedad de la enfermedad (Lozano et al., 1991; Trujillo et al., 1993; Becerril y Romero, 2004).

Existen diversos factores que influyen en la respuesta inmunitaria, como lo son: la virulencia de las diferentes cepas de *T. cruzi*, cantidad del inóculo, constitución genética del huésped definitivo, entre otras (Lozano et al., 1991; Ramos et al., 1993).

Diagnóstico durante la etapa crónica de la enfermedad de Chagas

Como en toda enfermedad infecciosa, el diagnóstico se basa en el trípode: clínica, epidemiología y laboratorio. En lo referente al laboratorio, los exámenes a realizar dependerán de la etapa clínica que curse el paciente, ya que según la misma, las características biológicas y patológicas del agente son diferentes (OPS, 1998; Palacios et al., 2000; Rosa et al., 2001).

Durante la etapa crónica la cantidad de parásitos es muy baja e incluso ausente; por lo tanto, la detección de anticuerpos circulantes ha sido el método más utilizado para su diagnóstico. Existen muchas técnicas para determinar la presencia de anticuerpos en suero; entre las que se encuentran: la fijación de complemento (FC), reacción en cadena de la polimerasa (PCR), inmunodetección en soportes sólidos (Western blot), hemaglutinación indirecta (HAI), ensayo inmunoenzimático (ELISA) e inmunofluorescencia indirecta (IFI). Las técnicas serológicas más recomendables son la HAI, ELISA e IFI (Cerisola, 1962; Pinto y Rodrigues, 1997; Ruiz y Nadal, 1997; OPS, 1998; Monsalve et al., 2004).

El inmunodiagnóstico de precisión debe basarse como mínimo en el resultado de dos pruebas serológicas practicadas simultáneamente para identificar a un paciente como chagásico; pautas recomendadas por la OMS. Para ello se debe considerar que tipo de antígenos se utilizan para las mismas, que tipo de anticuerpos se demuestran, así como el equipamiento y los recursos del laboratorio que efectúan estos estudios (Fatala, 1985; Monteón et al., 1995; López et al., 2000; Rosa et al., 2001; Cannova et al., 2002; Sosa et al., 2004).

Practicando simultáneamente dos reacciones serológicas, se puede efectuar el diagnóstico de infección chagásica con una precisión superior al 95%. Si las dos reacciones efectuadas coinciden en sus resultados (ambos positivos o ambos negativos) se puede

certificar o descartar el diagnóstico de la infección chagásica. Pese aquellas muestras con reacciones discordantes o sueros anticomplementarios se debe solicitar una nueva muestra y si la discordancia se repite efectuar un xenodiagnóstico al paciente (Fatala, 1985; Palacios et al., 2000; Rosa et al., 2001; Monsalve et al., 2004).

El diagnóstico serológico es, junto con datos epidemiológicos y en su caso el cuadro clínico, elemento central en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica (Zicker et al, 1991; OPS, 1994; Jiménez et al., 1995; Biancardi et al., 2003).

La Organización Mundial de la Salud manifiesta los criterios de definición de caso de enfermedad de Chagas; que incluyen: 1) Residencia en zona endémica, 2) dos serologías positivas por técnicas diferentes y 3) cuadro clínico compatible (Rosas et al., 2002).

Pruebas serológicas utilizadas en el presente estudio

Hemaglutinación Indirecta (HAI)

Fundamento del método.– Los individuos que padecen enfermedad de Chagas crónica poseen en el suero anticuerpos del tipo IgG específicos contra los antígenos citoplasmáticos de *T. cruzi*. La HAI se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos de producir aglutinación específica en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con los correspondientes antígenos.

Como en el suero, tanto de los individuos infectados como de los no infectados, existen anticuerpos inespecíficos; debe investigarse su presencia, especialmente para los anticuerpos heterófilos que son capaces de aglutinar glóbulos rojos de distintas especies. Dicha investigación se realiza enfrentando el suero con glóbulos rojos no sensibilizados. Los anticuerpos interferentes se eliminan mediante tratamiento con 2-Mercaptoetanol.

Ensayo Inmunoenzimático (ELISA)

Fundamento del método.– El principio básico es la insolubilidad del antígeno por absorción pasiva a una fase sólida (superficie de poliestireno). Una vez absorbido el antígeno es puesto en contacto con una dilución apropiada de suero. En una segunda etapa se adiciona el conjugado que es una antiglobulina humana unida a una enzima. En la última etapa se agrega el sustrato enzimático correspondiente lo que le da una coloración característica. La intensidad del color es directamente proporcional a la cantidad de conjugado ligado al

complemento antígeno-anticuerpo; y en consecuencia a la concentración de anticuerpos presentes en el suero.

Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

Fundamento del método.– El fundamento esta basado en la capacidad de las proteínas de unirse a ciertos colorantes fluorescentes sin alterar sus propiedades inmunológicas, pudiendo por lo tanto actuar normalmente al antígeno específico. Permitiendo observar al microscopio la unión Ag–Ac, evidenciada por la fluorescencia que adquiere el microorganismo antigénico al unírsele el anticuerpo fluorescente.

Tratamiento

En cuanto al tratamiento para la enfermedad de Chagas los medicamentos que se utilizan son el nifurtimox y benznidazol, que actúan durante la etapa aguda, dando la mejoría por la supresión de la parasitemia. Estos compuestos ejercen escaso efecto en la etapa crónica en que si bien desaparece la parasitemia, la serología continua positiva. El nifurtimox es tripanocida contra las formas tripomastigotes y amastigote de *T. cruzi*. El mecanismo de acción está relacionado con la capacidad de formar anión superóxido y otras especies reactivas de oxígeno como peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo. Sin embargo esta capacidad de las drogas de producir radicales libres no solo afecta al parásito sino también puede afectar a las células del huésped (Ruiz y Nadal, 1997; Rosa et al., 2001).

Los principales problemas, con respecto a los fármacos disponibles actualmente, son los largos periodos de tratamiento, los numerosos efectos secundarios y la eficacia parcial de los mismos, por lo que se están desarrollando distintos estudios en busca de mejores opciones terapéuticas (Rosa et al., 2001).

El presente trabajo de investigación, forma parte del proyecto “Enfermedad de Chagas en el occidente de México; caracterización de poblaciones vectoriales silvestres y domesticas, seguimiento clínico-terapéutico de pacientes infectados y caracterización genética de cepas humanas de *Trypanosoma cruzi*”; y llevado a cabo en el laboratorio de investigación de enfermedad de Chagas del departamento de Salud Publica en el Centro Universitario de Ciencias de la Salud, U. de G.

MARCO TEÓRICO

Antecedentes

Carlos Chagas fue el primero que identificó la infección por *Trypanosoma cruzi* en muestras de sangres de animales domésticos, convenciéndose de que los gatos y perros constituían importantes reservorios de la enfermedad humana que lleva su nombre (Chester et al., 2003).

En la década de los 40's, con el desarrollo de nuevos métodos inmunodiagnósticos se revela que la enfermedad de Chagas se extendía en casi todo el continente americano (Monteón et al., 1995).

En 1940, Mazzotti descubrió la enfermedad de Chagas en México y detectó los dos primeros casos humanos mexicanos por medio de observación parasitoscópica, en Oaxaca (Velasco et al., 1989; Trujillo et al., 2000).

En 1983, Tinajero y Flores reportan una paciente femenina de 26 años de edad con megaesófago, originaria de Oaxaca y residente del Estado de México; conoce a los triatomas pero no recuerda haber sufrido picadura alguna. El estudio de laboratorio fue positivo en las pruebas Fijación del complemento (FC) 1:32, Hemoaglutinación 1:32, Inmunodifusión y contrainmunolectroforesis positivas (Tinajero y Flores, 1983).

En 1984, Salazar Schettino y col. presentan el primer caso de megaesófago chagásico en la republica mexicana (Oaxaca), diagnosticado a través de las pruebas serológicas resultando positivos en la pruebas de FC 1:32, Hemoaglutinación 1:32, Contrainmunolectroforesis e inmunodifusión positiva; el paciente afirmó no haber sufrido picadura alguna (Salazar et al., 1984).

En 1989, Salazar Schettino y col. reportan a un paciente masculino de 32 años de edad, con problemas cardiacos, nacido y residente de la ciudad de México; el cual no reconoce a los triatomos y el antecedente más importante consistió en una transfusión sanguínea 14 años atrás; resulto con serología positiva a *T. cruzi* en los exámenes de FC 1:32, HAI 1:2. Este es el primer caso donde se reporta la transmisión de *T. cruzi* por hemotransfusión. (Salazar et al., 1989).

En 2001, Becerra y col. presentan un caso de megaesófago, donde el paciente no presentó antecedentes familiares de importancia para su padecimiento. En los estudios inmunológicos practicados para *T. cruzi*, resulto ELISA y HAI positivas (Becerra et al., 2001).

La primera información sobre la Enfermedad de Chagas en el estado de Jalisco se refiere a los vectores cuando en 1936 Mazzotti colectó ejemplares de *Triatoma dimidiata* en el municipio de Cihuatlan (Trujillo et al., 2000).

En 1967, Cuartero y Ponce descubrieron dos casos de enfermedad de Chagas mediante frotis sanguíneo en la campaña para la erradicación del paludismo en los municipios de Chimaltitán y Santa María de los Ángeles (Velasco et al., 1989).

En 1981–1983, Velasco y col. realizaron encuestas epidemiológicas y seroepidemiológicas en los municipios de Zacoalco de Torres, Atemajac de Brizuela y Atoyac, Jal.; encontrando tasas de seropositividad del 18, 19 y 61% respectivamente. En los primeros municipios el estudio se realizó en individuos mayores de 15 años con muestras aleatorias. Fue en Atoyac donde se realizó un muestreo no aleatorio y el porcentaje de positividad encontrado fue del 61% con 169 individuos positivos de un total de 276 estudiados. La determinación de anticuerpos anti-*T. cruzi* se realizó en eluidos de sangre absorbida en papel filtro y procesados con la técnica de hemaglutinación indirecta (HAI). Estos hechos indicaban la posibilidad de que existiera un gran número de enfermos no detectados, por esta razón en 1987 el Laboratorio de la enfermedad de Chagas del departamento de Salud Pública de la Facultad de Medicina de la Universidad de Guadalajara, se dio a la tarea de investigar la real magnitud del problema en los 124 municipios del estado de Jalisco (Trujillo et al., 1993).

La encuesta estatal de 1987, realizada en los 124 municipios, por Hernández y cols., del laboratorio de la enfermedad de Chagas del departamento de Salud Pública de la facultad de Medicina, de la Universidad de Guadalajara, mostró tasas inesperadamente altas en localidades rurales con cifras máximas de hasta 77.4%, en Guachinango, Jal., y en municipios de Jesús María, 71.7%. La tasa general del estado fue de 177 por 1000 habitantes en población abierta (Lozano et al., 1991; Trujillo et al., 2000).

En 1997, Lozano y col. reportan dos casos de enfermedad de Chagas crónica pertenecientes al municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco. El primer caso es un paciente masculino de 31 años de edad con megaesófago y con serología para *T. cruzi* positiva en HAI 1:16 y ELISA 1:100. El segundo caso es una paciente femenina de 11 años, con megaesófago y serología para *T. cruzi* positiva a HAI 1:34 y ELISA 1:100 (Lozano et al., 1997).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad de Chagas es una parasitosis causada por *T. cruzi*; donde se reconocen tres etapas, una aguda de corta duración y otra crónica más larga, separadas por un período clínico asintomático o etapa indeterminada.

Un problema importante radica en el diagnóstico; ya que este depende de la etapa en la que se encuentre la enfermedad. En la etapa aguda el diagnóstico se realiza mediante la demostración del parásito en sangre. Durante la etapa crónica de la enfermedad, el diagnóstico se efectúa mediante la detección de anticuerpos, a través de diferentes pruebas inmunodiagnósticas. Entre las pruebas más utilizadas en la actualidad por su fácil manejo y bajo costo, además de estar recomendadas por la OMS se encuentran la hemaglutinación indirecta (HAI), el ensayo inmunoenzimático (ELISA) y la inmunofluorescencia indirecta (IFI).

JUSTIFICACIÓN

Desde el descubrimiento de la enfermedad de Chagas, muchos han sido los métodos parasitológicos y de inmunodiagnóstico propuestos, donde algunos han demostrado a través del tiempo y de numerosos estudios su sensibilidad, especificidad y reproducibilidad.

Un factor de relevancia a tener en cuenta para la aplicación de las pruebas serológicas, es la falta de antecedentes clínicos en la mayoría de los infectados chagásicos, ya que no más del 5% de ellos presenta un cuadro clínico correspondiente a la infección aguda, por ello, se hace necesario recurrir al uso de estas pruebas que aportan un elemento útil a la clínica. Estas pruebas son capaces de demostrar la existencia de anticuerpos específicos y pueden utilizarse para determinar el número de infectados en las poblaciones. Éstas deben ser ejecutadas en la actualidad, empleando técnicas normalizadas, para poder obtener resultados válidos y comparables.

HIPÓTESIS

Mediante la aplicación de las pruebas serológicas: hemaglutinación indirecta (HAI), ensayo inmunoenzimático (ELISA) e inmunofluorescencia indirecta (IFI), se pueden detectar anticuerpos anti-T. cruzi en humanos, en la localidad de Los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco.

OBJETIVOS

General

- Conocer mediante el diagnóstico serológico la infección chagásica humana en la localidad de Los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco, a través de la detección de anticuerpos anti-T. cruzi.

Particulares

- Detectar mediante la prueba serológica de hemaglutinación indirecta (HAI), anticuerpos anti-T. cruzi en los habitantes de la localidad de Los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco.
- Detectar mediante la técnica inmunoenzimática de ELISA, anticuerpos anti-T. cruzi en los habitantes de la localidad de Los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco.
- Detectar mediante la reacción de inmunofluorescencia indirecta (IFI), anticuerpos anti-T. cruzi en los habitantes de la localidad de Los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco.
- Estimar la seroprevalencia para la enfermedad de Chagas en la localidad de Los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco.

MATERIAL Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio

El municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco se encuentra localizado en la región central del Estado. Su situación geográfica lo ubica entre las coordenadas 103°50'50" a 104°02'15" de longitud oeste y de los 20° 19' 00" a 20° 34' 45" de latitud norte, a una altura de 1,250 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con los municipios de Teuchitlán y Tala, al sur con el municipio de Tecolotlán, al este con el municipio de Cocula y al oeste con el municipio de Ameca. El municipio de San Martín de Hidalgo tiene una extensión de 324.57 kilómetros cuadrados, lo que representa el 5.51 % de la región Valles, el 0.4% del estado de Jalisco y el 0.017% del país (Gobierno del estado de Jalisco, 2000) (Figura 6).

Predomina, en la mayor parte del municipio, un clima semiseco con invierno y primavera secos, semicálidos, sin estación invernal definida salvo en la zona de la sierra donde los inviernos son más fríos y prolongados con temporadas marcadas por fuertes heladas. La temperatura media anual es de 20.9 ° C con una máxima de 28.7° C y una mínima de 13.2° C. La precipitación pluvial es de 829 a 964mm por año (Gobierno del estado de Jalisco, 2000).

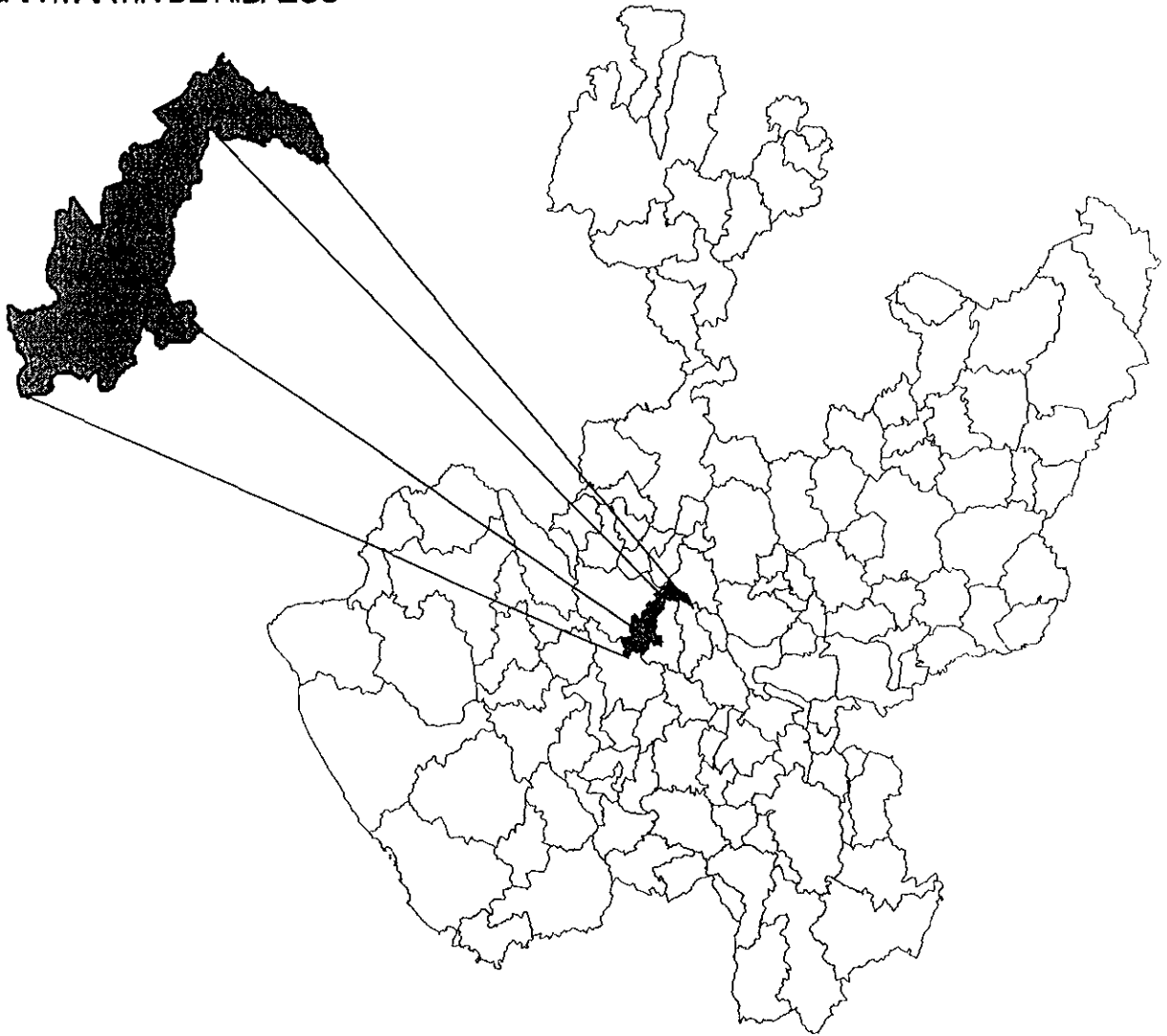
La localidad de Los Guerrero se encuentra a 5 km de la cabecera municipal, conectándose a ésta por medio de una brecha. Según datos de la casa de salud (2002), la población total es de 700 personas, donde 327 son hombres y 373 son mujeres. Cuenta con los servicios de colecta de basura, drenaje y agua potable. Existen alrededor de 200 viviendas, que conforman esta localidad. Los materiales predominantes en las viviendas de esta localidad son: ladrillo, cemento, madera, teja. Entre los animales, se encuentran: aves de corral, borregos, caballos, cerdos, chivos, gatos, perros, vacas, etcétera. La fauna nociva en esta localidad incluye: alacranes, arañas, chinches, cucarachas, moscas, mosquitos, ratones, piojos, pulgas, etc. Los principales cultivos dentro de la localidad son: Caña de azúcar, Frijol, Maíz, Frutos (SSJ, 2002) (Anexo 1).

Universo de Estudio

El universo de estudio lo represento la población humana de la localidad de los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco.

FIGURA 6.- UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL MUNICIPIO ESTUDIADO DENTRO DEL ESTADO DE JALISCO

SAN MARTIN DE HIDALGO



FUENTE: Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI).

Criterios de inclusión

- Habitantes de la localidad de Los Guerrero
- Todas aquellas personas que firmen la hoja de consentimiento informado para realizar el posterior estudio.

Criterios de exclusión

- Personas que no son habitantes de la localidad de Los Guerrero
- Todas aquellas personas que no firmen la hoja de consentimiento informado para el posterior estudio.

Diseño de investigación

El presente trabajo de investigación es un estudio de tipo observacional, descriptivo y transversal en la localidad de los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco.

El municipio de san Martín de Hidalgo fue seleccionado por presentar una de las seroprevalencias más altas para el estado basándose en los resultados obtenidos sobre el estudio epidemiológico de la enfermedad de Chagas en el estado de Jalisco, que cubrió los 124 municipios de la entidad, donde se estudiaron la cabecera municipal y algunas localidades aledañas. Además, de su cercanía y fácil acceso a Guadalajara, evitando con esto que las muestras séricas sufrieran alteraciones en su traslado y procesamiento en el laboratorio.

Este trabajo forma parte del proyecto: “Enfermedad de Chagas en el occidente de México; caracterización de poblaciones vectoriales silvestres y domesticas, seguimiento clínico-terapéutico de pacientes infectados y caracterización genética de cepas humanas de *Trypanosoma cruzi*”.

Tamaño de la muestra

Para la selección de la muestra (n) se utilizo el programa Epi info 6.04, obteniendo n= 419, con un 95% de confianza de N= 700 individuos que conforman la localidad de Los Guerrero.

Dicho programa para la selección del tamaño de muestra maneja la siguiente formula:

$$N = \frac{NZ^2 p(1-p)}{d^2(N-1) + Z^2 p(1-p)}$$

Donde:

N: Población total.

Z: Nivel de confianza.

d: Precisión esperada en la población.

p: Proporción esperada en la población.

n efectiva: efecto designado

Se aplicó el estudio serológico para la enfermedad de Chagas a todas aquellas personas habitantes de Los Guerrero que accedieran de forma voluntaria, obteniendo finalmente una muestra de 447 personas, superando con ello la muestra estimada de 419 personas para la localidad de Los Guerrero.

La muestra obtenida fue analizada serológicamente por las pruebas de hemaglutinación indirecta, ensayo inmunoenzimático e inmunofluorescencia indirecta, tomando como seropositivos todas aquellas muestras que resulten positivas en al menos dos de las tres pruebas.

Metodología

Se visitó la localidad de Los Guerrero con el propósito de obtener la mayor cantidad de muestras sanguíneas posibles, donde posteriormente de haber firmado una hoja de consentimiento informado (Anexo 2), se tomaron algunos datos, como lo son: nombre completo, edad, sexo y domicilio; para inmediatamente después obtener la muestra sanguínea, la cual fue colocada en un tubo de ensayo con el código asignado del paciente.

La obtención sanguínea se realizó por punción intravenosa a través de jeringas estériles, desechándose inmediatamente después de su uso; obteniendo 5ml de sangre por cada paciente, la cual se colocó en un tubo de ensayo sin anticoagulante de 7ml con el código asignado al tomar sus datos. Los tubos con la sangre correspondiente de los pacientes se colocó en hieleras junto con geles para transporte de muestras; y posteriormente fueron trasladados al laboratorio sobre la enfermedad de Chagas, CUCS, U. de G. Cabe mencionar que las muestras se dejaron coagular para su posterior separación sérica, y evitar su hemolización dando con ello falsos resultados.

En el laboratorio se separó el suero de los glóbulos rojos, colocándose los tubos con muestras en una centrífuga a 2000 rpm por 5'. Finalizado el proceso anterior, se tomo el suero de cada muestra por medio de pipetas Pasteur limpias; donde el suero fue colocado en dos tubos Eppendorf de 1.5 ml rotulados con el código correspondiente del paciente; donde en uno de los tubos se le añadió glicerol y suero (V/V), mientras que en el otro se colocó sólo suero. Los tubos Eppendorf se colocaron en contenedores y se introdujeron en el congelador a una temperatura de -20° C, hasta su uso.

Cabe señalar que congelamientos y descongelamientos sucesivos de las muestras, efectuados para su uso o accidentalmente, desnaturalizan sus proteínas y forman coágulos y agregados insolubles. La mezcla de suero con un volumen igual de glicerol, es una técnica muy conveniente para mantener inalteradas las titulaciones séricas durante años de almacenamiento a -20° C, o durante meses de almacenamiento a temperatura ambiente. (Camargo et al., 1986; Lorenzo et al., 1991).

La primera prueba ensayada sobre los sueros obtenidos de los habitantes de la localidad de Los Guerrero, fue la hemaglutinación indirecta (HAI); posteriormente el ensayo inmunoenzimático (ELISA) y finalmente la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI); donde para esta última prueba se procedió a aislar parásitos de triatominos capturados dentro de la localidad estudiada. Los parásitos fueron aislados dentro de una campana de flujo laminar (Labconco Mod. 36209-04) y cultivados en medio LIT (Anexo 3) dentro de frascos de cultivo (cellstar 50ml). Los parásitos fueron recolectados de este medio de cultivo al encontrarse en fase exponencial, donde se utilizaron para montar las placas de IFI.

Finalmente los resultados obtenidos del presente estudio, fueron vertidos dentro de una base de datos en Excel, para posteriores consultas dentro del avance del proyecto al que pertenece el presente y futuros estudios.

Obtenidos los resultados del diagnóstico serológico para la enfermedad de Chagas aplicado en los sueros de los habitantes de la localidad estudiada; se estimó la seroprevalencia mediante la formula

$$\frac{\# \text{casos}}{\text{población estudiada}} \times 100$$

Los reactivos utilizados en este estudio, así como el equipo utilizado en ello fue proporcionado por el laboratorio de estudio sobre la enfermedad de Chagas, Departamento de Salud Pública, CUCS, U. de G.; mediante el convenio establecido entre la Universidad de Guadalajara y el Institut de Recherches pour le Développement (IRD), Francia.

Pruebas serológicas

CHAGATEST HAI (Kit Wiener Lab)

Prueba de hemaglutinación indirecta para la detección de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*

Material

Policubeta de 96 pocillos con fondo en “U”	Antígeno HAI
Micropipeta 25 µl	Buffer HAI
Puntas amarillas	Solución proteica
Reconstituyente HAI	Control (positivo y negativo)

Procedimiento

Seleccionar una policubeta con pocillo sin usar de fondo en U.

Titulación sin 2-ME

1. Colocar 25 µl de Diluyente de Sueros HAI en todos los pocillos a usar de la policubeta.
2. Tomar una alícuota de cada suero a ensayar con una micropipeta de 25 µl (una puntilla por cada muestra). Colocar la micropipeta con la muestra en el primer pocillo y rotarlo por lo menos 10 veces para asegurar una correcta dilución de la muestra.
3. Realizar diluciones seriadas a partir del primer pocillo (dilución 1:2), pasando la micropipeta al pocillo siguiente (dilución 1:4) y así sucesivamente hasta la dilución que se desea investigar (por ejemplo: 1:8, 1:16, 1:32), rotando en cada paso la micropipeta por lo menos 10 veces para asegurar una correcta dilución de la muestra.
4. Colocar en los pocillos 25 µl de Antígeno HAI a partir de la dilución 1:16.
5. Mezclar aplicando suaves golpes en los laterales de la policubeta.
6. Dejar en reposo, a resguardo de vibraciones, durante 90 minutos.
7. Leer a partir de los 90 minutos.

Interpretación de los resultados

No reactivo: Presencia de un sedimento en forma de botón o pequeño anillo de bordes regulares.

Reactivo: Formación de una película o manto que cubre el 50% o más del fondo de los pocillos.

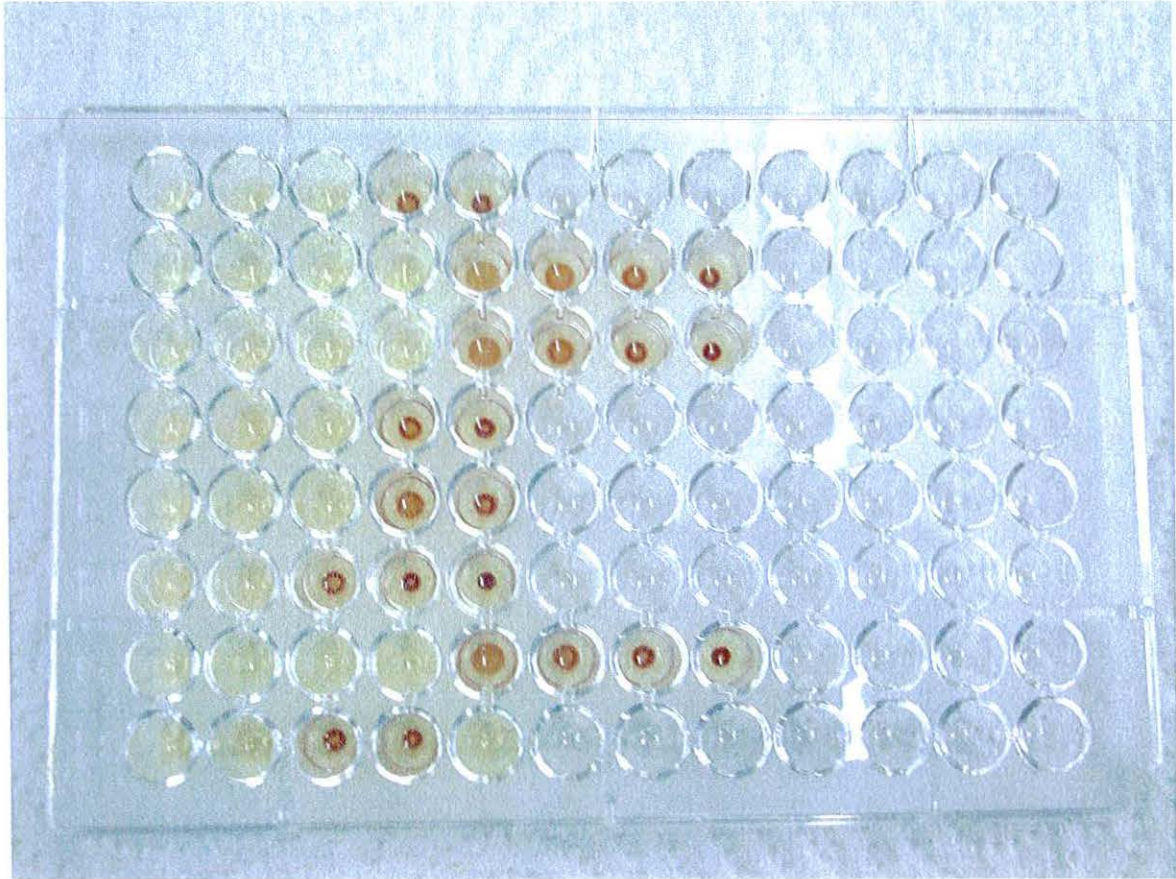
Valores de referencia

Dentro de las técnicas inmunológicas, la HAI es considerada un método confiable para la determinación de anticuerpos específicos. No obstante sus resultados, al igual que los de cualquier método serológico, sólo constituyen un dato auxiliar para el diagnóstico. Es por esta razón que los informes deben ser considerados en términos de probabilidad. En este caso, mayor o menor probabilidad de parasitosis por *T. cruzi*.

Según recomendaciones por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), el valor pronóstico de esta determinación aumenta aún más cuando se emplean en forma conjunta dos técnicas, por ejemplo, HAI y ELISA.

Se consideran presumiblemente parasitados aquellos individuos cuyos sueros son reactivos en diluciones mayores o iguales a 1:16.

FIGURA 7.- PRUEBA DE HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA (HAI)



Policubeta de 96 pocillos con fondo en U, donde se procesa la prueba HAI. Se muestran las diluciones de los sueros.

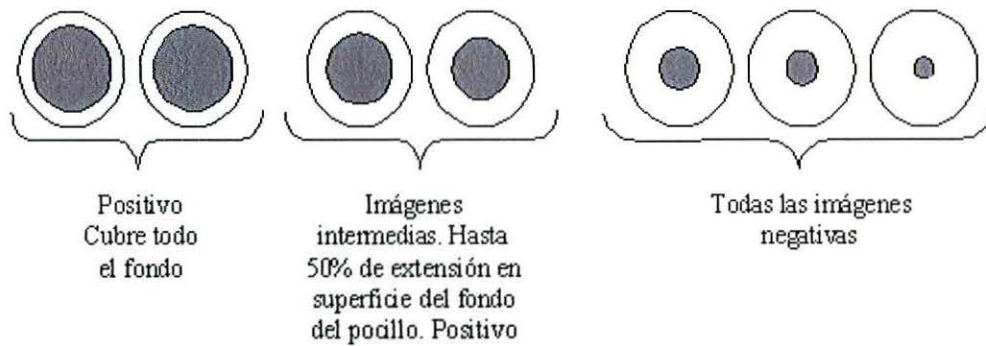


Diagrama donde se muestran los criterios de la prueba HAI para considerar los resultados en cada suero problema

CHAGATEST ELISA (Kit Wiener Lab)
Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) para la detección
de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*

Material

Policubeta sensibilizada con tiras removibles con pocillos de fondo plano	
Estufa de incubación a 37° C	Revelador A
Micropipeta 200 µl	Revelador B
Micropipeta 20 µl	Stopper
Puntas amarillas	Buffer de lavado
Diluyente de muestras	Control (positivo y negativo)
Conjugado	Espectrofotómetro

Procedimiento

Nota: Una vez iniciado el análisis debe completarse sin interrupción.

1. Llevar a temperatura ambiente los reactivos y las muestras antes de iniciar la prueba.
2. Procesar simultáneamente dos controles positivos (CP) tres negativos (CN) y las muestras (M). Al depositar la muestra y/o controles sobre el Diluyente de Muestras, debe asegurarse de colocar los mismos en el seno del líquido y no sobre las paredes o el fondo del pocillo. Enjuagar la pipeta con el diluyente dispensado en el pocillo para asegurar la correcta homogeneización.
3. En los pocillos a utilizar de la policubeta colocar:

	M	CP	CN
Diluyente de muestras	200 µl	200 µl	200 µl
Control Positivo	–	10 µl	–
Control Negativo	–	–	10 µl
Muestra	10 µl	–	–

Nota: En alícuotas con glicerol se coloca doble cantidad de muestra recordando que se encuentra V/V.

4. Mezclar aplicando suaves golpes en los laterales de la policubeta durante 10 segundos una vez cargadas las muestras en la tira.
5. Para evitar la evaporación, cubrir la placa con una cinta autoadhesiva e incubar en la estufa 30 minutos a 37° C. Luego decantar cuidadosamente el líquido de cada pocillo recibiendo en un recipiente para desechos biológicos que contenga 5% de hipoclorito sódico.
6. A continuación, lavar cinco veces con buffer de lavado empleando aproximadamente 300 µl/vez/pocillo después de cada lavado, el líquido se descartará también en el recipiente con hipoclorito. Al finalizar el último lavado, eliminar por completo el líquido residual, invirtiendo la policubeta y golpeándola varias veces sobre papel absorbente, ejerciendo una leve presión con la mano sobre los laterales mayores del soporte, para evitar la caída de las tiras de los pocillos.
7. Luego agregar en cada pocillo una gota de conjugado.
8. Mezclar aplicando suaves golpes en los laterales de la policubeta durante 10 segundos.
9. Para evitar la evaporación, cubrir la placa con una cinta autoadhesiva e incubar durante 30 minutos en estufa a 37° C.
10. Transcurrido el tiempo decantar el líquido de los pocillos, recibiendo en el recipiente con hipoclorito y lavar según se indicó en el paso seis. Al finalizar el último lavado, eliminar por completo el líquido residual, invirtiendo la policubeta y golpeándola varias veces sobre el papel absorbente, ejerciendo una leve presión con la mano sobre los laterales mayores del soporte, para evitar la caída de las tiras de los pocillos.
11. Luego agregar en cada pocillo una gota del revelador A, para inmediatamente después colocar una gota en cada pocillo del revelador B.
12. Mezclar aplicando suaves golpes en los laterales de la policubeta durante 10 segundos.
13. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente y luego agregar una gota en cada pocillo de Stopper.
14. Mezclar aplicando suaves golpes en los laterales de la policubeta durante 10 segundos.

15. Leer en espectrofotómetro a 450 nm (en este caso se utilizó el espectrofotómetro BIO-RAD Mod. 500) o evaluar el resultado a simple vista por comparación con los controles Positivos y Negativos.

Interpretación de los resultados

Con instrumental óptico:

La presencia o ausencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* se determina relacionando la absorbancia de la muestra respecto al valor de Cut-off.

Cut-off = CN + 0.200 D.O.

donde CN: promedio de las lecturas del Control Negativo

Zona de indeterminación: Cut-off + / - 20%

Muestras No reactivas: se consideran a aquellas con absorbancias menores que el límite inferior de la zona de indeterminación.

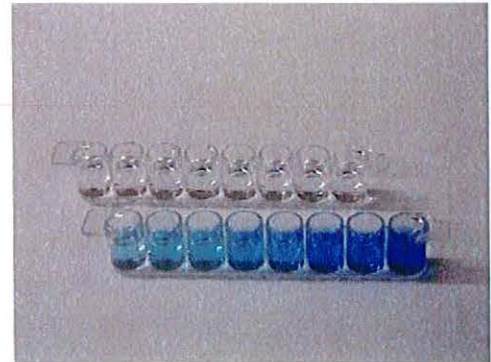
Muestras Reactivas: se consideran a aquellas con absorbancias mayores que el límite superior de la zona de indeterminación.

Muestras indeterminadas: Se consideran a aquellas con absorbancias que caen dentro de la zona de indeterminación. Estas muestras deben ser ensayadas nuevamente.

Interpretación visual

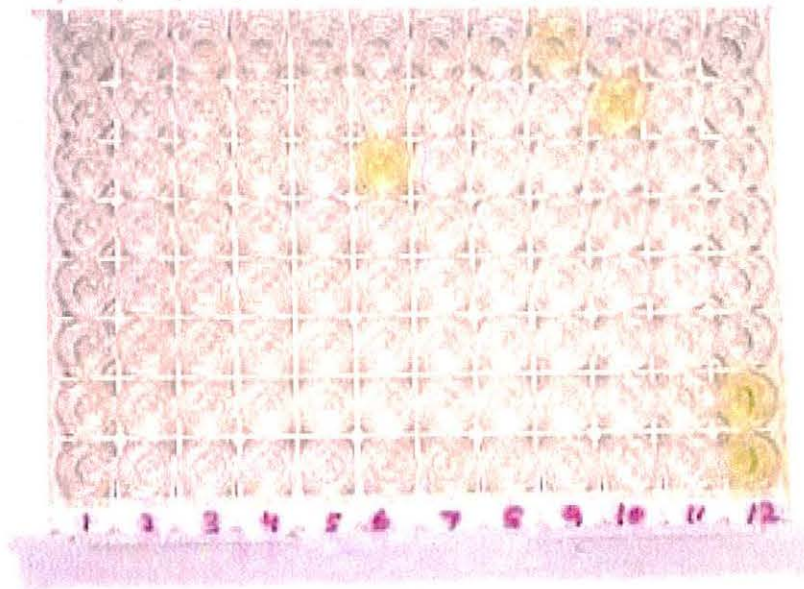
Si se opta por este tipo de interpretación debe considerarse No Reactiva toda muestra que no presente una coloración mayor que la de los Controles Negativos. Por el contrario, una muestra netamente amarilla se considera Reactiva. Colores tenues mayores que el del Control Negativo, requieren la interpretación instrumental.

FIGURA 8.- ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO (ELISA)



Presentación del Kit de Elisa utilizado en el presente estudio.

FUENTE: Wiener Lab group.



Microplaca con fondo plano para la prueba de ELISA. Obsérvese los pocillos de color amarillo indicando muestras y controles positivos.

INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)

Para la detección de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*

El protocolo fue elaborado por las investigadoras del Institut Recherches pour le Développement (IRD), Francia; y llevado a cabo dentro del laboratorio sobre el estudio de la enfermedad de Chagas, CUCS, U. de G.

Material

Portaobjetos marcados con 12 divisiones de forma circular de aproximadamente 8mm de diámetro.

Microscopio para fluorescencia	Puntas amarillas
Ventilador	Azul de Evans
Cámara húmeda	PBS
Tubos de ensayo 5 ml	Conjugado
Gradilla	Agitador
Micropipeta 50 μ l	Cubreobjetos
Micropipeta 200 μ l	Glicerina + agua (V/V)

Preparación antígeno

1. Tomar parásitos (cepa GUE-536) en fase exponencial de medio de cultivo LIT.
2. Centrifugar a 2500 rpm.
3. Decantar sobrenadante en un recipiente con cloro.
4. Resuspender en 2 ml de buffer PBS pH 7.4
5. Repetir los pasos (2,3 y 4) tres veces.
6. Resuspender parásitos en 2 ml de PBS pH 7.4.

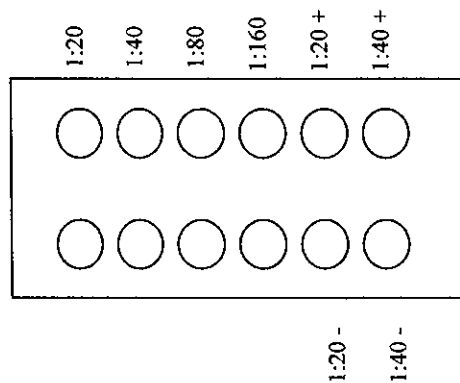
Preparación de placas para IFI

1. Previamente colocar las placas en una solución etanol-acetona (V/V) y secar las placas con una gasa.
2. Colocar 20 μ l de la solución con parásitos (Paso 6, de la preparación de antígeno) en cada pocillo de la placa para IFI.
3. Reabsorber la gota hasta dejar una fina capa de la solución en cada pocillo.

4. Verificar bajo microscopio si existen de 15–20 parásitos por campo.
Nota: Si no se observa esta cantidad bajo el microscopio, se agrega más PBS a la solución y se verifica posteriormente hasta llegar a la cantidad antes mencionada.
5. Dejar secar las placas.
6. Colocar las placas a -20°C hasta su uso.

Procedimiento

1. Sacar las placas del congelador y descongelarlas bajo ventilador.
2. Diluir los sueros 1:20, 1:40, 1:80, 1:160.
3. Colocar 15 μl de cada suero, así como los controles de la siguiente manera:



4. Colocar las placas en una cámara húmeda por 30'.
5. Lavar las placas con buffer PBS pH 7.4; tres veces durante 10' cada lavado.
6. Secar las placas bajo ventilador.
7. Añadir 15 μl de conjugado y azul de Evans, a cada pocillo.

Nota: Previamente fue estandarizado el conjugado y el azul de Evans; tomándose aquella concentración en la que ambos reactivos proporcionaran una buena fluorescencia y un gasto menor de estos. La concentración utilizada fue: conjugado 1/10, AE 1/2500.

8. Colocar las placas dentro de la cámara humedad, en la oscuridad por 30'.
9. Repetir paso 5.
10. Colocar guanidina + agua (V/V) sobre la placa y colocar posteriormente un cubreobjetos.

11. Leer bajo microscopio con luz UV (en este estudio se utilizo un Microscopio Olympus Mod. BX40, así como una lámpara de luz fluorescente Olympus Mod. BX-FLA)

Interpretación

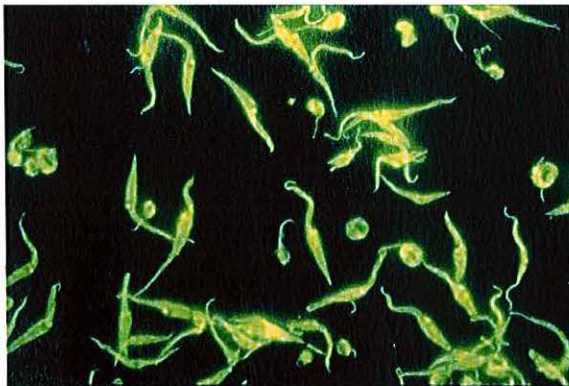
La interpretación de los resultados se realiza primeramente con la lectura de los controles donde:

Control negativo: Debe presentar una coloración rojiza y no debe mostrar fluorescencia.

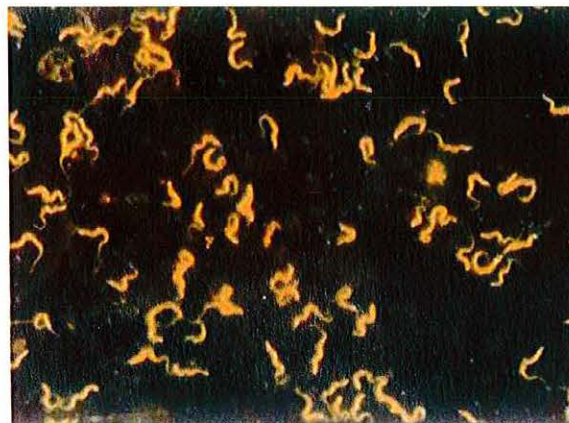
Control positivo: Debe presentar los parásitos teñidos de un color verdoso fluorescente. La fluorescencia es particularmente intensa en la membrana y flagelo del parásito.

Las lecturas positivas deben ser observables hasta la dilución reactiva del suero positivo que se utiliza.

FIGURA 9.- PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)



Positivo (+)



Negativo (-)

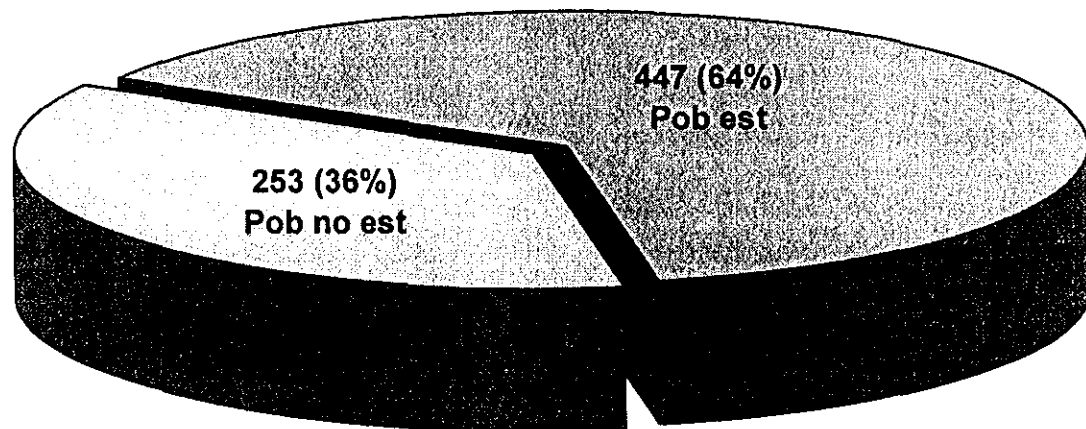
FUENTE: Institut Pasteur.

RESULTADOS

Del estudio realizado en la localidad de Los Guerrero, Municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco, en el periodo comprendido entre septiembre del 2002 a enero del 2004, se obtuvo lo siguiente:

Debido a la demanda de la población originada por la promoción del proyecto tanto en la cabecera municipal como también en la localidad estudiada; el tamaño de muestra se incrementó un 4% al calculado, obteniendo al final del estudio una muestra de 447 (64%) personas; mientras que la muestra estimada era de 419 con un 95% de confianza de un total de 700 individuos que conforman el pueblo (FIGURA 10).

FIGURA 10.- POBLACIÓN ESTUDIADA EN LA LOCALIDAD DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO

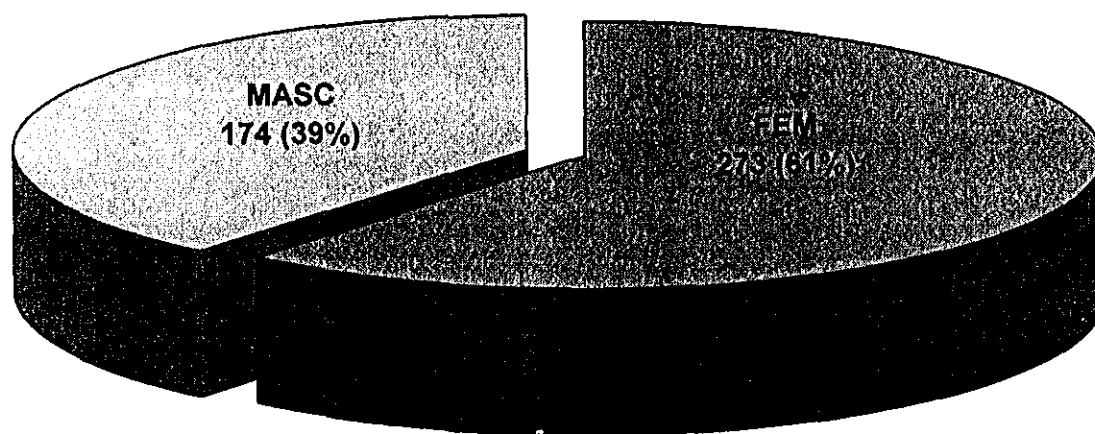


Pob est= Población estudiada. Pob no est= Población no estudiada.

Fuente: Base de datos serología Los Guerrero, Lab. Chagas, CUCS, U. de G.

En cuanto a la distribución de la población por género se obtuvieron 273/447 (61%) individuos del sexo femenino y 174/447 (39%) del sexo masculino, predominando el género femenino (FIGURA 11).

FIGURA 11.- DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA DE ACUERDO AL GÉNERO EN LA LOCALIDAD DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO

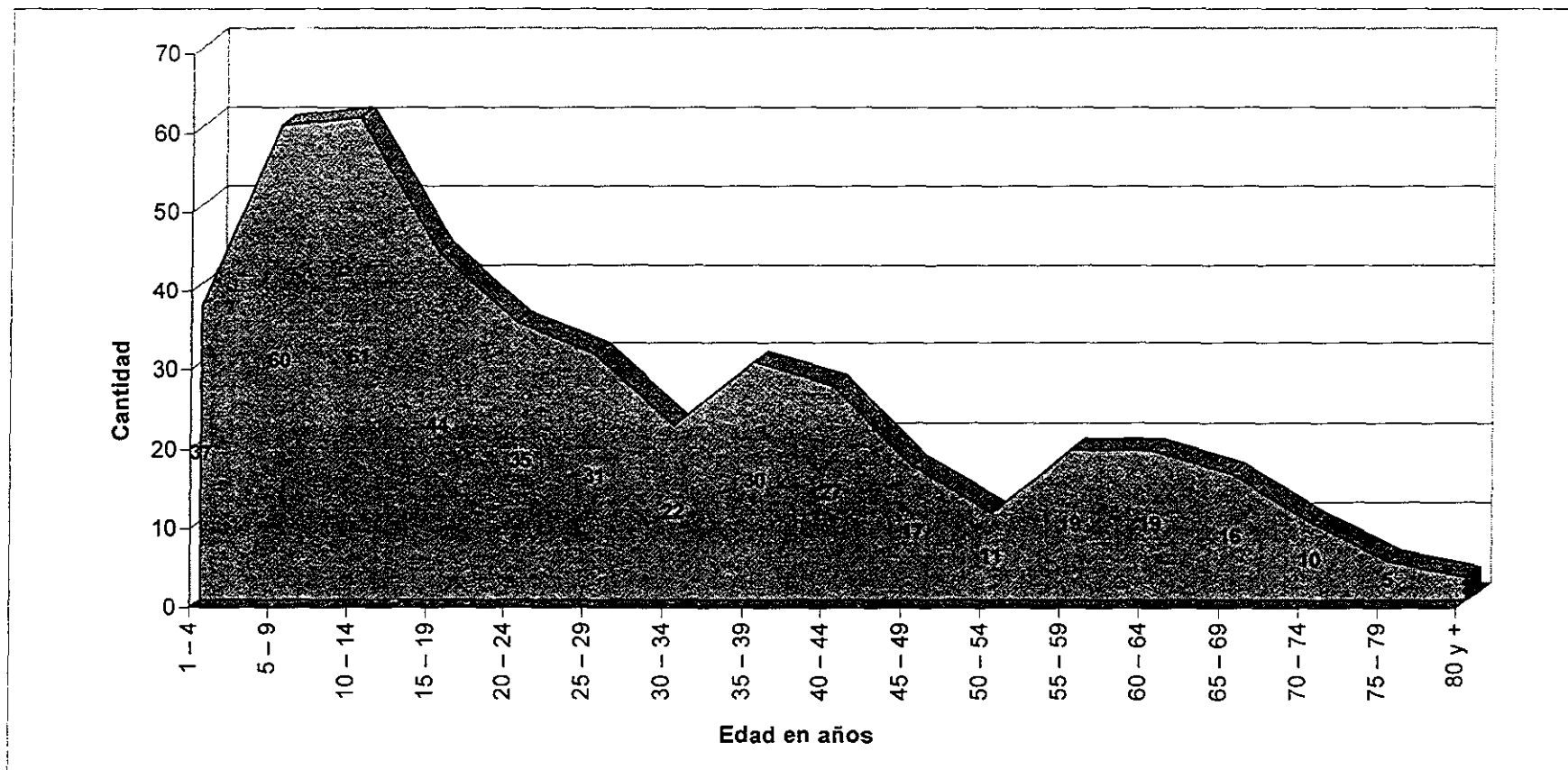


MASC= Masculino. FEM= Femenino.

Fuente: Base de datos serología Los Guerrero, Lab. Chagas, CUCS, U. de G.

Con respecto a la edad, los habitantes incluidos en la muestra oscilaron entre 1 y 85 años de edad. Esta fue dividida en grupos etáreos de 5 años, obteniendo 17 grupos. La distribución de los grupos de acuerdo a la cantidad de personas, permitió observar que el grupo de 10 – 14 años con 61 individuos (13.6%), equivale a la mayor concentración muestreada de personas analizadas en este estudio, seguido por el grupo de 5 – 9 años con 60 personas (13.4%), 15 – 19 años 44 (9.8%), 1 – 4 años 37 (8.3%), 20 – 24 años 35 (7.8%), 25 – 29 años 31 (6.9%), 35 – 39 años 30 (6.7%), 40 – 44 años 27 (6.0%); los grupos de 55 – 59 y 60 – 64 años presentaron 19 personas (4.3%); el grupo de 45 – 49 años 17 (3.8%), 50 – 54 años 11 (2.5%), 70 – 74 años 10 (2.2%), 75 – 79 años 5 (1.1%) y finalmente el grupo de 80 y + años con 3 personas (0.7%) (FIGURA 12).

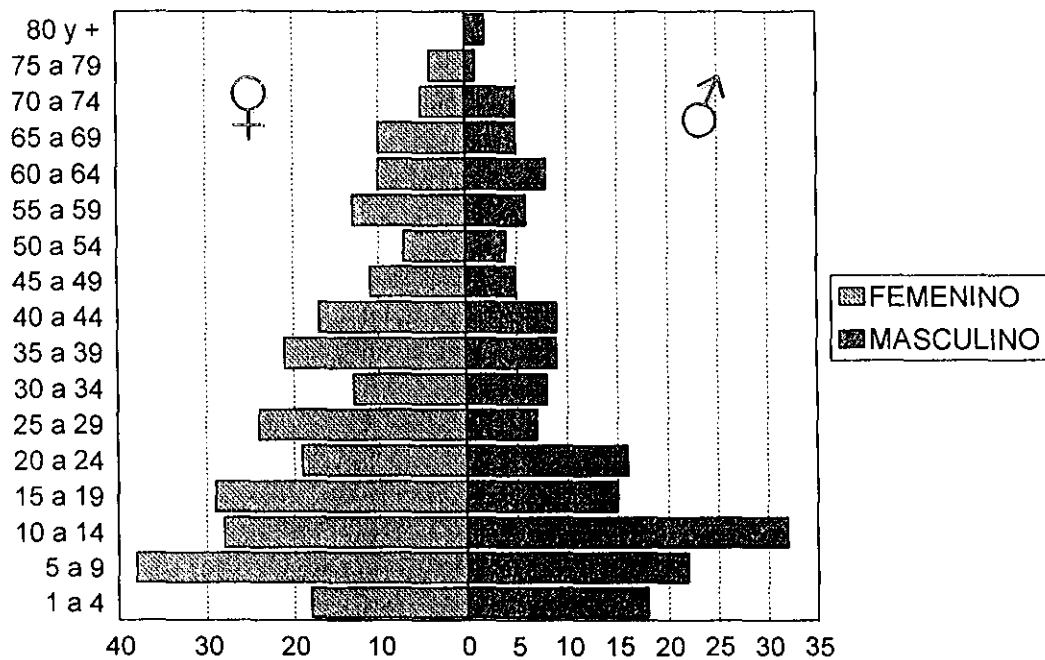
FIGURA 12.- DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA POR GRUPOS ETÁREOS EN LA LOCALIDAD DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO



Fuente: Base de datos serología Los Guerrero, Lab. Chagas, CUCS, U. de G.

En cuanto a la distribución de la muestra con respecto al género y edad, se obtuvo que en el sexo femenino la mayor concentración se encuentra en el grupo de 5 – 9 años con 38 individuos; los grupos que le siguen con una concentración que va entre los 20 y 29 individuos son los grupos de 10 – 14, 15 – 19, 25 – 29 y 35 – 39 años de edad. Los grupos de 1 – 4, 20 – 29, 30 – 34, 40 – 44, 45 – 49, 55 – 59, 60 – 64 y 65 – 69 presentaron entre 10 y 19 individuos. Los grupos con una concentración de individuos menor de 6 individuos fueron los de 70 – 74 y 75 – 79. El único grupo etáreo que no presentó individuos del sexo femenino fue el de 80 y + años de edad. En el sexo masculino se encontró que los grupos de 1 – 4, 5 – 9, 15 – 19, 20 – 24 y 10 – 14 años presentan las concentraciones de individuos mayores, esto es, van entre los 15 – 32 individuos, siendo este último grupo el que presenta la mayor concentración del sexo masculino con 32 individuos. Los grupos restantes presentan una concentración que oscila entre 1 y 9 individuos (FIGURA 13).

FIGURA 13.- PIRÁMIDE POBLACIONAL DE LAS PERSONAS ESTUDIADAS EN LA LOCALIDAD DE LOS GUERERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO



Fuente: Base de datos serología Los Guerrero, Lab. Chagas, CUCS, U. de G.

Se encontraron anticuerpos anti- *T. cruzi* en los habitantes de la localidad de Los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco, mediante la aplicación de las pruebas serológicas de hemaglutinación indirecta (HAI), ensayo inmunoenzimático (ELISA) e inmunofluorescencia indirecta (IFI). Del total de 447 muestras séricas obtenidas de la población estudiada que conforman el presente estudio, se encontraron cuatro muestras reactivas solo a la prueba de HAI, y ocho muestras positivas a las 3 pruebas: seis seropositivos del sexo femenino y dos del sexo masculino. Las edades de los seropositivos del sexo femenino oscilan entre los 2 y los 68 años de edad; mientras que en el sexo masculino se presentó en un individuo de 14 y otro de 80 años de edad.

La seroprevalencia de infección encontrada en la localidad estudiada fue de 1.8% (8/447 individuos), entendiendo como prevalencia el número de sueros en los que se encontraron anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* entre la población estudiada. En cuanto a la prevalencia por género se encontró que el sexo femenino presentó una prevalencia de 2.2% y el masculino 1.1%. Se realizó el análisis de *chi-cuadrada*, y nos muestra que esta diferencia no es significativa.

La población estudiada de la localidad de Los Guerrero, se presenta en la siguiente tabla, donde se muestran los individuos estudiados distribuidos por grupos etáreos, género, seronegativos y seropositivos; así como también la prevalencia encontrada en esta localidad (TABLA 1).

TABLA 1.- RESULTADOS SEROLÓGICOS Y PREVALENCIA DE LA POBLACIÓN DE LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO

RANGO EDAD	INDIVIDUOS		FEM		MASC		SERONEGATIVOS				SEROPOSITIVOS				PREVALENCIA
							FEM		MASC		FEM		MASC		
							No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	
1-4	37	8.3	19	51.4	18	48.6	18	94.7	18	100	1	5.3	0	0	2.7
5-9	60	13.4	38	63.3	22	36.7	38	100	22	100	0	0	0	0	0
10-14	61	13.6	28	45.9	33	54.1	28	100	32	97.0	0	0	1	3.0	1.6
15-19	44	9.8	29	65.9	15	34.1	29	100	15	100	0	0	0	0	0
20-24	35	7.8	19	54.3	16	45.7	19	100	16	100	0	0	0	0	0
25-29	31	6.9	24	77.4	7	22.6	24	100	7	100	0	0	0	0	0
30-34	22	4.9	14	63.6	8	36.4	13	92.9	8	100	1	7.1	0	0	4.5
35-39	30	6.7	21	70.0	9	30.0	21	100	9	100	0	0	0	0	0
40-44	27	6.0	18	66.7	9	33.3	17	94.4	9	100	1	5.6	0	0	3.7
45-49	17	3.8	12	70.6	5	29.4	11	91.7	5	100	1	8.3	0	0	5.9
50-54	11	2.5	7	63.6	4	36.4	7	100	4	100	0	0	0	0	0
55-59	19	4.3	13	68.4	6	31.6	13	100	6	100	0	0	0	0	0
60-64	19	4.3	11	57.9	8	42.1	10	90.9	8	100	1	9.1	0	0	5.3
65-69	16	3.6	11	68.8	5	31.2	10	90.9	5	100	1	9.1	0	0	6.3
70-74	10	2.2	5	50.0	5	50.0	5	100	5	100	0	0	0	0	0
75-79	5	1.1	4	80.0	1	20.0	4	100	1	100	0	0	0	0	0
80 y +	3	0.7	0	0	3	100.0	0	0	2	66.7	0	0	1	33.3	33.3
TOTAL	447	100	273	61.1	174	38.9	267	97.8	172	98.9	6	2.2	2	1.1	1.8

No= Número de individuos. %= Porcentaje. FEM= Femenino. MASC= Masculino. PREV= Prevalencia.

Fuente: Base de datos serología Los Guerrero, Lab. Chagas, CUCS, U. de G.

En la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), el corte fue establecido según las pautas de la Organización Mundial de la Salud (OMS), esto es, se consideraron como positivas aquellas muestras séricas que reaccionen a una dilución igual o mayor de 1:30 ó 1:40. En el presente estudio se optó por tomar la dilución 1:40 por considerarlo práctico en los cálculos al estandarizar la prueba. En las pruebas comerciales el corte fue establecido según la técnica encontrada de manera anexa dentro de cada kit. Donde la hemaglutinación indirecta (HAI) presenta un corte de 1:16 y ELISA se obtiene mediante el Cut-off= CN + 0.200 DO. CN es el promedio de las lecturas del control negativo. En cuanto a la prueba de HAI los títulos oscilaron entre 1:16 y 1:1024; mientras que en la prueba de IFI los títulos oscilaron entre 1:40 y 1:640, y en ELISA todos estos individuos resultaron positivos.

Los títulos encontrados en los sueros positivos dentro de la prueba HAI, fueron tres con una dilución 1:16, tres a la dilución 1:128, uno con la dilución 1:512 y finalmente un suero con la dilución de 1:1024. Para la IFI se encontró un suero positivo con una dilución de 1:40, cuatro a la dilución 1:80, dos en la dilución 1:160 y uno en la dilución 1:640. (TABLA 2).

TABLA 2.- RELACIÓN DE INDIVIDUOS SEROPOSITIVOS A *Trypanosoma cruzi* EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA

EDAD	SEXO	HAI	ELISA	IFI
2	F	1:128	POS	1:160
14	M	1:512	POS	1:80
44	F	1:16	POS	1:80
49	F	1:16	POS	1:80
61	F	1:128	POS	1:160
62	F	1:16	POS	1:40
68	F	1: 1,024	POS	1: 640
80	M	1:128	POS	1:80

CORTES DE PRUEBA: HAI: dilución 1:16. IFI: dilución 1:40.

ELISA: Cut-off= CN + 0.200 DO. donde CN: promedio de lecturas del control negativo.

Fuente: Base de datos serología Los Guerrero, Lab. Chagas, CUCS, U. de G.

DISCUSION

Para la definición de caso de Tripanosomiasis Americana o Enfermedad de Chagas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que, el paciente debe presentar: tiempo de residencia en zona endémica, cuadro clínico compatible y dos serologías positivas por técnicas diferentes (Rosas et al., 2002). Entre las técnicas utilizadas, se encuentran, la hemaglutinación indirecta (HAI), ensayo inmunoenzimático (ELISA), inmunofluorescencia indirecta (IFI), fijación del complemento (FC) e inmunodetección en soportes sólidos (Western blot). Las pruebas de HAI, ELISA e IFI son las más utilizadas, debido a su bajo costo y a los buenos resultados que arrojan en términos tanto de especificidad como de sensibilidad. Por otro lado, la prueba de PCR, donde se amplifica el DNA del parásito (diagnóstico parasitológico) proporciona una buena especificidad y alta sensibilidad, pero con variación según las zonas de estudio. Esta prueba desgraciadamente no se realiza en todos los laboratorios, ya que implica un gasto económico mayor en cuanto a equipo y reactivo, además, es considerada solo como técnica de apoyo para el diagnóstico serológico de esta enfermedad.

En el presente estudio se aplicaron las pruebas de HAI, ELISA e IFI a los sueros de los habitantes de la localidad de Los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco. Se detectaron anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en ocho residentes de esta localidad donde, conforme al proyecto de investigación al que pertenece el presente estudio, se encontró que la infestación por triatominos tanto de forma intradomiciliar como peridomiciliar, las características de las viviendas y la alta infección de los insectos por el parásito son propicios para que la transmisión de esta enfermedad se lleve a cabo.

Además de los ocho individuos seropositivos, se encontraron cuatro individuos reactivos solo a la prueba de HAI con una dilución no mayor a 1:16, por lo que tomando en cuenta los criterios de la OMS, fueron clasificados como seronegativos. Sin embargo, la parte médica del grupo de investigación, decidió monitorearlos seis meses más tarde. Al aplicar las pruebas a estas muestras el resultado fue negativo en todos los casos, siendo con ello finalmente seronegativos. Cabe señalar que la prueba de HAI no dio falsos negativos

pero si falsos positivos, los cuales fueron descartados al aplicar las otras pruebas incluidas en el presente estudio.

Las pruebas comerciales de HAI y ELISA utilizadas en este estudio son de origen argentino, lo que puede suponer diferente capacidad reactiva con los anticuerpos producidos en los pacientes infectados con cepas mexicanas (Cárdenas et al., 2003). La prueba de IFI fue ejecutada con un antígeno procedente de una cepa de *T. cruzi* aislada de un triatomino capturado dentro de la localidad de Los Guerrero. Al aplicar esta prueba con un antígeno local aislado de una cepa autóctona y obtener el 100% de concordancia con la prueba de ELISA, se descarto la posible capacidad reactiva diferente de los antígenos argentinos frente a los pacientes mexicanos.

La prevalencia encontrada en la localidad de Los Guerrero fue de 1.8%. Este valor es menor al estimado en el estado de Jalisco (17.7%, Hernández et al., 1988) y ligeramente mayor al encontrado por la Encuesta Nacional de Seroepidemiología (ENSE) (1.6%, Velasco et al., 1992). Cabe mencionar que las encuestas seroepidemiológicas realizadas en población abierta en México sobre la Tripanosomiasis americana han sido heterogéneas, es decir, han sido diferentes en cuanto al tipo de muestreo, grupos etáreos, tomas de muestra, pruebas serológicas, antígenos utilizados y criterios de seropositividad. Sin embargo, según el dato de alta seroprevalencia en Jalisco, podemos sospechar que en nuestro estado existen zonas rurales con una mayor seroprevalencia que la encontrada en la localidad de Los Guerrero. Tomando en cuenta que la localidad de Los Guerrero, se localiza muy cerca de la cabecera municipal, los servicios de salud y situación económica de este, son “satisfactorios” en comparación con otras localidades más aisladas, donde la transmisión de esta enfermedad podría ser mayor debido tal vez a las condiciones ecológicas y precarias condiciones socioeconómicas de los habitantes, logrando con ello una fuerte colonización intradomiciliar del vector.

El sexo femenino presentó una prevalencia de 2.2%, mientras el sexo masculino 1.1%, siendo esta diferencia no significativa. Cabe señalar que el número de mujeres estudiadas fue mayor al número de hombres, debido probablemente al rol desempeñado por

cada uno dentro de la localidad estudiada. El aumento del muestreo de ambos sexos podría tal vez destacar diferencias en seroprevalencia.

Por otro lado, se visitaron 100 viviendas en Los Guerrero, como parte del proyecto al que pertenece este estudio, en busca de triatominos y aplicando una encuesta a los habitantes, donde una de las preguntas fue saber si han sido picados por el insecto vector. Encontrando que el 20% de los encuestados afirmo haber sido picado por triatominos, y de estos, el 93% afirmo haber sufrido la picadura dentro de su recamara.

Al encontrar entre los seropositivos una niña de 2 años y un adolescente de 14 años de edad, nos indica una transmisión activa de *T. cruzi* por vía vectorial en la actualidad. Esto es, como se menciona en el párrafo anterior, al visitar las viviendas de estos pacientes, se encontraron triatominos y se refirió por parte de su familia que habían sido picados por estos insectos en alguna ocasión. Se descarta la vía de transmisión transfusional y congénita, por no presentar antecedentes de transfusión y resultar las madres de ambos pacientes seronegativas (Pinto y Rodríguez, 1997).

CONCLUSIÓN

El examen serológico para la determinación de la Tripanosomiasis americana o Enfermedad de Chagas, proporciona una información muy importante. Así se pone de manifiesto el contacto del parásito con el huésped, lo que constituye el principal apoyo para el diagnóstico de esta enfermedad.

En la localidad de Los Guerrero, municipio de San Martín de Hidalgo, Jalisco, se encontró:

Mediante la prueba serológica de hemaglutinación indirecta (HAI), doce pacientes con anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*. De los cuales cuatro resultaron falsos positivos.

Al aplicar el ensayo inmunoenzimático de ELISA, se encontraron en ocho pacientes anticuerpos contra *T. cruzi*, siendo estos mismos pacientes positivos en la prueba de HAI.

A través de la aplicación de la reacción de inmunofluorescencia indirecta (IFI) se encontraron anticuerpos anti-*T. cruzi* en ocho pacientes, siendo estos mismos, positivos a las pruebas de HAI y ELISA.

La seroprevalencia encontrada en la localidad de Los Guerrero fue de 1.8% (8/447). Entre estos individuos se encuentra una niña de dos años de edad y un adolescente de 14 años de edad, lo que permite pensar que la transmisión del *T. cruzi* es activa por vía vectorial en la actualidad.

La detección de casos en población mexicana abierta se puede apoyar en pruebas comerciales desarrolladas con antígenos procedentes de cepas no autoctonas, donde el manejo del diagnóstico tiene que realizarse por lo menos en dos pruebas serológicas.

El diagnóstico serológico en la etapa crónica de la enfermedad de Chagas se basa en la aplicación de por lo menos dos pruebas serológicas. En una zona de baja endemia, el

diagnóstico de esta fase se puede realizar aplicando en primera parte una prueba de tamizaje y después dos pruebas confirmatorias. En el presente estudio se observó que la prueba de HAI, puede ser utilizada como prueba de tamizaje, ya que no presento falsos negativos, pero si falsos positivos que fueron descartados al aplicar las pruebas de ELISA e IFI y obtener resultados negativos en estas ultimas. Las pruebas de ELISA e IFI presentan un gasto mayor en comparación con la prueba de HAI, por lo que su utilización sería solo de manera confirmatoria. Con la ejecución del diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas de esta manera se ahorra tiempo y dinero. Además se pueden incluir más localidades y encontrar con ello mayor casos de infección chagásica humana, estableciendo así una panorámica actual de esta enfermedad en nuestro estado y por consiguiente establecer la pauta para conocer las dimensiones reales en nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

Andrade Z. 1988. Aspectos de la patogenia de la enfermedad de Chagas. Revista Federación Argentina de Cardiología. 17 (2) 155 – 165.

Ángulo V.M., Tarazona Z., Vega A., Veléz I., Betancurt M.J. 1997. Enfermedad de Chagas IN: Leishmaniosis Chagas y Malaria. Guías de práctica clínica basadas en la evidencia. ASCOFAME–ISS. Seguro Social Salud. Colombia. 1ª Edición. 45, 46, 52 – 54.

Becerra I.M.A., Manrique M.A., Padrón A.G., Ortiz G.J.R. 2001. Megaesófago en la enfermedad de Chagas. Informe de un caso. Revista Hospital Juárez de México. 68 (1) 31 – 36.

Becerril F.M., Romero C.R. 2004. Parasitología médica. De las moléculas a la enfermedad. México, D.F. Mc Graw Hill. 73 – 81.

Biancardi M.A., Conca M.M., Torres N., Pepe C., Altchek J., Freilij H. 2003. Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en 17 parajes del “Monte Impenetrable” de la provincia del Chaco. Medicina (Buenos Aires). 63 125 – 129.

Camargo M.E., Segura E.L., Kagan I.G., Pacheco S.J.M., Carvalheiro J.R., Yanovsky J.F., Guimarães M.C. 1986. Normalización del diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en las Américas: evaluación de tres años de colaboración. Bulletin of the Pan American Health Organization. 20 (3) 449 – 463.

Cannova D.C., Aguilar C.M., Pacheco M., Simons M.I., Medina M. 2002. Validación del Inmuno Ensayo Enzimático (ELISA) y Hemoaglutinación Indirecta (HAI) para el Serodiagnóstico de la Enfermedad de Chagas. Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. 6 (3) 4 – 9.

Carcavallo U.R., Rabinovich J.E., Tonn J.R. 1985. Factores Biológicos y Ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo I: Epidemiología – Vectores. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Organización Panamericana de la Salud (OMS). Servicio Nacional de Chagas. Ministerio de Salud y Acción Social (República Argentina). Número especial de “Chagas”. 19 – 21.

Carcavallo U.R., Rabinovich J.E., Tonn J.R. 1985. Factores Biológicos y Ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo II: Parásitos – Reservorios – Control, Situación Regional. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Organización Panamericana

de la Salud (OMS). Servicio Nacional de Chagas. Ministerio de Salud y Acción Social (República Argentina). Número especial de "Chagas". 251, 252, 256, 257, 266, 267.

Cárdenas S.J., Mazariego A.M., Utrilla P.F., Monteón P.V., Altúzar G.M. 2003. Anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en pacientes con cardiomiopatía dilatada. Rev Med IMSS. 41 (2) 111 – 114.

Cerisola J.A., Fatala Ch.M., Lazzari J.O. 1962. "Tests" de hemaglutinación para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. La prensa medica Argentina. 49 (34) 1761 – 1767.

Cerisola J.A. 1967. Serología de la enfermedad de Chagas. Seg. Jorn. Entomoepid. Arg. (I) 167 – 172.

Chester B.P., Clifton J.R., Wayne C.E. 2003. Parasitología clínica de Craig Faust. 3ed. México D.F. Masson Doyma México (MDM). 93 – 102.

Dumonteil E. 1999. Update on Chagas' disease in Mexico. Salud pública de México. 41 (4) 322 – 327.

Fatala Ch.M. 1985. Manual de laboratorio de la enfermedad de Chagas-Mazza. Instituto Nacional de diagnóstico e investigación de la enfermedad de Chagas. Buenos Aires. Argentina. 1 – 8, 15, 31 – 39, 46.

Gobierno del Estado de Jalisco. 2000. Enciclopedia de los Municipios de México. Estado de Jalisco. Centro Nacional de Desarrollo Municipal.

Gutiérrez Q.M., López M.R., Manjares Z.M., Molina L.J. 2003. Microbiología y parasitología médicas: Tay. 3ed. México, D.F. Méndez. 516–527, 650.

Harwood R., James M. 1987. Entomología médica y veterinaria. México D.F. Limusa. 143 -- 150.

Hernández G. R., Lozano K.F., Martínez O.C., Trujillo C.F., Ruvalcaba E.S. 1988. Estudio epidemiológico de la prevalencia de la enfermedad de Chagas en el estado de Jalisco, México, 1987 (Informe preliminar). Revista de la Asociación Medica de Jalisco. 3: 28 – 33.

Jiménez C.E., de la Luz S.R., Campos G. 1995. Prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en niños asintomático de cuatro a 12 años de edad mediante la técnica de ELISA. Revista de enfermedades infecciosas en pediatría. 9 (3) 2 – 6.

Lent H., Wigodinsky P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), and their significance as vector of Chagas Disease. Bulletin of the American museum of Natural History. 3 (163) 1 – 520.

López A.F., Rangel F.H., Ramos C. 2000. Diagnosis of Chagas' Disease. Revista latinoamericana de Microbiología. Asociación Latinoamericana de Microbiología. (42) 121 – 129.

Lorenzo L.E., Capriotti G.A., Rojkin L.F. 1991. Influencia de la conservación de la muestra en tests serológicos para detección de anticuerpos anti- *T cruzi*. Rev. Arg. Transf. 9 (1) 51 – 55.

Lozano K.F., Hernández G.R.J., Trujillo C.F., Padlog S.M., Candi A.L., Magallón G.E., Soto G.M.M., Martínez S., Ramírez G.M.A. 1991. La enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana); características, diagnóstico y tratamiento; aspectos históricos, epidemiológicos, sociales, medidas de control (preguntas y respuestas). Escuela de graduados, Maestría en Ciencias de la Salud Pública, centro de docencia, investigación y diagnóstico de enfermedades tropicales. Zacoalco de Torres, Jalisco. 1 – 15.

Lozano K.F., Hernández G.R., Kasten M.M., Magallón G.E., Soto G.M., Ramírez G.M. 1997. Manifestaciones digestivas en la fase crónica de la enfermedad de Chagas. Cirugía y cirujanos. (65) 10 – 14.

Magallón G.E., Magdaleno P.N.C., Kathain D.G., Trujillo C.F., Lozano K.F., Hernández G.R. 1998. Distribución de los vectores de la enfermedad de Chagas (*Hemiptera: Reduviidae: Triatominae*), en el estado de Jalisco, México. Revista Biomédica. 9 (3) 151 – 157.

Monsalve P.Y., Mújica D.M., Silva E.R., Mírolo P.M., Álvarez C., Rodríguez B.C., Gil A., Bonfante C.R., Andrade R., Rea T. Rodríguez R. 2004. Importancia del diagnóstico de anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* en donantes voluntarios mediante metodología recomendada por la OMS comparada con la utilizada en banco de sangre “Dr. José Jesús Boada Boada” y su relación con antecedentes epidemiológicos para enfermedad de Chagas. Boletín Médico de Postgrado. 20 (2) 1 – 5.

Monteón V.M., Guzmán B.C., Florián V.J., Ramos E.A., Velasco C.O., Reyes P.A. 1995. Diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas: autosuficiencia y concordancia interlaboratorios. Salud publica de México. 37 (3) 232-235.

Monteón P.V.M., Vargas A.G., Vallejo A.M., Reyes P. 2002. Miocardiopatía dilatada específica. La cardiopatía chagásica crónica en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Archivos de Cardiología de México. 72 (1) 149 – 152.

OPS/ OMS. 1994. La enfermedad de Chagas y el sistema nervioso. Publicación científica N° 547. 3 – 25, 53 – 59.

OPS/ OMS. 1998. Tratamiento etiológico de la Enfermedad de Chagas. Conclusiones de una consulta técnica. Fundación Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Brasil. 23-25 de Abril de 1998. 17 – 20.

Palacios X., Belli A., Espino A.M. 2000. Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en Somoto, Nicaragua, mediante Elisa indirecto e IFI en muestras de sangre en papel filtro. Rev Panam Salud Pública / Pan Am J Public Health 8(6) 411 – 417.

Pinto D.J.C., Rodrigues C.J. 1997. Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral. Río de Janeiro. FIOCRUZ. pp: 33 – 40, 101 – 111.

Ramos E.A., Monteón P.V., Reyes L.P. 1993. Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre. Salud Pública de México. 35 (1) 1 – 11.

Rosa R., Basmadjén Y., González M.M., González A.M. Salvatella R. 2001. Actualización clínico – epidemiológica y terapéutica de la enfermedad de Chagas en Uruguay. Revisión. Rev Med Uruguay.(17) 125 – 132.

Rosas F., Guhl F., Velasco V., Jumbo L., Jaramillo C., Rodríguez D., Efraingil, Aguilera G., Herrera C., Pinto N., Barrios D., Cordovez J.M., Zipa J., Becerra H., Montoya R., Cepeda I., Sarmiento C., Álvarez V. 2002. Morbilidad de la enfermedad de Chagas en fase crónica en Colombia. Detección de pacientes chagásicos con cardiopatía en un área endémica del departamento de Boyacá. Cardiología del adulto-trabajos libres. 9 (5) 349 – 359.

Ruiz B., Nadal M. 1997. Prevalencia de la enfermedad de Chagas en un hospital perinatólogo. Hospital materno infantil Ramón Sardá. 16 (2) 57 – 59.

Salazar S.P.M., Tay J., Buci M.I., Haro I.de., Anzures M.E., Flores A.S. 1984. Primer caso de megaesófago con serología positiva a *Trypanosoma cruzi*. Salud Pública de México. (26) 452 – 455.

Salazar S.P.M., Barrera B.M., Bucio T.M.I. 1989. Transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión sanguínea, primer caso humano en México. Revista Mexicana de Patología Clínica. 36 (3,4) 57 – 59.

Segura E.L., Escobar M.A. 2005. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz. Salud Pública de México. 47(3) 201 – 208.

Sosa J.F., Zumaquero R.J.L., Reyes P., Cruz G.A., Guzmán B.C., Monteón V. 2004. Factores bióticos y abióticos que determinan la seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en el municipio de Palmas de Bravo, Puebla, México. Salud Pública de México. 46 (1) 39 – 48.

SSJ. 2002. Estudio de comunidad por casa de salud: Microdiagnóstico. Los Guerrero. San Martín de Hidalgo, Jalisco, México.

Tinajero.A.R. Flores A.S. 1983. Megadeformación esofágica y enfermedad de Chagas. Tribuna Médica. 1: 43 – 46.

Trujillo C.F., Lozano K.F., Soto G.M., Hernández G.R. 1993. Prevalencia de infección a *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre en el estado de Jalisco, México. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 26 (2) 89 – 93.

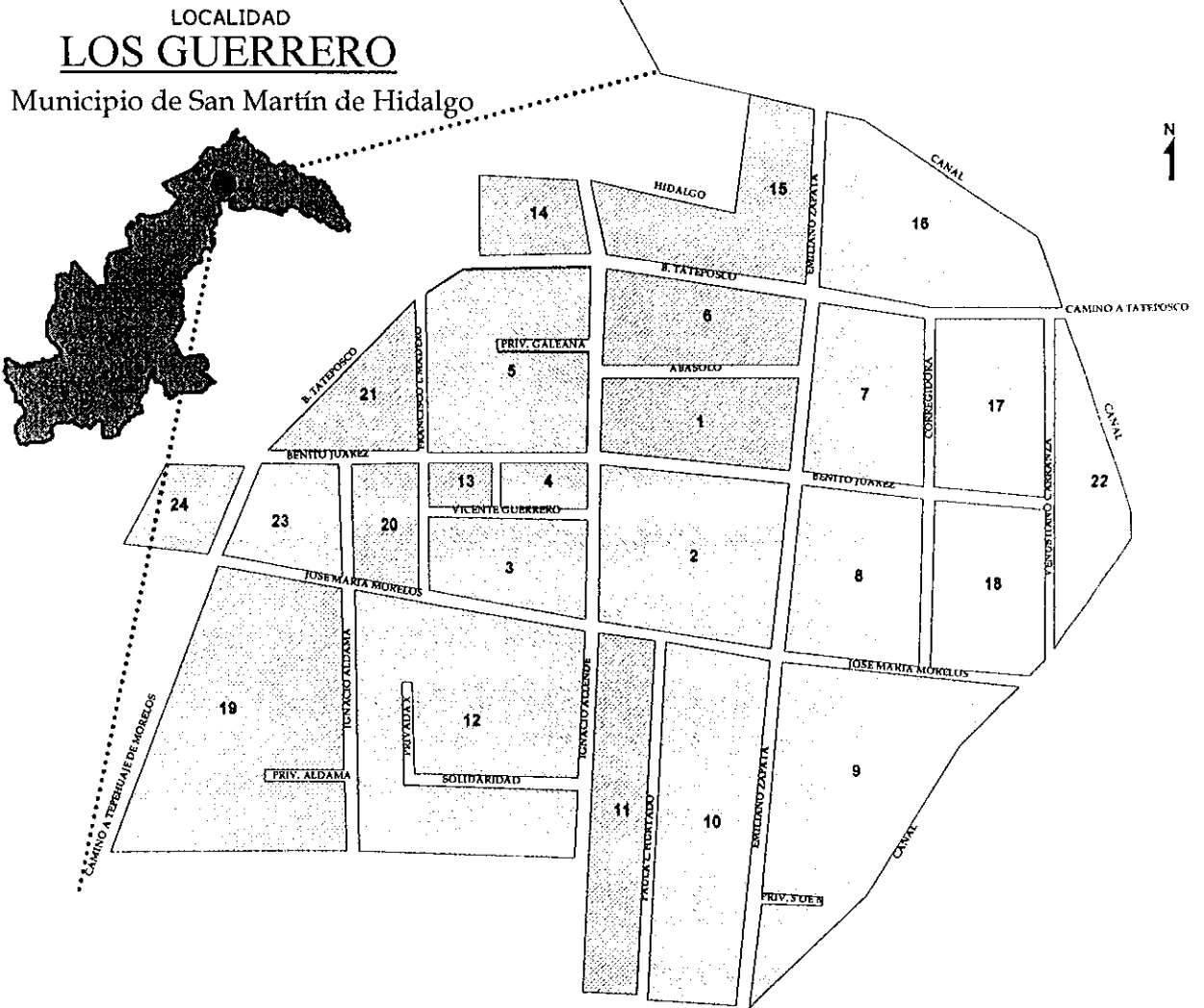
Trujillo C.F., Villanueva S.M., Soto G.M., Raygoza A.M., Jiménez C.A. 2000. Seguimiento serológico de infección por *Trypanosoma cruzi* en individuos estudiados de 50 municipios del Estado de Jalisco, México de 1987 a 1994. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 33 (6) 591 – 596

Velasco C.O., Ramírez J., Sánchez B., Trujillo F., G.B. 1989. La enfermedad de Chagas en Jalisco, México. Revista Mexicana de Parasitología. 2 (1) 29 – 32.


Velasco C.O., Valdespino J.L., Tapia C.R., Salvatierra B., Guzmán B.C., Magos C., Llausas A., Gutiérrez G., Sepúlveda J. 1992. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. Salud Pública de México. 34 (2) 186 – 196.

Zicker F., Smith P.G. Luquetti A.O. Oliveira O.S. 1990. Detección de infectados por *Trypanosoma cruzi* mediante inmunofluorescencia, ELISA, y hemaglutinación en suero y eluidos de sangre seca. Bulletin of the World Health Organization. 68 (4) 489 – 498.

ANEXO 1.- LOCALIDAD LOS GUERRERO, MUNICIPIO DE SAN MARTÍN DE HIDALGO, JALISCO



ANEXO2.- HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO	
 <p>Universidad de Guadalajara CUCS, Enfermedades transmitidas Por vectores</p>	Código _____ Fecha _____
Localidad _____	
Nombre _____	
Edad _____	Domicilio _____

<p>Con el propósito de determinar la presencia de infección por el <i>Trypanosoma cruzi</i> a través del piquete de la Chinche holicona, he sido informado(a) acerca de la necesidad de donar una muestra sanguínea, que se utilizara para la búsqueda de anticuerpos anti-<i>T. cruzi</i> por el grupo de investigación de la enfermedad de Chagas.</p>	
Firma o huella digital del paciente o tutor _____	
Sierra Mojada No. 950 Edif. M Planta baja	

ANEXO 3.- MEDIO DE CULTIVO MONOFÁSICO (LIT)

Componentes:

- NaCl
- Na₂HPO₄
- Triptosa
- Extracto de levadura
- Extracto de Hígado
- KCl
- Hemina
- Trietanolamina
- Agua destilada

Preparación: (2 litros)

1. Pesar los componentes del medio de cultivo.
 - NaCl (10.0 gr.)
 - Na₂HPO₄ (15.0 gr.)
 - Triptosa (10.0 gr.)
 - Extracto levadura (6.0 gr.)
 - Extracto hígado (6.0 gr.)
 - KCl (0.8 gr.)
2. Una vez pesado los componentes, mezclar en la mitad del volumen final.
3. Pesar Hemina (40 gr. para dos litros) y disolver en Trietanolamina al 50% (5 ml de Trietanolamina y 5 ml de H₂O).
4. Llevar al vortex por lo menos 1 hora para una correcta homogeneización.
5. Añadir a la mezcla la Hemina.
6. Añadir suero fetal bovino (SFV) según la concentración deseada (En este caso al 10%)
7. Completar la mezcla hasta el volumen final.
8. Filtrar toda la mezcla a través de varios filtros no estériles (8 μ , 1.2 μ , 0.65 μ , 0.45 μ , 0.22 μ).
9. Añadir el antibiótico (Gentamicina 80 mgr x litro).
10. Filtrar la mezcla a través de un filtro estéril (0.45 μ , 0.22 μ) dentro de la campana de flujo laminar.
11. Repartir en botellas y dejar incubar 48 horas testigos de cada botella para descartar contaminación.

GLOSARIO

Anemia:	Reducción, por debajo de lo normal, del número de eritrocitos, del contenido de hemoglobina y del hematócrito.
Blefaroplasto:	Cuerpo basal del cual surgen los cilios o flagelos.
Cinetoplasto:	Cuerpo accesorio que se encuentra en muchos protozoarios, principalmente en los mastigóforos. Contiene DNA y se replica en forma independiente.
Digenético:	Relativo o caracterizado por una alternancia de generaciones.
Disfagia:	Dificultad o imposibilidad de ingerir
Edema:	Líquido excesivo en el tejido debajo de la piel.
Especificidad:	Proporción de personas realmente sanas que son clasificadas como tales con la prueba de detección.
Fibroblasto:	Célula que produce fibras en el tejido conjuntivo.
Fisión binaria:	Tipo de reproducción asexual en la cual una célula progenitora se divide en dos células hijas iguales.
Grupo etéreo:	Grupo de individuos nacidos “simultáneamente”; donde esta simultaneidad se define en función de la longitud máxima de vida de la especie y del grado de similitud biológica de los organismos.
Hepatoesplenomegalia:	Crecimiento del hígado y bazo.
Linfadenopatía:	Enfermedad de los ganglios linfáticos.
Meningoencefalitis:	Inflamación del encéfalo y las meninges.
Mesenquima:	Tejido conjuntivo embrionario animal generalmente situado debajo de las capas epiteliales.
Miocardopatía:	Enfermedad del miocardio; cardiomiopatía.
Miocarditis:	Inflamación del miocardio.
Ninfas:	Primeros estadios, en los cuales el insecto es pequeño, sexualmente inmaduro, no puede volar y generalmente muy diferentes del adulto.
Neuroglia:	Estructura de sostén del tejido nervioso que, en el sistema nervioso central, esta formada por astrositos, oligodendrocitos y microglia.
Odinofagia:	Dolor de garganta producido al tragar, como consecuencia de una inflamación de la mucosa esofágica o de los músculos esofágicos.
Pirosis:	Ardor de estomago.
Pleomórfico:	Adquisición de diversas formas por un solo organismo o dentro de una especie.
Prevalencia:	Número total de casos en una población determinada, sin diferenciar entre casos antiguos y nuevos, en un periodo determinado.
Sensibilidad:	Proporción de personas realmente enfermas del conjunto de la población sometida a la detección sistemática que son clasificadas como enfermas mediante la prueba en cuestión.
Sistema reticuloendotelial:	Sistema de células macrófagas que se encuentran esparcidas por el cuerpo y que tienen la capacidad de englobar las partículas extrañas.