

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



EVALUACIÓN DEL RIESGO DE TRANSMISIÓN CONGÉNITA DE LA  
ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EL ESTADO DE GUANAJUATO

POR

IBQ. LAURA MAYELA MONTES RINCÓN

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN  
CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN ENTOMOLOGÍA MÉDICA.

JUNIO, 2017

**EVALUACIÓN DEL RIESGO DE TRANSMISIÓN CONGÉNITA DE  
LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EL ESTADO DE  
GUANAJUATO.**

**Comité de Tesis**



Presidente: Dra. Zinnia Judith Molina Garza



Secretario: Dr. Gustavo Ponce Garcia



Vocal: Dra. Adriana Elizabeth Flores Suarez.



Vocal: Dr. Humberto Quiroz Martinez.



Vocal: Dr. Roberto Mercado Hernandez.

EVALUACIÓN DEL RIESGO DE TRANSMISIÓN CONGÉNITA  
DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EL ESTADO DE  
GUANAJUATO.

Dirección de Tesis



---

Director: Dra. Zinnia Judith Molina Garza.

*“Yo no estudió para saber más,  
sino para ignorar menos”.*

Sor Juana Inés de la Cruz.

## DEDICATORIAS

### *A Dios:*

Por permitirme cumplir mis metas pero sobre todo, por regalarme una familia tan maravillosa.

### *A mis padres, Manuel y Norma:*

Nunca me alcanzará la vida para agradecerles el estar conmigo en todo momento, por apoyarme y creer en mí. Porque sin ustedes yo no sería quién soy, ni estaría donde ahora estoy. Papá y Mamá, ¡Gracias por todo! ¡Los amo!

*“Si después de esta vida volviera a nacer, una sola cosa le pediría a Dios. Que mis padres volvieran a ser mis padres”.*

### *A mis hermanos, Edith, Jr y Giovanna:*

Por su apoyo incondicional, por siempre estar ahí cuando los he necesitado, por la confianza que nos tenemos, ¡Mil gracias!

### *A mi familia:*

En especial a mis abuelitos, por apoyarme en todo momento y siempre demostrarme su amor y cariño. ¡Gracias por ser los mejores abuelitos del mundo!

*“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar”.* Thomas Chalmers.

## AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis y amiga, la Dra. Zinnia Judith Molina Garza por haber confiado en mí, por su apoyo, paciencia y por brindarme la oportunidad de trabajar a su lado. Gracias por ayudarme a cumplir una más de mis metas, pero sobre todo, gracias por su amistad.

Al Dr. Lucio Galaviz Silva, por haberme abierto las puertas de su laboratorio, por contribuir con sus opiniones, por tenerme paciencia y apoyarme para llevar a cabo éste proyecto, pero sobre todo, gracias por sus consejos para la escritura de los artículos.

A ustedes dos, gracias no solo por abrirme las puertas de su laboratorio, sino de su casa y de su corazón. ¡Los quiero mucho!

A los miembros del comité de tesis, Dra. Adriana, Dr. Gustavo, Dr. Mercado, Dr. Quiroz, gracias por sus consejos y correcciones durante la elaboración de este escrito.

A mi primer y mejor amiga en tierras regias, Kenzy, gracias por tu amistad, apoyo, paciencia y consejos. Gracias por ayudarme en las cuestiones moleculares, pero sobre todo, gracias por estar siempre a mi lado no solo en lo académico.

A Karen, gracias por tu confianza para trabajar conmigo en tu tesis, aunque hubo algunos regaños, espero haber contribuído de manera positiva en tu formación. ¡Te quiero mucho!

A mis amigos y compañeros, gracias a todos por formar parte de este camino.

Al CONACyT, gracias por otorgarme la beca para continuar con mi formación académica.

A todas las personas que aceptaron participar en este estudio. ¡Mil gracias!

# ÍNDICE

**AGRADECIMIENTOS**

**DEDICATORIAS**

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

**INTRODUCCIÓN** 1

**DEFINICION DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN** 3

**OBJETIVOS DEL TRABAJO** 4

Objetivo General 4

Objetivos Particulares 4

**HIPÓTESIS** 5

**ANTECEDENTES** 6

Generalidades 6

Historia de la enfermedad de Chagas 7

Morfología y Ciclo biológico 7

Caracterización de cepas 9

Etiología, Transmisión y Sintomatología 9

Transmisión congénita (Vertical) 11

Diagnóstico 13

Vectores 14

Epidemiología	15
Seroprevalencia	16
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	18
Descripción del área de estudio	18
Muestreo	20
Criterios de Inclusión	20
Criterios de Exclusión	21
Criterios de Eliminación	21
Encuesta epidemiológica	21
Muestras de sangre por punción venosa	25
Captura de triatomíneos y Determinación de infección	25
Preparación del inóculo de <i>T. cruzi</i> , Cultivo y Obtención de epimastigotes.	26
Preparación de antígeno a partir de epimastigotes y ELISA indirecta	26
Kit-Chagatest (Enzyme Chagas Interbiol)	27
Hemaglutinación indirecta	28
Hematocrito	29
Extracción de ADN y Análisis molecular	29
Análisis de datos	30
<b>DECLARACIÓN DE ÉTICA Y SEGURIDAD</b>	31
<b>RESULTADOS</b>	32
Transmisión congénita de <i>T. cruzi</i>	32



Comparación de técnicas (ELISA indirecta vs Chagatest)	36
Determinación de linaje de T. cruzi en muestras sanguíneas y triatominos	36
<b>DISCUSIÓN</b>	39
<b>CONCLUSIONES</b>	44
<b>APORTACIÓN Y PERSPECTIVAS</b>	46
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	47
<b>RESUMEN BIOGRÁFICO</b>	59

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Datos relevantes de acuerdo a estimaciones cuantitativas de la enfermedad de Chagas en las Américas	16
<b>Tabla 2.</b> Total de casos reportados en la literatura en base a encuestas serológicas, manifestaciones clínicas y reportes en bancos de sangre	17
<b>Tabla 3.</b> Lugar de nacimiento de las mujeres muestreadas en el HGRL, prevalencia de infección por <i>T. cruzi</i> y tasa de transmisión de la enfermedad de Chagas a recién nacidos	33
<b>Tabla 4.</b> Factores de riesgo asociados a las condiciones de vivienda	34
<b>Tabla 5.</b> Factores de riesgo directamente asociados a las embarazadas y su seropositividad a la enfermedad de Chagas en el estado de Guanajuato, México	35

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema del ciclo biológico de <i>T. cruzi</i>	8
<b>Figura 2. A.</b> Signo de Romãña. <b>B.</b> Rayos X de tórax – área cardíaca aumentada debido a la miopericarditis. Fase aguda de la enfermedad de Chagas	11
<b>Figura 3.</b> Mapa de la República Mexicana, se destaca la localización del estado de Guanajuato y se señalan en gris las localidades muestreadas	18
<b>Figura 4.</b> Agrupación de los 46 municipios del estado de Guanajuato en seis regiones de acuerdo a la actividad económica desarrollada	20
<b>Figura 5.</b> PCR de los cordones umbilicales de recién nacidos de mujeres seropositivas	36
<b>Figura 6.</b> Electroforesis en gel de agarosa (2%) teñido con bromuro de etidio, muestra una única banda de 350pb para todos los aislados de <i>T. cruzi</i> .	38

## RESUMEN.

La enfermedad de Chagas es causada por una infección con el protozoario hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* y es un problema de salud endémico en América Latina. La vía congénita es una de las principales vías no-vectoriales de transmisión de la enfermedad, y esta puede darse tanto en la fase crónica como en la fase aguda de la infección materna. En este estudio se realizó un tamizaje serológico de la infección por *T. cruzi* en 520 mujeres embarazadas y sus recién nacidos en el Hospital General Regional de León, Guanajuato, México, entre 2014 y 2015. Se detectaron 20 mujeres (4%) con anticuerpos Anti- *T. Cruzi* por las técnicas de ELISA y HIA, con cuatro casos de recién nacidos positivos analizados por PCR. Los factores de riesgo se calcularon a partir de los resultados de la encuesta epidemiológica aplicada, los factores más significativos ( $P < 0,050$ ) relacionados con la infección por *T. cruzi* fueron los materiales de construcción de las viviendas, la presencia de mascotas y la ubicación de las viviendas en zonas rurales. Este estudio constituye el primer estudio sistemático sobre la enfermedad de Chagas congénita y los factores de riesgo epidemiológicos en Guanajuato.

Nuestros resultados representan la probabilidad de incidencia de 770 casos por cada 100,000 nacimientos durante un período de 12 meses, con una tasa de transmisión vertical de 0.8%, lo que resalta la necesidad de establecer pruebas serológicas y PCR en mujeres embarazadas para prevenir la transmisión vertical. Sin embargo, es importante dar seguimiento a los niños nacidos de madres seropositivas al menos durante su primer año de vida, ya que muchos de ellos arrojaron resultados negativos en los análisis aplicados.

Para determinar el linaje predominante en la región, se colectaron 51 triatominos en ambientes silvestre y doméstico, se realizó su identificación por medio de claves taxonómicas y se aisló el parásito en medio LIT para posteriormente amplificar la región intergénica del gen del mini-exón tanto para las muestras de triatominos, como para las de los recién nacidos positivos a *T. cruzi*. Se identificaron cuatro especies de triatominos: *Triatoma longipennis* y *T. pallidipennis* capturados en habitat silvestre, y *T. mexicana* y *T. barberi* en domicilio y peridomicilio, resultando estas especies positivas a *T. cruzi*. De acuerdo con el análisis molecular, el linaje predominante es *T. cruzi* I tanto en triatominos como en humanos. De acuerdo con la cantidad de triatominos capturados en las localidades

muestreadas del estado, se resalta la importancia del empleo de medidas de control de vectores por medio del diseño y aplicación de un programa de vigilancia epidemiológica más eficiente contra esta parasitosis.

## ABSTRACT.

Chagas disease is caused by an infection with the protozoan hemoflagellate *Trypanosoma cruzi*, and it is a major endemic health problem in Latin America. The congenital route is one of the main non-vectorial pathways of transmission, which can arise either in the chronic or acute phase of maternal infection. Serological screening of *T. cruzi* infection was performed in 520 pregnant women and newborns at the Hospital General Regional de León, Guanajuato, Mexico, between 2014 and 2015. Anti-*T. cruzi* antibodies were detected in 20 mothers (4%) by ELISA and HIA with four PCR-positive newborn cases. Risk factors were identified according to an epidemiological survey, and the most significant ( $P < 0.050$ ) factors associated with *T. cruzi* infection were the building materials of dwellings, the presence of pets and dwellings located in rural areas. This study constitutes the first systematic study on congenital Chagas disease and the epidemiological risk factors in Guanajuato. Our results represent the probability of an incidence of 770 cases per 100,000 births during a period of 12 months, with a vertical transmission rate by 0.8%, which highlights the necessity to establish reliable serological and PCR tests in pregnant women to pre-vent vertical transmission. However, it is also important to follow-up the newborns from seropositive mothers for one year, which is necessary, as many children yielded negative results.

For to determine the predominant lineage in the region, 51 triatomines were collected in wild and domestic environments, their identification was done using taxonomic codes and the parasite was isolated in LIT medium to later amplify the intergenic region of the mini exon gene. Four species of triatomines were identified: *Triatoma longipennis* and *T. pallidipennis* captured in wild habitat, and *T. mexicana* and *T. barberi* at home and peridomiciliar area, these last species were positives to *T. cruzi*. According to molecular analysis, the predominant lineage is *T. cruzi* I in both, triatomines and humans. According to the number of triatomines captured in the sampled localities of the state, the importance to use a vector control measures is highlighted through the design and application of a more efficient epidemiological surveillance program against this parasitosis.

## INTRODUCCIÓN.

La enfermedad de Chagas, es causada por el protozoo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909), (Protozoa: Mastigophora) es endémica de los países del continente americano comprendidos entre México y el sur de Argentina (Prata, 2001). El principal mecanismo de transmisión es por medio de la participación de vectores, hemípteros (chinchas), éstos infectan a personas que fueron expuestas a su picadura, al depositar sus heces infectadas en heridas de la piel o sobre mucosas. Otras modalidades de transmisión son: por medio de transfusiones sanguíneas de personas infectadas hacia personas sanas, congénita, trasplantes de órganos u oral. Aunque es una patología endémica en algunos países de América, las migraciones de personas infectadas pueden llevarla a países no endémicos de América y el Mundo (OMS, 2011).

Esta enfermedad presenta índices elevados de mortalidad y morbilidad. Fue descubierta hace 100 años, y aún hoy en día se estima que existen entre 8 y 10 millones de pacientes en estado crónico en el mundo, de los cuales 50, 000 nuevos casos ocurren cada año (Rassi *et al.*, 2009), 25 millones de personas están en riesgo de infección en los países endémicos, con una incidencia anual de 42,500 casos (por transmisión vectorial) y 21,000 muertes cada año (Reisenman *et al.*, 2010; OMS, 2010). Además, continúa siendo la causa más frecuente de cardiomiopatía en América Latina, con un pronóstico más elevado que el de otras miocardiopatías, siendo la principal causa de muerte cardiovascular en pacientes con edades comprendidas entre los 30 y 50 años (Moncayo, 1997). Esta enfermedad está vinculada con aspectos socio-económico y culturales deficitarios, y a su vez, la Organización Mundial de la Salud (OMS) la coloca en la lista de enfermedades desatendidas (OMS, 2003).

El escrito uruguayo Eduardo Galeano dijo:

“No estalla como las bombas, ni suena como los tiros, como el hambre mata callando. Como el hambre mata a los callados: a los que viven condenados al silencio y mueren condenados al olvido. Tragedia que no suena, enfermos que no pagan, enfermedad que no vende. El mal de Chagas no es negocio que atraiga a la industria farmacéutica, ni es tema que interese a los políticos ni a los periodistas. Elige a sus víctimas en el poverrío.

Las muerde y lentamente, poquito a poco, va acabando con ellas. Sus víctimas no tienen derechos ni dinero para comprar los derechos que no tienen. Ni siquiera tienen el derecho de saber de qué mueren.”

Por otro lado, la problemática terapéutica se hace patente, ya que los agentes quimioterapéuticos disponibles desde hace décadas para su tratamiento, además del efecto discreto y restringido que presentan, solo se recomiendan en la fase temprana de la enfermedad. Estos a su vez han mostrado numerosas contraindicaciones y efectos adversos; por lo que la profilaxis a través de campañas para concientizar a la población sobre el riesgo que representa la enfermedad y el control de los vectores que la transmiten, es el método más recomendable para su prevención (Muelas *et al.*, 2002; Urbina y Docampo, 2004).

A pesar de que la enfermedad de Chagas es una zoonosis considerada un problema de salud pública en México, ya que ésta se encuentra de forma endémica en 18 estados de la República, especialmente los estados del sureste del país que principalmente cuentan con áreas rurales (Dumonteil, 1999), además de haberse reportado una alta prevalencia en la región noreste del país, no se le ha dado la verdadera importancia por parte del sector salud, al ser una enfermedad incapacitante a largo plazo y en la mayoría de los casos por ser asintomática (Guzmán-Bracho, 2001).

Actualmente en el estado de Guanajuato, se ha reportado la distribución de algunas especies de triatomos como son: *Triatoma mexicana* (Herrich-Schaeffer 1848) (Hemiptera: Reduviidae); *Triatoma barberi* (Usinger, 1939); *Meccus longipennis* (Usinger, 1939); *Meccus pallidipennis* (Stål, 1872) y *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) (López-Cardenas *et al.*, 2002), sin embargo, no se ha reportado la seroprevalencia de la enfermedad desde 1992, donde el valor obtenido fue de 0.2 (Velazco-Castrejon *et al.*, 1992), aunque en 2006 se estimó un riesgo de 0.82% para el estado (Cruz-Reyes y Pickering-Lopez, 2006). La información aquí generada ha sido útil para determinar el riesgo de transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en el estado de Guanajuato, así como los factores de riesgo asociados a las condiciones de vivienda y a la transmisión vectorial, de esta manera, se coadyuva con la Secretaría de Salud a la realización de medidas de control y prevención de la misma.



## **DEFINICION DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.**

La enfermedad de Chagas es la enfermedad parasitaria más importante en América Latina, actualmente ocupa el cuarto lugar en importancia como causa de discapacidad, después de las afecciones respiratorias, diarreas y el VIH/SIDA. Se encuentra entre las seis enfermedades prioritarias para la investigación, tratamiento y control de enfermedades tropicales según la OMS en el año 2011.

A esta enfermedad se le relaciona con el desarrollo económico y social deficitario, así como con la migración frecuente de personas y la rápida urbanización; a esto se agregan los bajos ingresos, que no permiten mejorar las condiciones de vida y vivienda de la población, lo que hace que la mayor incidencia de la enfermedad se concentre en los países “pobres”.

En base a lo anterior, es importante conocer la transmisión congénita de la enfermedad en el estado de Guanajuato, debido a que existen condiciones que favorecen la transmisión de *T. cruzi*, como son la presencia de vectores, las condiciones socioeconómicas de algunos municipios del estado, y que éste a su vez colinda con estados reconocidos como zonas endémicas de la enfermedad de Chagas.

Esta investigación brindará información necesaria para que los sistemas de salud generen planes de vigilancia más eficientes de prevención y control de la enfermedad.

## **OBJETIVO DEL TRABAJO.**

### **OBJETIVO GENERAL.**

Determinar el riesgo de transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en el estado de Guanajuato, su relación existente con las condiciones de vivienda; además de aislar e identificar el linaje de la cepa de *T. cruzi* circulante en la región.

### **OBJETIVOS PARTICULARES.**

- Detectar anticuerpos anti-*T. cruzi* en mujeres gestantes.
- Determinar infección en el recién nacido.
- Evaluar índices entomológicos.
- Aislar la cepa de *T. cruzi* con las deyecciones de los vectores capturados y mantenerla en medios de cultivo.
- Determinar mediante análisis molecular, el linaje de la cepa de *T. cruzi* del estado de Guanajuato.

## **HIPÓTESIS.**

En el estado de Guanajuato, se ha reportado la enfermedad de Chagas y al vector que la transmite; por lo tanto, también existe la transmisión congénita de la enfermedad.

## ANTECEDENTES.

### Generalidades.

La tripanosomiasis americana, también conocida como enfermedad de Chagas en honor a su descubridor, el médico Carlos Chagas. Es una parasitosis producida por *Trypanosoma cruzi*, un protozoo flagelado que se transmite de forma natural por triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae), los cuales son insectos hematófagos, conocidos comúnmente como “chinche besucona”, “chinche hocicona” o “chinche de compostela” (Prata, 2001). *T. cruzi* es un protozoo de la familia *Trypanosomatidae*, la clasificación comúnmente aceptada se detalla a continuación (Corliss, 1994):

Subreino Protozoa

Phylum *Sarcomastigophora*

Subphylum *Mastigophora*

Clase *Zoomastigophorea*

Orden *Kinetoplastida*

Familia *Trypanosomatidae*

Género *Trypanosoma*

Subgénero *Schizotrypanum*

Sección *Stercoraria*

Especie *T. cruzi*

El género *Trypanosoma* está constituido por cerca de 20 especies de las que dos son patógenas para el ser humano, entre las que destacan:

-*T. cruzi*: agente etiológico de la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana.

-*T. brucei* (*T. b. gambiense* y *T. b. rhodesiense*): agente etiológico de la enfermedad del sueño o tripanosomiasis africana.

Cada una de estas dos especies está delimitada a un continente diferente, sin que exista solapamiento entre sus áreas endémicas, sin embargo, otra especie capaz de infectar al ser humano, pero no patógena para el mismo es *T. rangeli*. Además de que existen otras especies que pueden producir enfermedades graves y económicamente importantes en mamíferos domésticos (Kirchhoff, 2006).

### **Historia de la enfermedad de Chagas.**

En 1909 el médico Carlos Chagas, durante la realización de una campaña profiláctica contra la malaria en Minas Gerais, Brasil, descubrió el parásito *T. cruzi* dentro de vectores conocidos como “barbeiros” (chinchas hematófagas que colonizaban las viviendas y se alimentaban de animales y humanos mientras dormían), los vectores que fueron capturados, se identificaron como *Panstrongylus megistus*; y al vector se le denominó *Schizotrypanum*, esta fue la primera vez que se descubre al parásito y al transmisor antes que a la enfermedad (Haro, 2003).

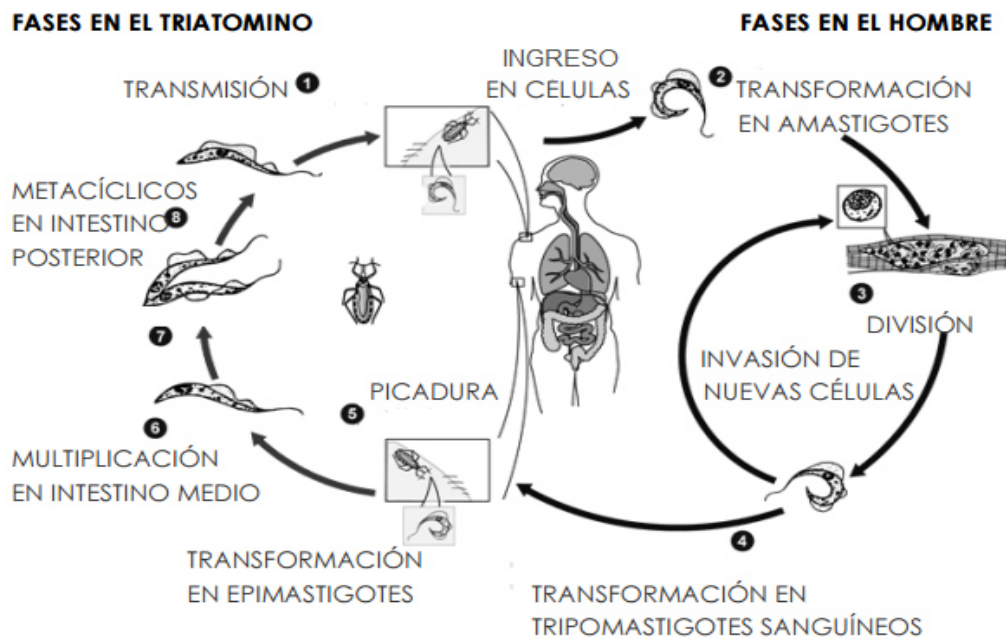
Así mismo, Chagas estudió a una niña de dos años, llamada Berenice Soarez de Moura, de quien se sospechó paludismo. En esta niña se observaron tripanosomas móviles en sangre periférica, primer hallazgo del parásito en un humano en América; estos parásitos al ser teñidos con los colorantes de Romanowski resultaron ser tripomastigotes de *T. cruzi*. Previamente, en esa misma vivienda, Chagas había observado el mismo parásito en un gato; es así como se describe el ciclo descriptivo que incluye, parásito, vector de la enfermedad y reservorios (Paredes y Paredes, 1996; Pinto y Rodríguez, 2008).

### **Morfología y Ciclo biológico.**

*T. cruzi* es un pequeño parásito unicelular que, a nivel sanguíneo, tiene una forma alargada y terminada en punta, mide 20 µm aproximadamente, esta forma está provista de un flagelo y una membrana ondulante, estructuras que facilitan su desplazamiento dentro del fluido sanguíneo; posee un núcleo y una mitocondria, en cuyo extremo

posterior aparece un orgánulo llamado kinetoplasto, este contiene alrededor del 30% del material nuclear de la célula y es de gran importancia taxonómica (Simpson, 1972).

Este parásito presenta un ciclo heteroxeno que requiere la presencia de un hospedador intermediario (hemípteros hematófagos) y pasa por tres fases morfológicas: epimastigote, amastigote y tripomastigote (Brenner, 1973). *T. cruzi* penetra en el hospedador definitivo (mamíferos domésticos y selváticos, incluido el hombre) a través de las heces de vectores contaminadas con la forma “tripomastigote metacíclico”. En el nuevo hospedador, las formas metacíclicas pueden invadir las células inmediatamente o ser diseminados por medio de la circulación linfática hasta otros órganos y ahí transformarse en “amastigotes”, con forma redondeada y un flagelo externo muy corto o inexistente. Los amastigotes se multiplican intercelularmente, y se transforman en “tripomastigotes”, que ocasionan la lisis de la célula, permitiendo su salida hacia el torrente sanguíneo. Los tripomastigotes presentes en sangre circulante presentan un flagelo libre, kinetoplasto (terminal o subterminal) y un gran núcleo redondeado en posición central. Estas formas pueden infectar a otras células cercanas, pero carecen de capacidad multiplicativa, ya que la única forma replicativa en el vertebrado es la forma de amastigote intracelular (Fig 1) (Martins *et al.*, 2012).



**Figura 1.** Esquema del ciclo biológico de *T. cruzi* (CDC, 2017).

## **Caracterización de cepas.**

La identificación, caracterización y diferenciación actual de *T. cruzi*, se enfoca en criterios moleculares, debido a su alta diversidad genética. Los aislados de *T. cruzi* muestran distintas características biológicas, relacionadas con las diferentes presentaciones clínicas de la enfermedad de Chagas; estos aislados han sido divididos en dos grupos genéticos nombrados por consenso internacional *T. cruzi* I (linaje 2- asociado al ciclo enzoótico) y *T. cruzi* II (linaje 1- asociado al ciclo doméstico) (Brenière *et al.*, 1995). El *T. cruzi* II se divide a su vez en 5 sub-grupos (IIa-IIe) (Brenière *et al.*, 1998). Estos grupos se han clasificado de acuerdo a las distintas características de la cepa, incluyendo zimodemas (Romanha *et al.*, 1979; Miles *et al.*, 1981), esquizodemas (Morel *et al.*, 1980), biodemas (Andrade y Magalhães, 1997), clones (Tibayrenc y Ayala, 1991), linajes (Souto *et al.*, 1996), clados (Kawashita *et al.*, 2001), unidades discretas de tipificación (DTUs) (Tibayrenc, 1998) y haplotipos (Freitas *et al.*, 2006; Herrera *et al.*, 2007).

Datos biológicos y epidemiológicos, han demostrado una fuerte asociación entre el *T. cruzi* II y las manifestaciones clínicas en humanos, mientras que el *T. cruzi* I ha sido detectado preferentemente en el ciclo selvático (Zingales, 1998).

Para México, los datos arrojados en una investigación que involucró 56 poblaciones, entre ellas el estado de Guanajuato, se encontró que el 3.6% del total de muestras analizadas pertenecían al linaje de *T. cruzi* II, mientras que el resto pertenecían a *T. cruzi* I (Bosseno *et al.*, 2002).

## **Etiología, Transmisión y Sintomatología.**

La enfermedad de Chagas (ECH), es causada por el protozooario hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Mastigophora) (Chagas, 1909). El principal mecanismo de transmisión en países endémicos es vectorial, donde participan hemípteros conocidos como “chinches besuconas” o “chinche hocicona” (Basile *et al.*, 2011). El segundo mecanismo en importancia lo ocupan la transmisión por transfusión sanguínea y la transmisión congénita, esta última con una ocurrencia de 1-10% en los nacimientos,

destacándose estas dos últimas vías de infección como los más importantes para la transmisión de la ECH en países no endémicos (Prata, 2001). Se estima que existen entre 8 y 10 millones de pacientes en estado crónico en el mundo, de los cuales 50.000 nuevos casos ocurren cada año (Rassi *et al.*, 2009), con 25 millones de personas en riesgo de contraer la infección en países endémicos, con una incidencia de 42.500 casos (por transmisión vectorial) y 21.000 muertes anuales (Reisenman *et al.*, 2010; OMS, 2010). La ECH es considerada la tercera infección parasitaria más común en todo el mundo, siendo la más importante en América Latina y una enfermedad emergente en Estados Unidos de América (EUA), Canadá y países europeos (España, Holanda, Suiza), Australia y Japón (Frank *et al.*, 1997; Barona *et al.*, 2012).

El ciclo de vida de *T. cruzi* incluye la transmisión al huésped mamífero cuando la chinche se alimenta y excreta heces infectadas, lo que permite que el parásito penetre a través de heridas o mucosas (Valdespino, 1994). La transmisión vectorial es la forma principal de infección entre los animales y es la más común en el humano. Las chinches habitan en huecos y rendijas dentro de las viviendas humanas, pero la infección también se puede adquirir mediante transfusión sanguínea o trasplante de órganos de personas infectadas, por vía congénita y, más raramente, por la ingestión de alimentos contaminados e infección accidental en el laboratorio (Padilla *et al.*, 2003; Schmunis, 1999; Torrico *et al.*, 2004; Alarcón *et al.*, 2010).

En la historia natural de esta enfermedad, clínicamente se presentan la fase aguda, la crónica asintomática (indeterminada) y la crónica sintomática (Prata, 2001). La fase aguda usualmente dura de cuatro a ocho semanas y ocasionalmente hasta cuatro meses y la fase crónica persiste durante toda la vida del huésped (Rassi *et al.*, 2010).

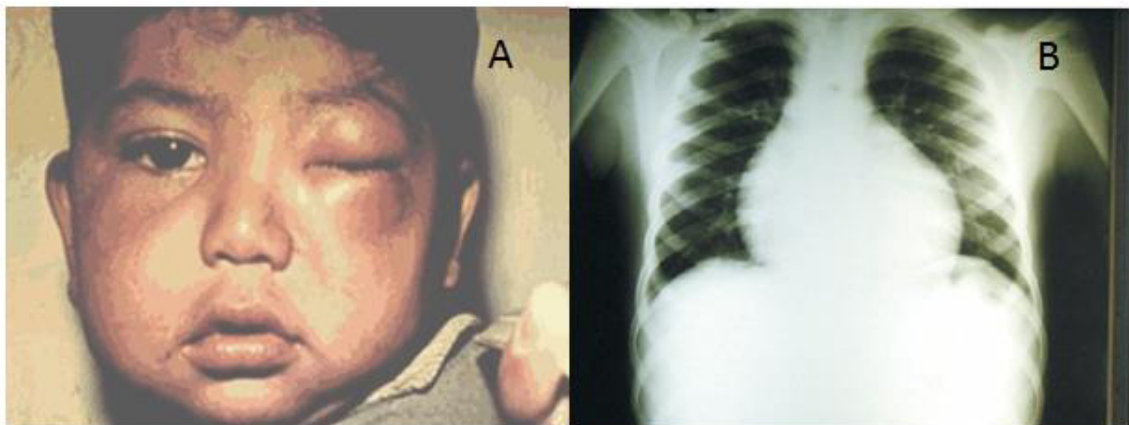
Cuando la vía de entrada es en la región ocular, se presenta el signo de Romaña (Fig. 2-A) en alrededor del 50% de los casos, que consiste en edema bpalpebral unilateral, poco doloroso, de aspecto violáceo, con prurito discreto, y se acompaña de adenopatías preauriculares, submaxilares y occipitales.

Cuando la vía de entrada es en otra región del cuerpo, se denomina chagoma de inoculación (25%) y se presenta como un nódulo subcutáneo, violáceo con microadenitis regional (Chiarpenello, 2004). Las manifestaciones sistémicas son fiebre



sin características especiales, astenia, mialgias, artralgias, hepato y/o esplenomegalia; ocasionalmente, en áreas endémicas, este cuadro se presenta con manifestaciones respiratorias o digestivas. Menos de un 1% se complica con meningoencefalitis, miocarditis o pericarditis; especialmente en niños y ancianos con desenlace fatal. La fase crónica asintomática, también conocida como indeterminada, dura entre 10 y 20 años, se diagnostica principalmente por métodos serológicos y es clínicamente silenciosa con parasitemia muy baja, por lo que los métodos parasitológicos son poco sensibles (Morales, 1996).

En la fase crónica sintomática, el órgano más afectado es el corazón; se presenta miocarditis, con manifestaciones de insuficiencia cardíaca congestiva y cardiomegalia (Fig. 2-B). Se puede producir enfermedad en cualquier víscera hueca, principalmente en el aparato digestivo (megaesófago y megacolon) (Morales, 1996).



**Figura 2.** A. Signo de Romaña. B. Rayos X de tórax – área cardíaca aumentada debido a la miopericarditis. Fase aguda de la enfermedad de Chagas. (Neves – Pinto, 2010).

### **Transmisión congénita (Vertical).**

La incidencia reportada de la transmisión vertical en humanos es relativamente baja, aunque existe una creciente evidencia de que la misma ha adquirido gran relevancia en la actualidad, debido al fenómeno de urbanización, dado por las constantes migraciones poblacionales desde áreas endémicas. La mayoría de las gestantes chagásicas cursan el embarazo durante la etapa indeterminada o crónica de la infección con escasas o nulas

manifestaciones clínicas (Moya *et al.*, 1979; Moya y Moretti, 1997); también se han descrito casos con enfermedad aguda, aunque esta no es siempre sinónimo de infección fetal (Rassi *et al.*, 1958; Moretti *et al.*, 2003). A pesar de las controversias iniciales sobre el efecto de la infección chagásica sobre el periodo de gestación (Bittencourt, 1972), estudios realizados por Moya en 1979, demostraron que gestantes con serología positiva para la enfermedad presentaron igual incidencia de abortos que la población general. En 2002, Tromboto realizó un estudio en un total de 84.000 mujeres embarazadas, en las cuales no encontró evidencia alguna de que la enfermedad chagásica materna produzca anomalías en el desarrollo fetal.

El *T. cruzi* puede infectar al feto afectando o no a la placenta (Moya *et al.*, 1979, 1985), por otra parte, puede infectar a la placenta sin producir compromiso fetal (Rassi *et al.*, 1958; Moretti *et al.*, 2003) y a su vez, puede no afectar a la placenta ni al feto. El grado de lesión varía, desde escasos infiltrados inflamatorios linfoplasmocitarios, con o sin presencia de amastigotes, hasta cuadros severos de destrucción tisular en decidua, placa amniocorial, vellosidades coriales o cordón umbilical (Moya *et al.*, 1979). Una vez que se ha producido la infección, el feto puede sufrir alteraciones en su viabilidad y crecimiento; así se han descrito abortos, muertes fetales (Bittencourt *et al.*, 1972), prematuridad (Saleme *et al.*, 1971) y desnutrición fetal (Howard, 1962.). Por el contrario, otros estudios han demostrado que la mayoría de los niños nacen a término, y no presentan alteraciones del crecimiento intrauterino (Moya *et al.*, 1979; Moya y Moretti, 1997).

Existe un porcentaje muy elevado de niños nacidos con infección congénita (60 a 90 %), los cuales no presentan sintomatología al nacer ni en los meses subsiguientes, esto ocurre en todos los países de zonas endémicas salvo en Bolivia, donde se ha reportado un 50% de niños sintomáticos (Carlier y Torrico, 2003). Los signos clínicos más frecuentes encontrados en nuestra serie de pacientes sintomáticos fueron: hepatomegalia, esplenomegalia, hepatoesplenomegalia, meningoencefalitis, insuficiencia cardíaca y anemia (Moya, 1977; Moya y Moretti, 1997).

La presencia de miocarditis, indica la existencia de un severo cuadro neonatal que requiere tratamiento con cardiotónicos y diuréticos, además del tratamiento etiológico.

La frecuencia de trastornos neurológicos no ha sido establecida con certeza. Algunos autores refieren que el 50% de casos neonatales presentan alteraciones del SNC (Howard, 1962; Moya, 1994).

En países como Argentina, Brasil, Paraguay y Chile, la mortalidad referida a la infección congénita es baja y alcanza cifras que no exceden el 2% (Moya y Moretti, 1997). En Bolivia en cambio se han registrado tasas que oscilan entre el 2 y el 12%. (Calier y Torrico *et al.*, 2003). Es necesario tener en cuenta que, la Enfermedad de Chagas congénita está asociada a prematurez, dificultad respiratoria o sepsis y es difícil distinguir si la muerte es producida por la infección chagásica o por las complicaciones de la prematurez (Moya, 1994).

### **Diagnóstico**

El diagnóstico se realiza con métodos parasitológicos indicados en la fase aguda, y métodos serológicos y de gabinete para la fase crónica. Los exámenes parasitológicos son examen directo, gota gruesa y frotis sanguíneo, que se utilizan para observar formas sanguíneas; también son útiles métodos de concentración como el Strout y microhematocrito en recién nacidos. Otros métodos cuyo fin es incrementar el número de parásitos son el xenodiagnóstico, el hemocultivo y la inoculación en animales. Los exámenes serológicos recomendados por la OMS son ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y hemaglutinación indirecta (HAI). Para el estudio cardiológico, se recomiendan electrocardiograma (ECG), radiografías del tórax y ecocardiograma (Salazar-Schettino, 2003).

La transmisión congénita es un fenómeno creciente en zonas de bajo control vectorial, lo que ha determinado la aplicación de estrategias de seguimiento de binomios madre – hijo, de mujeres embarazadas seropositivas y hasta de niños menores de 2 años (Guzmán-Bracho *et al.*, 1998; Velasco-Castrejón *et al.*, 1992).

## Vectores.

México es un país que está dividido en dos grandes regiones bióticas con características muy contrastantes: la región Neártica (templada) y la región Neotropical, posee una gran biodiversidad, donde conviven gran cantidad de especies de artrópodos. La interacción humano – artrópodo se ha dado en la historia de la humanidad desde hace millones de años (Hartwood y James, 1979).

Schofield 1996 menciona 123 especies de triatóminos en el mundo, de las cuales 30 especies han sido reportadas para México (Zarate y Zarate, 1985; Alexandre *et al.*, 1999). De ellas, 25 pertenecen al género *Triatoma*, que es el mejor representado y de mayor interés, ya que en él se incluyen la mayoría de las especies que se han encontrado infectadas naturalmente por *T. cruzi*; además de que un gran número presenta algún grado de asociación con la vivienda humana (Zarate y Zarate, 1985).

A nivel mundial, más de 60 especies de triatóminos se han reportado con infección natural o experimental con *T. cruzi*; además, debido a que el grupo muestra comportamiento y fisiología similares, todas las especies se deben considerar como vectores potenciales (Schofield, 1994; Lent y Wygodzinsky, 1979). México presenta el mayor número de especies de triatóminos, además de que varias de éstas especies presentan hábitos intradomiciliados, con diferentes comportamientos biológicos, lo que dificulta aún más las estrategias para el control (Salazar-Schettino, 2003). Las especies se encuentran distribuidas a lo largo de todo el país; de estos, dos géneros son los más importantes, *Triatoma* y *Meccus*. De las 30 especies registradas en el país, 19 de éstas se han encontrado infectadas con el parásito *T. cruzi*, aunque cada especie tiene características particulares respecto a su comportamiento biológico y capacidad vectorial, lo cual determina su importancia en la cadena de transmisión del agente al humano (Cruz-Reyes y Pickering-Lopez, 2006; Velasco-Castrejón *et al.*, 1992).

Los vectores se han clasificado en intradomiciliarios, peridomiciliarios y silvestres. Entre los intradomiciliarios se encuentran, *Triatoma barberi* y *T. dimidiata*, que son los que representan un mayor riesgo para la salud pública en México (Brenière *et al.*, 2007; Dumonteil *et al.*, 2002). Aunque *Triatoma dimidiata* se encuentra principalmente dentro de la vivienda, en Yucatán tiene un comportamiento peridomiciliar, a su vez, dentro de

este grupo se encuentran la mayoría de los transmisores de la enfermedad de Chagas como son: *M. longipennis*, *T. mazzottii* (Usinger, 1941), *M. pallidipennis*, *M. phyllosomus* (Burmeister, 1835), *T. picturatus* (Usinger, 1939), *Triatoma gerstaeckeri* (Stål, 1859), *T. mexicana*, *T. rubida* (Uhler, 1894), *Dipetalogaster maxima* (Uhler, 1894), *Panstrongylus rufotuberculatus* (Champion, 1899) y *Rhodnius prolixus* Stål, 1859. Los transmisores peridomiciliarios son de menor riesgo en la dinámica de transmisión comparados con los intradomiciliarios (Dumonteil *et al.*, 2002).

En un estudio realizado en el año 2000, se encontraron nueve especies con infección natural; el mayor porcentaje de infección correspondió a *M. pallidipennis*, *T. picturata*, *Rhodnius prolixus* y *M. longipennis*. Los estados con mayor porcentaje de infección fueron Nayarit, Morelos y Michoacán; para los cuales se presentaron nuevos registros estatales de *T. dimidiata*, *T. gerstaeckeri*, *M. longipennis*, *T. mexicana* y *M. pallidipennis*, además de uno local de *Panstrongylus rufotuberculatus*, además de que se informó por primera vez la infección natural en algunas de ellas (Vidal-Acosta *et al.*, 2000).

Para el estado de Guanajuato se ha reportado la presencia de *Triatoma mexicana*, *T. barberi*, *M. longipennis*, *M. pallidipennis* y *T. dimidiata* (López-Cardenas *et al.*, 2002; Salazar-Schettino *et al.*, 2007).

### **Epidemiología.**

Se considera un problema de salud pública en 17 países latinoamericanos, entre ellos México, como lo señalan datos arrojados por la Organización Panamericana de la Salud en 2005 (Tabla 1). En países latinoamericanos la enfermedad es endémica, con más de 16 – 18 millones de infectados y con una población en riesgo estimada en 100 millones (Schofield y Dias, 1996; Padilla *et al.*, 1999). Debido a su impacto económico, a partir de 1993, el Banco Mundial la considera como la enfermedad parasitaria más grave en América (Schofield & Dias, 1996). La importancia de la enfermedad radica en su elevada prevalencia, su incurabilidad, las grandes pérdidas económicas por incapacidad laboral, y la muerte repentina de personas aparentemente sanas.

**Tabla 1.** Datos relevantes de acuerdo a estimaciones cuantitativas de la enfermedad de Chagas en las Américas. Fuente: OPS/HDM/CD/425-06. Dic 2006. Montevideo, Uruguay. 28 pp. México

Datos	Año 2005
Población	107, 029, 000
Número de infectados	1, 100, 000
Nuevos casos anuales de transmisión vectorial	7, 700
Casos anuales de Chagas congénito	1, 100
Mujeres (+) 15 y 44 años	243, 000
Tasa de prevalencia (x 100 hbts)	1.028
Tasa de incidencia (x 100 hbts)	0.007
Incidencia de Chagas congénito (x 100 nacimientos)	0.051
Población expuesta en zonas endémicas	29, 500, 000
Miocardiópatías	99, 143
Prevalencia en bancos de sangre	0.60

A partir de 1993 la Organización Mundial de la Salud (OMS) la consideró como la enfermedad parasitaria más grave en América y es parte de la lista de las 14 enfermedades “descuidadas o desatendidas” según la OMS. Recientemente esta organización reconoce a la enfermedad de Chagas como un problema de salud global dados los movimientos migratorios (OMS, 2010). Países no endémicos como España ya han comenzado a implementar mecanismos de detección de la misma en donadores inmigrantes, ya que cada año recibe más inmigrantes latinoamericanos (OMS, 2003).

### **Seroprevalencia.**

En la década de 1980, con protocolos estandarizados se estimó la prevalencia de la infección en 21 países endémicos, la cual fue de 18 millones de casos y 100 millones de individuos en riesgo de infección. En 1993, el Banco Mundial estableció que la enfermedad de Chagas ocupaba el primer lugar entre las enfermedades tropicales y el

cuarto entre las transmisibles; por otro lado, representa de manera importante un problema que afecta económicamente a los países endémicos con un impacto de 6,500 millones de dólares por año (Morales, 1996).

En 1996, la OPS estimó una incidencia anual en México de 44,000 casos nuevos con una prevalencia de 1, 610, 000 personas infectadas (Franco–Paredes *et al.*, 2007). Velasco *et al.* (1992) publicaron los resultados de la Encuesta Nacional de Seroepidemiología (ENSP), donde se determina seropositividad entre 3-4 millones de individuos infectados en todo el país; la prevalencia más baja fue en el estado de Jalisco, con 0.1%, y la más alta en Chiapas, con 5%. En estudios realizados en municipios como Oaxaca, se han reportado prevalencias de 1 hasta 37% (Goldsmith *et al.*, 1971; Ruegsegger *et al.*, 1993). La Tabla 2 presenta los datos de prevalencia de la enfermedad de Chagas para los estados que conforman la República Mexicana.

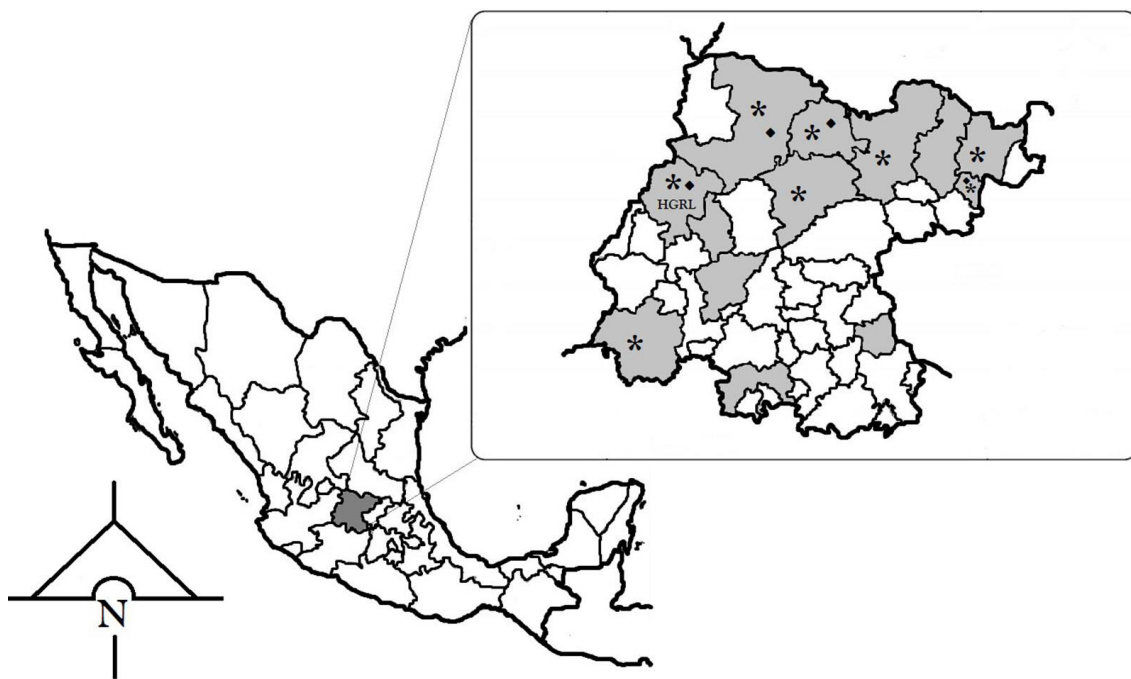
**Tabla 2.** Total de casos reportados en la literatura en base a encuestas serológicas, manifestaciones clínicas y reportes en bancos de sangre (Cruz-Reyes y Pickering-López, 2006).

Estado	Muestra	Casos	Prevalencia (%)	Estado	Muestra	Casos	Prevalencia (%)
<b>Aguascalientes</b>	1527	28	1.83	<b>Morelos</b>	8787	1005	11.44
<b>Baja California N.</b>				<b>Nayarit</b>	1994	243	12.19
<b>Baja California S</b>				<b>Nuevo León</b>	4178	81	1.94
<b>Campeche</b>	1536	24	1.56	<b>Oaxaca</b>	12.624	2234	17.7
<b>Chiapas</b>	7912	1009	12.75	<b>Puebla</b>	12.97	460	3.55
<b>Chihuahua</b>	3351	15	0.45	<b>Queretaro</b>	2412	458	18.99
<b>Coahuila</b>	1976	12	0.61	<b>Q. Roo</b>	1575	38	2.41
<b>Colima</b>	1917	22	1.15	<b>Sn Luis Potosí</b>	2161	56	2.59
<b>DF</b>	26213	983	3.75	<b>Sinaloa</b>	2865	160	5.58
<b>Durango</b>	2065	45	2.18	<b>Sonora</b>	2280	37	1.62
<b>Edo de México</b>	2856	18	0.63	<b>Tabasco</b>	5315	200	3.76
<b>Guanajuato</b>	3168	26	0.82	<b>Tamaulipas</b>	2022	34	1.68
<b>Guerrero</b>	9621	1090	11.33	<b>Tlaxcala</b>	1428	19	1.33
<b>Hidalgo</b>	3591	222	6.18	<b>Veracruz</b>	33.679	1932	5.74
<b>Jalisco</b>	26.732	3236	12.11	<b>Yucatan</b>	6687	212	3.17
<b>Michoacán</b>	2265	50	2.21	<b>Zacatecas</b>	2598	146	5.62

## MATERIALES Y MÉTODOS.

### Descripción del área de estudio.

El estado de Guanajuato se localiza en la mesa central y al sur de la Altiplanicie Mexicana; su extensión territorial es de 30,628.17 km<sup>2</sup> (1.6% del territorio nacional) (Anónimo, 1980; Angulo, 1985), limitando al norte con el estado de San Luis Potosí, al sur con Michoacán, al este con Querétaro y al oeste con Jalisco (Fig.3). Su territorio forma parte de las provincias fisiográficas Sierra Madre Oriental, Eje Volcánico Transversal y Altiplanicie Mexicana. Buena porción de la mitad meridional del estado ubicada entre 1700 y 2300 m de altitud, corresponde a la región que se conoce como Bajío, con terrenos más o menos planos o pendientes suaves, donde son muy comunes las prácticas agrícolas. En el resto del estado existen también macizos montañosos aislados hasta de poco más de 3000 m y algunas planicies, siendo más accidentada la zona del noreste que incluye pequeñas superficies ubicadas a menos de 1000 m sobre el nivel del mar. La Sierra de Guanajuato y la Sierra Gorda en esta última región, son las que forman las zonas montañosas más importantes.



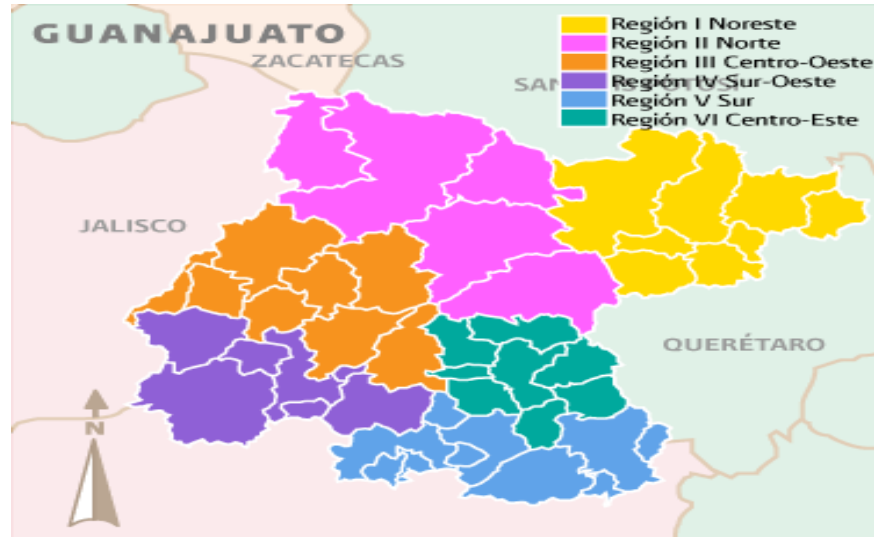
**Figura 3.** Mapa de la República Mexicana, se destaca la localización del estado de Guanajuato y se señalan en gris las localidades muestreadas.



Las temperaturas medias anuales en general fluctúan entre 12 y 20°C, excepto en las cimas montañosas donde disminuyen y en las zonas más bajas donde se incrementan un poco. La precipitación total anual varía de 300 a más de 1000 mm, sin embargo, los valores entre 450 y 700 mm son los más comunes. Actualmente se ubica como la sexta entidad más poblada a nivel nacional, la vigésimo segunda por su extensión territorial y la séptima economía nacional, tanto por su tamaño como por su velocidad de crecimiento.

El Estado de Guanajuato tiene 46 municipios, que por su situación geográfica, socioeconómica y vocación productiva se agrupan en 6 regiones (Fig. 4) (INEGI, 2011):

- La región I Noreste, conocida como la Sierra Gorda, es la región más lejana de la capital, tiene un clima semidesértico y sus tierras son en su mayoría áridas.
- La región II Norte, se caracteriza por su gran número de comunidades rurales y su importancia turística y artesanal.
- La región III Centro–Oeste, presenta el mayor polo de desarrollo industrial y comercial, acoge a la capital del estado y muestra la mayor concentración de población debido a la influencia del municipio de León.
- La región IV Sur–Oeste, destaca el sector agropecuario y especialmente la porcicultura.
- La región V Sur, es una región comercial (artesanal) y agropecuaria, la cual tiene al Lago de Yuriria como cuenca lacustre y potencial centro de desarrollo turístico.
- La región VI Centro–Este, se encuentran los municipios de Celaya y Apaseo el Grande, principales polos de desarrollo industrial y comercial de la región.



**Figura 4.** Agrupación de los 46 municipios del estado de Guanajuato en seis regiones de acuerdo a la actividad económica desarrollada (INEGI, 2011).

### **Muestreo.**

Se muestrearon un total de 520 pacientes (mujeres en estado de gestación), procedentes de zonas tanto urbanas como rurales que acudan al Hospital Regional General de León para su atención médica. Esta muestra fue superior a la calculada tomando en cuenta la prevalencia de 0.82% (Cruz-Reyes y Pickering-López, 2006). Para el cálculo de la muestra se consideró un 5% de error y un nivel de confianza del 97.5%, utilizándose la siguiente fórmula (Walpole *et al.*, 2011):

$$n = \frac{Z^2 pq}{E^2}$$

Donde: Z = precisión absoluta; p = prevalencia reportada; q = (1-p); E = Error de Estimación.

### **Criterios de Inclusión.**

- Mujeres embarazadas aparentemente sanas, cuya edad oscile entre los 18 y los 50 años de edad.

- Menores de edad con el permiso de su padre o tutor.
- Mujeres originarias del estado de Guanajuato o que residan en el estado con una antigüedad mínima de 5 años.
- Pacientes que acepten participar en el proyecto y firmen el consentimiento informado.
- Mujeres que habiten en alguno de los municipios del estado de Guanajuato.
- Edad gestacional: entre el 6to y 9no mes.

#### **Criterios de Exclusión.**

- Mujeres que se nieguen a participar en el estudio.
- Mujeres que no cuenten con la mayoría de edad y no tengan el consentimiento de su padre o tutor.
- Pacientes que no permitan continuar con el estudio.

#### **Criterios de Eliminación.**

- Pacientes que no cumplan con los criterios de inclusión.
- Pacientes que no estén dispuestos a cooperar con las visitas de seguimiento al menor (en caso de resultar positivo).

#### **Encuesta Epidemiológica.**

Una vez que se les explicó en que consistía el estudio y la relevancia del mismo, se procedió a la firma del consentimiento, y se les aplicó una encuesta epidemiológica con la finalidad de determinar los factores de riesgo de transmisión vectorial, tomando como base la calidad de la vivienda y la presencia o avistamiento de triatomíneos vectores reportados por las pacientes.

A continuación se muestran los formatos del consentimiento informado y encuesta, aplicadas para la realización del estudio aquí presentado.



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L. CP 66451.  
TEL Y FAX 83-52-44-25.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN  
MÉDICA**

**Evaluación del riesgo de transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en el estado de  
Guanajuato.**

Este proyecto será llevado a cabo por la IBQ. Laura Mayela Montes Rincón, en el laboratorio de Patología Molecular y Experimental de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

**JUSTIFICACIÓN:** Es importante conocer la transmisión madre-hijo de la enfermedad, ya que en el estado existen condiciones que favorecen la transmisión del parásito, como son la presencia de chinches, las condiciones socioeconómicas de algunos municipios y éste a su vez, colinda con estados reconocidos como zonas de transmisión de la enfermedad de Chagas.

Esta investigación brindará información necesaria para que los sistemas de salud generen planes de vigilancia y control de la enfermedad.

**OBJETIVO DEL ESTUDIO:** A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivos, determinar el riesgo de transmisión madre-hijo de la enfermedad de Chagas en el estado de Guanajuato y su relación con las condiciones de vivienda.

**BENEFICIOS DEL ESTUDIO:** Con este estudio conocerá de manera clara si usted es portadora de la enfermedad de Chagas y el riesgo que existe de transmitirla a sus futuros hijos, ya que en caso de que el bebé resulte ser positivo, se le brindará la atención médica correspondiente por parte del Hospital General de León.

**PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO:** En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas personales, las condiciones de su vivienda y algunos antecedentes médicos.

**RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO:** Las fases de las que consta este estudio son responder una pequeña encuesta. Posteriormente una toma de sangre, que no tendrá ningún riesgo para usted o para su bebé, y finalmente nosotros nos encargaremos de analizar su muestra.

## ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar participar.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.
- La información obtenida en este estudio será utilizada para la identificación de cada paciente y será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, por favor, firme la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

## CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Estoy en completo acuerdo de participar en este estudio de investigación.

_____	_____
Firma del participante	Fecha
Testigo 1 _____	Fecha _____
Testigo 2 _____	Fecha _____

Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):

He explicado a la Sra. \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

_____	_____
Firma del investigador	Fecha



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L. CP 66451.**  
**TEL Y FAX 83-52-44-25.**  
**FICHA ENTOMOLOGICA**

N° Folio	Fecha:
----------	--------

**Datos Generales**

Nombre			
Edad		Ocupación	
Domicilio	Calle	N°	Col. Municipio
Originario de	Municipio	Estado	

**ENCUESTA DOMICILIARIA**

<b>Piso</b>	Tierra	Cemento	Mosaico	Mixto	Otro
<b>Pared</b>	Adobe	Lámina	Enjarrado	Madera	Otro
<b>Techo</b>	Cartón	Lámina	Concreto	Cartón	Otro
<b>Mascota</b>	Perro	Gato	Roedores	Palma	Otro
<b>Corral</b>	Aves	Cerdos	Vacas	Caballo	Otro
<b>Drenaje</b>	Si	No	Letrina	Aire libre	Otro
<b>Agua potable</b>	Si	No	Pozo	Pipa	Otro
<b>Vegetación</b>	Frente	Costado	Patio	Leña	Otro
<b>Insectos</b>	Chinche	Zancudo	Garrapatas	Piojos	Otros
<b>Mosquiteros</b>	Ventana	Puerta	Cama		Otro

¿Ha sufrido picaduras? \_\_\_ de \_\_\_\_\_ ¿Le causaron moretón? \_\_\_ ¿Ha tenido transfusiones o ha sido donador de sangre? \_\_\_\_\_ ¿Cuantas veces? \_\_\_ ¿Le han diagnosticado alguna enfermedad? \_\_\_\_\_ ¿Ha presentado convulsiones? \_\_\_\_\_ ¿Con qué frecuencia? \_\_\_\_\_

ENCUESTADOR: \_\_\_\_\_

RESULTADOS SEROLÓGICOS \_\_\_\_\_

**ATENTAMENTE**

**Analizó la muestra**

**Supervisor**

\* Observaciones al reverso de la hoja.

### **Muestras de sangre por punción venosa.**

La toma de muestras se realizó utilizando una jeringa, la sangre se extrajo de la vena periférica de la parte interior del codo y en algunos casos del dorso de la mano. Una vez localizado el sitio de punción, este se limpió utilizando un antiséptico (alcohol) y se colocó la banda elástica alrededor de la parte superior del brazo con el fin de aplicar presión en el área y hacer que la vena se llenara de sangre. Posteriormente, se procedió a introducir la aguja en la vena y la sangre se colectó en un tubo de ensayo con EDTA (0,2 M, pH 8) como anticoagulante, luego de la extracción de aproximadamente 3ml de sangre, se retiró la banda elástica del brazo, luego la aguja y finalmente se cubrió el sitio de punción con una banda adhesiva para detener cualquier sangrado que pudiera presentarse (Brunner y Sudarth, 1988). Para las muestras de sangre obtenidas del cordón umbilical del recién nacido, antes de cortar el cordón umbilical se colocan pinzas en dos extremos, se corta y la fracción del cordón sujeta con las pinzas se limpia con la ayuda de un antiséptico y con la ayuda de una jeringa se toma la muestra sanguínea y se coloca en un tubo de ensayo con EDTA.

Las muestras obtenidas de mujeres y niños se centrifugaron a 1200g durante 10min; se separaron el suero del paquete globular; mientras que las muestras de recién nacidos se almacenaron como sangre total, en ambos casos las muestras se almacenaron a -20°C hasta su análisis.

### **Captura de triatominos y Determinación de infección.**

Los lugares muestreados se seleccionaron aleatoriamente, partiendo de los resultados arrojados por las encuestas (reportes sobre presencia de vectores). La captura se realizó por rastreo con lámpara (colecta manual) y por medio de trampas de luz (Beltrán y Carcavallo, 1985). Durante la colecta manual se examinaron los domicilios y su periferia; dentro de los domicilios se movieron algunos objetos en busca de triatominos escondidos, se realizó una revisión de paredes en busca de grietas o hendiduras que sirvieran de guarida a los triatominos (OMS, 2010). En los peridomicilios se examinaron patios y corrales, así como las madrigueras de roedores cercanas a los hogares. Los ejemplares capturados se trasladaron en frascos de plástico cubiertos con malla y papel en el interior para ofrecer resguardo a los triatominos. Una vez en el

laboratorio, estos se alimentaron con sangre de roedor y se clasificaron taxonómicamente siguiendo las claves de Lent y Wygodzinsky (1979). En el caso de las ninfas capturadas, estas se criaron hasta el estadio adulto para su identificación.

La determinación de infección por *T. cruzi* se realizó utilizando microscopio óptico (MO), y se observó la materia fecal. Todos los especímenes analizados se conservaron en etanol (grado analítico) a una concentración del 96% para posteriormente realizar la determinación de linaje de *T. cruzi* por medio de PCR (Brisse *et al.*, 2001).

### **Preparación del inóculo de *T. cruzi*, Cultivo y Obtención de epimastigotes.**

Ya que se determinó la infección por *T. cruzi* en heces de triatomíneos capturados o sangre de personas infectadas, estas se diluyeron en 200 µl de solución salina fisiológica y se colocaron por separado en microtubos de 1.5 ml. Se examinó una alícuota utilizando un MO de campo claro para la observación de los tripomastigotes *in vivo* y en frotis con Giemsa (Molina-Garza *et al.*, 2007). Las heces fecales diluídas se agregaron en el medio LIT suplementado con suero fetal bovino y hemina, se revisó el cultivo cada dos semanas hasta obtener la forma morfológica “epimastigote”.

Los epimastigotes se cultivaron en frascos de cultivo de 25cm<sup>3</sup> con medio de cultivo LIT (suplementado con suero fetal bovino, y hemina) a una temperatura de 28°C ± 2°C durante un periodo de 5- 8 días hasta obtener la fase exponencial de crecimiento, la cual se estableció cuando se observaron 100% de epimastigotes libres y con alta movilidad en el cultivo.

### **Preparación de antígeno a partir de epimastigotes y ELISA indirecta.**

Los epimastigotes en fase logarítmica se colocan en tubos eppendorf y se centrifugaron a 5,000 rpm durante 10 minutos a 4°C, se lavaron 3 veces con PBS (buffer de fosfatos pH 7.2) y se sometieron a un shock térmico congelándolos con N<sub>2</sub> líquido y descongelándolos al sumergirlos en agua a Temperatura ambiente, este proceso se realiza en un promedio de 8 repeticiones. La cantidad de proteína contenida se determina por medio de la técnica de Bradford.



El antígeno preparado se diluyó con buffer de carbonatos (pH 9.8), dejándolo a una concentración entre 5-10 µg/ml; se colocaron 50µl del antígeno en cada pocillo de la placa ELISA, se incubaron 12h a 4°C. Se decantó el líquido de cada pocillo y se lavó por triplicado con una solución de PBS-Tween 20 al 0.05%. Se decantó el líquido del último lavado y se bloqueó la reacción utilizando una solución PBS-lactosa al 5%, para lo que se depositaron 200µl de la solución en cada pocillo y se incubó la placa durante 1h a 37°C. Se decantó la solución y se realizaron tres lavados con la solución PBS-Tween 20 al 0.05%. Se decantó el líquido del último lavado y se colocaron 50µl de la solución PBS-Tween 20 al 0.05% y 1µl de los sueros problema, estos se incubaron durante 2h a 37°C. Se decantó el líquido contenido en los pocillos y se lavaron por triplicado con PBS-Tween 20 al 0.05%. Se colocaron 50µl del anticuerpo secundario (IgG-PBS-Tween 20 al 0.05%) a una concentración de 1:7500, estos se incubaron durante 1h a 37°C. Se decantó el líquido de los pocillos y se lavaron por triplicado con PBS-Tween 20 al 0.05% y se realizó un último lavado con PBS.

La placa se reveló utilizando ABTS como sustrato en una cantidad de 50µl por pocillo, se incubó la placa durante 30 min a temperatura ambiente y en total oscuridad. La absorbancia se leyó en el espectrofotómetro a 405nm.

#### **Kit-chagatest (Enzyme ChagasInterbiol).**

El procedimiento para la detección de anticuerpos específicos contra antígenos de *T. cruzi* se realizó utilizando el kit Enzyme Chagas Interbiol, siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante (Kit Chagatest Elisa IgG de WIENER Lab).

Antes de realizar la determinación, los reactivos, pozos, muestras y controles se llevarán a temperatura ambiente durante el lapso de 1 hora. Para iniciar el procedimiento se rotularon cada una de las muestras con su respectivo folio y ubicación en la que se colocaron dentro de la placa. Se procesaron: un control positivo, un control negativo y los sueros problema. Se diluyeron las muestras y el control negativo 1:21 con “diluyente de sueros”. En el pozo seleccionado, se colocaron 200 µl de diluyente y 10 µl de la muestra o control, mezclándolo perfectamente. Se colocaron 100 µl de cada uno de los sueros incluyendo controles positivo y negativo en el pozo seleccionado para cada

uno de ellos. Se agitó la placa suavemente durante 15 segundos, esta se cubrió con mica adhesiva y posteriormente se incubó a 37°C durante 30 minutos.

Se realizaron tres lavados con “regulador de lavado” (300 µl) por pozo. Entre cada lavado se mantuvo el líquido en cada pozo durante 1 minuto aproximadamente, se decantó vigorosamente y se eliminó el exceso de remanente golpeando levemente las bocas de los pozos sobre papel absorbente.

Posteriormente se adicionaron 60 µl de conjugado (anti IGg humano peroxidado) y se mezcló vigorosamente, nuevamente se cubrió la caja con mica adhesiva y se incubó a 37°C durante 30 minutos. Se decantó el líquido, y se hicieron tres lavados como se describió anteriormente. Al finalizar los lavados se adicionaron 30 µl de revelado A y 30 µl de revelado B, se mezcló perfectamente y se incubó la placa durante 20 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. La reacción se detuvo adicionando 30 µl de solución de paro a cada pozo. Para finalizar se leyó en un espectrofotómetro a 450 nm, usando el filtro de 630 nm como referencia.

### **Hemaglutinación indirecta.**

Una vez sensibilizados los glóbulos rojos y los eritrocitos, se diluyen a una concentración de 2.5% en buffer de fosfatos pH 7.2. Las diluciones del suero que se realizarán son: 1:8, 1:32 y 1:64, como resultado, los glóbulos rojos se aglutinaron por anticuerpos específicos (INDRE, 2015, Sánchez-Guillén *et al.*, 2006).

El procedimiento se realizó conforme al protocolo indicado en el kit. Se Utilizó una micropipeta y se colocaron 75 µl (3 gotas de 25 µl) de diluyente de muestra en el pocillo 1 de la policubeta y 25 µl (1 gota) en los pocillos 2 y 3 respectivamente. Posteriormente utilizando una micropipeta, se agregaron 25 µl de muestra (suero/plasma) al pocillo 1, mezclando el contenido llenando y descargando la micropipeta 6 o 7 veces. Se transfirieron 25 µl de la solución diluida del pocillo 1 al 2. Se mezclará el contenido del pocillo 3 y luego se desechan 25 µl de solución remanente en la micropipeta. De igual manera utilizando el gotero provisto en el kit, se colocaron 25 µl de solución remanente (1 gota) de partículas de control reconstituidas en el pocillo

2. Usando otro gotero, se colocaron 25 µl (1gota) de partículas sensibilizadas en el pocillo 3.

### **Hematocrito**

En la determinación de la infección por la técnica del hematocrito, para cada muestra se utilizaron 6 tubos capilares heparinizados, los cuales se llenaron con 70 µl de sangre proveniente del cordón umbilical; los tubos se centrifugaron a 3000g durante 1min y posteriormente, se cortó cada tubo con la ayuda de un marcador con punta de diamante entre la capa leucocitaria y el pellet eritrocitario. La capa leucocitaria se colocó en un portaobjetos y se cubrió con un cubreobjetos, el área de cubreobjetos se analizó a 40X y 100X bajo el microscopio (Velázquez *et al.*, 2014)

### **Extracción de ADN y Análisis Molecular**

Para la PCR, se extrajo el ADN utilizando sangre total o heces de triatomíneos infectados y DNazol en una proporción de 1:1, la mezcla de ambos se realizó en un tubo eppendorf de 1.5ml que dejó en reposo durante 24h a -4°C. Se adicionó cloroformo en una proporción de 1:2 y se mezcló vigorosamente, esta mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 5min.

Transcurrido este lapso de tiempo, se transfirió el sobrenadante a un tubo limpio y se agregó etanol frío en una proporción de 1:1, se mezcló por inversión y se incubó a temperatura ambiente durante 15min. Se centrifugó el tubo a 5000 rpm durante 5min y se decantó el sobrenadante, se agregaron 300 µl de DNazol y 225 µl de etanol frío, se agitó vigorosamente y se incubó el tubo durante 15min.

Se centrifugó el tubo a 5000 rpm durante 5min y se decantó el sobrenadante, se agregaron 300 µl de etanol frío al 70%, se mezcló vigorosamente, se centrifugó a 5000 rpm durante 5min, se decantó el sobrenadante y se dejó secar el exceso de alcohol del tubo a temperatura ambiente durante 15min.

Se agregaron 100 µl de agua inyectable esteril, se mezcló vigorosamente y se almacenó la extracción de ADN a -20°C hasta su análisis.

Para el control positivo en ambos casos de PCR se utilizó ADN de epimastigotes de *T. cruzi* obtenidos de cultivo en medio LIT, mismo que se extrajo utilizando la técnica anteriormente mencionada.

Para asegurar la integridad de la extracción de ADN en sangre total, se utilizaron primers de  $\beta$ -globina, los primers utilizados para la detección de *T. cruzi* fueron S35 -ATAATGTACGGGKGAGATGCATG- y S36-GGGTTCGATTGGGGTTGGTGT-, y la amplificación se llevó a cabo utilizando un termociclador (Labnet, MA, USA), 1  $\mu$ l (15-20 ng) de ADN, 0.5  $\mu$ l de Taq polimerasa (QIAGEN, MA), 1.9 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM de cada dNTP, y 0.5 M de cada primer; obteniendo un volumen final de reacción de 50  $\mu$ l. El programa utilizado incluyó una desnaturalización a 94°C durante 3 minutos, 40-45 ciclos de amplificación a 94°C durante 30 segundos, 58°C durante 30 segundos y 72°C durante 30 segundos, incluyendo una extensión terminal a 72°C durante 10 minutos.

Para la determinación del linaje de los aislados de *T. cruzi*, se amplificó la región intergénica del gen del mini-exón utilizando el grupo de primers TC -CCCCCTCCCAGGCCACACTG-, TC1 -GTGTCCGCCACCTCCTTCGGGCC- y TC2 -CCTGCAGGCACACGTGTGTGTG-. Las reacciones de PCR se realizaron utilizando 1  $\mu$ l de ADN (10-15 ng), 1 U de Taq polimerasa (QIAGEN, MA), 0.2 mM de cada dNTP, 1.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, y 0.5 M de cada primer; se completó un volumen total de 50  $\mu$ l utilizando agua desionizada. Se utilizó un termociclador multigene (Labnet, MA, USA). Se utilizaron 30 ciclos (30 seg a 94°C, 30 seg a 55°C y 30 seg a 72°C), seguido de una elongación final de 5 min a 72°C.

Se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1.5% y como solución tampón TAE (Tris 40 mM, acetato 40 mM, EDTA 1 mM) en presencia de 0,5 g / ml de bromuro de etidio.

### **Análisis de datos**

Los datos obtenidos se analizaron con la ayuda del programa estadístico SPSS 17.0. Se realizaron tablas de contingencia  $\chi^2$  (Chi-cuadrada) para conocer la dependencia entre las variables, una prueba de Friedman y se calcularon los ODDS ratio para determinar el riesgo de transmisión de la enfermedad.

## **DECLARACIÓN DE ÉTICA Y BIOSEGURIDAD.**

Se solicitó el consentimiento informado para la extracción de sangre. Debido a que los sujetos en este estudio también son niños, se pidió el consentimiento a un representante legal autorizado (madre).

El estudio se condujo respetando la declaración de Helsinki en su V enmienda, así como los derechos humanos estipulados en la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos. Este protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital General Regional de León, así como por el Comité de Ética e Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL. Los análisis y determinaciones requeridas para cubrir los objetivos, se realizaron conforme al protocolo de Bioseguridad del laboratorio de Patología Molecular y Experimental.

## RESULTADOS

### Transmisión congénita de *T. cruzi*.

La seroprevalencia general calculada de la infección por *T. cruzi* entre las 520 madres fue de 4% con 20 casos determinados como positivos por ambas técnicas; cabe señalar que en el estudio no se obtuvieron resultados inconclusos. Del total de mujeres muestreadas, 503 (96.7%) de ellas son originarias de 13 diferentes municipios del estado de Guanajuato, 16 de ellas presentaron anticuerpos anti-*T. Cruzi*; mientras que las 17 (3.3%) mujeres restantes que participaron en el estudio, eran originarias de otro estado del país, sin embargo, su lugar de residencia actual era el estado de Guanajuato, determinando cuatro casos con serología positiva (0.7%). La mayoría de los casos seropositivos de madres que asistieron al HGRL provenían de los municipios de San Felipe (5/57) y San Diego (3/51), seguidos por Dolores Hidalgo y San Luis de la Paz (Tabla 3). Aunque la mayoría de las mujeres muestreadas vivían en los municipios de León y Silao (195 y 82, respectivamente), determinándose sólo un caso seropositivo para el municipio de León.

De las 20 mujeres determinadas con serología positiva a *T. cruzi*, el análisis de las muestras de los cordones umbilicales resultó con positividad para cuatro de ellas, tres de las madres eran autóctonas del estado de Guanajuato (San Felipe, San Diego y Xichú); mientras que, uno de los casos positivos se obtuvo de una madre nacida en la Ciudad de México (Tabla 3).

De acuerdo a los ODDS ratio calculados, el principal factor de riesgo asociado con la transmisión CHD en mujeres positivas fue la presencia de mascotas (OR = 1,9; P = 0,017), seguida de la localización del lugar de residencia, principalmente áreas rurales (OR = 1,1; P = 0,040); en base a los materiales de construcción en las viviendas, las paredes construidas de ladrillo y adobe (OR = 2,1; P = 0,044), y el techo solo con enjarre de cemento, sin aplanado o afinación (OR = 2,2; P = 0,049), resultaron ser significativos. El tipo de material de construcción para el piso no fue significativo (OR = 1,0; P = 0,141) (Tabla 4).

**Tabla 3.** Lugar de nacimiento de las mujeres muestreadas en el HGRL, prevalencia de infección por *T. cruzi* y tasa de transmisión de la enfermedad de Chagas a recién nacidos.

Lugar de origen	Muestras por localidad (%)	Seropositivos (%)	Positivos por PCR (%)
<b>- Mujeres originarias de otro estado de la República</b>			
Chiapas	2 (0.4%)	1 (0.2%)	-
Mexico City	5 (1%)	2 (0.4%)	1 (0.2%)
Hidalgo	2 (0.4%)	-	-
Jalisco	4 (0.8%)	1 (0.2%)	-
Michoacán	3 (0.6%)	-	-
Puebla	1 (0.2%)	-	-
<b>-Mujeres originarias del estado de Guanajuato</b>			
Apaseo el Alto	1 (0.2%)	-	-
Dolores Hidalgo	8 (1.5%)	2 (0.4%)	-
Irapuato	12 (2.3%)	-	-
León	195 (37.5%)	1 (0.2%)	-
Pénjamo	4 (0.8%)	1 (0.2%)	-
San Diego	51 (9.8%)	3 (0.6%)	1 (0.2%)
San Felipe	57 (10.9%)	5 (1%)	1 (0.2%)
San Luis de la Paz	44 (8.4%)	2 (0.4%)	-
Santa Catarina	33 (6.3%)	1 (0.2%)	-
Silao	82 (15.8%)	-	-
Victoria	9 (1.7%)	-	-
Xichú	5 (1%)	1 (0.2%)	1 (0.2%)
Yuriria	2 (0.4%)	-	-

**Tabla 4.** Factores de riesgo asociados a las condiciones de vivienda.

<b>Variable</b>	<b>Total</b>	<b>Positivos</b>	<b>OR</b>	<b>95% CI</b>	<b>X2</b>	<b>P</b>
<b>Techo:</b>						
<b>Concreto vs. Teja/Lámina</b>	<b>420/100</b>	<b>14/6</b>	<b>2.2</b>	<b>2–8.4</b>	<b>7.2</b>	<b>0.049</b>
<b>Paredes:</b>						
<b>Enjarradas vs. Ladrillo/ Adobe</b>	<b>147/373</b>	<b>9/11</b>	<b>2.1</b>	<b>0.8–5.1</b>	<b>5.1</b>	<b>0.044</b>
<b>Piso:</b>						
<b>Cemento vs. Mosaico</b>	<b>426/94</b>	<b>18/2</b>	<b>1</b>	<b>0.9–1</b>	<b>2</b>	<b>0.141</b>
<b>Otros:</b>						
<b>Agua potable</b>	<b>487/33</b>	<b>19/1</b>	<b>0.8</b>	<b>0.1–0.9</b>	<b>0.1</b>	<b>0.633</b>
<b>Sí/No</b>						
<b>Drenaje vs. Letrina</b>	<b>489/31</b>	<b>17/3</b>	<b>0.5</b>	<b>0.1–0.6</b>	<b>0.6</b>	<b>0.338</b>
<b>Mascotas (Sí/No)</b>	<b>377/143</b>	<b>15/5</b>	<b>1.9</b>	<b>0.3–2.5</b>	<b>5</b>	<b>0.017</b>
<b>Cría animales (Sí/No)</b>	<b>46/474</b>	<b>3/17</b>	<b>0.5</b>	<b>0.2–1.9</b>	<b>10.2</b>	<b>0.710</b>
<b>Triatomos (Sí/No)</b>	<b>88/432</b>	<b>3/17</b>	<b>0.9</b>	<b>0.1-1.1</b>	<b>6.4</b>	<b>0.815</b>
<b>Rural /Urbana</b>	<b>455/65</b>	<b>15/5</b>	<b>1.1</b>	<b>0.9–1.8</b>	<b>6.8</b>	<b>0.040</b>

Cabe señalar que el 16.9% de las mujeres originarias de zonas rurales del estado (88/520) fueron capaces de identificar a los vectores de la ECH por medio de ilustraciones y 11 de ellas (12.5%, 11/88) reportaron haber sufrido picaduras de ellos. Aproximadamente el 6.3% de las viviendas (31-33 / 520) no contaban con ambos o alguno de los servicios públicos básicos como agua potable, drenaje y alcantarillado; aunque este factor pudiera no tener efecto directo sobre la transmisión de *T. Cruzi*, se determinaron tres casos positivos en mujeres que carecían de estos servicios (Tabla 4).



La edad de las mujeres que participaron en este estudio osciló entre los 14 a los 48 años con una media de 24 años, las mujeres más jóvenes en edades entre 14 a 24 años mostraron el mayor factor de riesgo asociado a la transmisión congénita (OR = 2,4; P = 0,000), sobre todo si se encontraban entre su primer o segundo embarazo (OR = 1,7; P = 0,003). Del grupo de 25 mujeres que informaron haber participado como donantes de sangre al menos en una ocasión, cuatro de ellas (16%) resultaron con serología positiva y sólo en unos de los casos se determinó por PCR un recién nacido positivo para *T. cruzi*; sin embargo, la donación no es un factor de riesgo para la transmisión vertical de la enfermedad (P = 0,880). De las 17 mujeres que reportaron haber sido transfundidas al menos en una ocasión, dos de ellas (11,76%) resultaron con serología positiva, sin embargo, los análisis por PCR no arrojaron casos positivos (Tabla 5).

**Tabla 5.** Factores de riesgo directamente asociados a las embarazadas y su seropositividad a la enfermedad de Chagas en el estado de Guanajuato, México.

<b>Variable</b>	<b>Total</b>	<b>Positivos</b>	<b>OR</b>	<b>CI</b>	<b>P</b>
<b>Mujeres en edad de: 14-24 vs. 25-48</b>	<b>327/193</b>	<b>16/4</b>	<b>2.4</b>	<b>0.8-7.40</b>	<b>0.000</b>
<b>Número de partos: 1-2 vs. 3-6</b>	<b>467/53</b>	<b>17/3</b>	<b>1.7</b>	<b>0.5-5.8</b>	<b>0.003</b>
<b>Donador de sangre: Sí vs. No</b>	<b>25/495</b>	<b>4/16</b>	<b>0.2</b>	<b>0.1-0.7</b>	<b>0.880</b>
<b>Transfusiones: Sí vs. No</b>	<b>17/503</b>	<b>2/18</b>	<b>0.3</b>	<b>0.2-0.8</b>	<b>0.713</b>
<b>Ha recibido picaduras de triatomos: Sí vs. No</b>	<b>11/509</b>	<b>3/17</b>	<b>0.6</b>	<b>0.5-1.1</b>	<b>0.691</b>

Las pruebas de microhematocrito fueron negativas para todas las muestras, sin embargo, los resultados de la PCR de la sangre obtenida del cordón umbilical de los recién nacidos de mujeres seropositivas arrojaron cuatro casos positivos (20%) (Fig. 5).



**Figura 5.** PCR de los cordones umbilicales de recién nacidos de mujeres seropositivas a *T. cruzi*. M = marcador de ADN (100 pb); P1 y P2 = controles positivos; N = control negativo; 1-4 = muestras de los cordones umbilicales de los recién nacidos positivos.

### Comparación de técnicas (ELISA indirecta vs Chagatest).

Para la ELISA indirecta, se preparó el antígeno y se utilizó una concentración de proteína de 7.5 µg/ml. La sensibilidad reportada para la técnica de ELISA (Kit Chagatest Elisa IgG de WIENER Lab) es de 100%, con una especificidad de 98.3-99.66%; mientras que la sensibilidad calculada para la técnica de ELISA indirecta fue de 96%, con una especificidad de 89%. Se calculó el índice Kappa resultando en 0.8.

De acuerdo al análisis de costos, el procesamiento de una muestra por medio del Kit Chagatest (WIENER Lab), cuesta aproximadamente \$145.00; mientras que el costo aproximado al utilizar la técnica de ELISA indirecta es de \$48.00 aproximadamente.

### Determinación de linaje de *T. cruzi* en muestras sanguíneas y triatominos.

Entre los 51 triatominos colectados, se identificaron 4 especies, 18 (35%) de ellos correspondieron a *Triatoma longipennis*, de los cuales 4 (22.2%) fueron positivos a *T. cruzi*; 11(21.6%) de estos se indentificaron como *T. pallidipennis*, con tres (27.3%)

triatominos positivos (Tabla 5); Diez (19.6%) triatominos se identificaron como *T. mexicana* y 12 (23.5%) como *T. barberi*, no encontrando individuos infectados con el parasito para estas últimas especies. Cabe señalar que, tanto *T. longipennis* como *T. pallidipennis*, fueron capturados en zona silvestre; mientras que *T. mexicana* y *T. barberi*, se capturaron en zona domiciliar y peridomiciliar.

**Tabla 5.** Aislados de *T. cruzi* de acuerdo al tipo de muestra y localidad de procedencia.

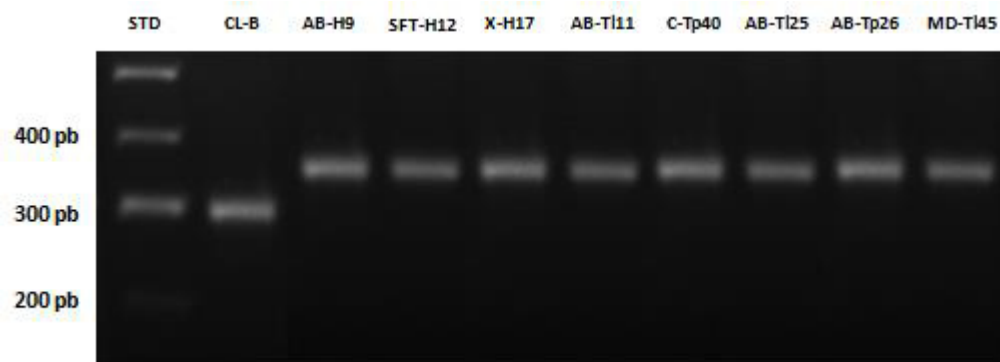
Localidad	Identificación	Tipo de muestra	Especie	Linaje
<b>SDU</b>	SDU-H3	Sangre	<i>Homo sapiens</i>	I
<b>Abasolo</b>	AB-H9	Sangre	<i>Homo sapiens</i>	I
<b>SFT</b>	SFT-H12	Sangre	<i>Homo sapiens</i>	I
<b>Xichú</b>	X-H17	Sangre	<i>Homo sapiens</i>	I
<b>Abasolo</b>	AB-T111	Triatomo (heces)	<i>Triatoma longipennis</i>	I
<b>Abasolo</b>	AB-Tp16	Triatomo (heces)	<i>Triatoma pallidipennis</i>	I
<b>Cortazar</b>	C-Tp40	Triatomo (heces)	<i>Triatoma pallidipennis</i>	I
<b>Abasolo</b>	AB-T119	Triatomo (heces)	<i>Triatoma longipennis</i>	I
<b>Abasolo</b>	AB-T125	Triatomo (heces)	<i>Triatoma longipennis</i>	I
<b>Abasolo</b>	AB-Tp26	Triatomo (heces)	<i>Triatoma pallidipennis</i>	I
<b>MD</b>	MD-T145	Triatomo (heces)	<i>Triatoma longipennis</i>	I

SDU=San Diego de la Unión; AB=Abasolo; SFT=San Felipe Torresmochas; C=Cortazar; MD=Manuel Doblado.

De los 13 municipios del estado de Guanajuato de los que eran originarias las mujeres muestreadas, en 3 (23.1%) de ellos se detectó la transmisión congénita de la ECH (Tabla 2); sin embargo, de los triatominos colectados en esas localidades, solo en 3 (23.1%) de ellas se observó la presencia del parásito en las heces de estos. Cabe señalar que de los casos positivos tanto en humanos como en triatominos, solo uno de los municipios tuvo concordancia para ambos casos (Tabla 5).

De acuerdo al análisis molecular, se determinó que el linaje predominante en el total de las muestras positivas, corresponde a *T. cruzi* I, observando una banda de 350pb para cada una de ellas (Figura 6). Esto se comprobó secuenciando el fragmento obtenido (Secuenciador automatizado 3130, Series Genetic Analyzer de Applied Biosystems) y comparándolo contra las secuencias ya reportadas en la base de datos del NCBI, obteniéndose una similitud de 94% y una concordancia de 100% para nuestra secuencia obtenida

(TTTGATTCTTGAGCGTTATGCCCGATGTCTCACAAGTGTCGGGGGGCGAAC  
 ACACGCTTTTAATGCGTGCGGAGCGTTGTGTGCAGGCGTTTCATTGCGAGGA  
 GCCAAAAACGGGAAAAAAGCAAAAAACACCAAAAAACGCAGGCAACA  
 CCGTAAAACACGCGGTGGAGTGCGAGAACACAAAGCAGCGAGACGGACAC  
 GACAGGACACCGTGTTTGCGCAGACAAGGGCAGCGACAACACAACTTGA  
 AGGAGCCGGAGGTGGGTGGGGCACACACACTTACTTACACACACACACTTG  
 TGTCTGCGGGTGGT) por medio de un análisis BLAST.



**Figura 6.** Electroforesis en gel de agarosa (2%) teñido con bromuro de etidio, muestra una única banda de 350pb para todos los aislados de *T. cruzi*. STD=Standard de 100pd DNA Leader; CL-B=Cepa Brenner; AB-H9, SFT-H12, X-H17=Aislados de *T. cruzi* a partir de muestras sanguíneas (humano). AB-T111, C-Tp40, AB-T125, AB-Tp26, MD-T145=Aislados de *T. cruzi* a partir de heces de triatomos.

## DISCUSIÓN

Este es el primer estudio sistemático sobre la seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. Cruzi* en mujeres embarazadas y sobre la transmisión congénita de la enfermedad de Chagas desarrollado en el estado de Guanajuato. Este estudio arrojó una seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* del 4% en mujeres embarazadas con un índice de 20% de muestras de cordones umbilicales positivos analizados por la técnica de PCR. El análisis de los principales factores de riesgo involucrados en la transmisión de la enfermedad, incluyeron los materiales de construcción de casas habitación, viviendas ubicadas en zonas rurales, así como la presencia de mascotas. La escasez de información sobre la prevalencia de la infección por *T. cruzi* en mujeres embarazadas y recién nacidos señala que esta enfermedad ha sido subestimada debido a que no se realizan análisis de rutina en los hospitales de ginecología obstétrica para diagnosticar madres infectadas o recién nacidos. (Muñoz *et al.*, 2007). El control y la prevención en la transmisión de la enfermedad de Chagas, particularmente a través de vía congénita, es uno de los objetivos principales de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2013), la cual indica que el diagnóstico oportuno de la madre y el bebé son claves para prevenir esta patología y evitar la dispersión de la misma debido a movimientos migratorios. De acuerdo a las encuestas epidemiológicas aplicadas en este estudio, 88 madres reportaron la presencia de triatomos intradomiciliarios (16,9%), pero sólo se confirmó la picadura en tres de los casos de mujeres seropositivos. Aunque este hallazgo no fue significativo, se sugiere que el establecimiento de viviendas en zonas rurales podría tener un efecto sobre la prevalencia de la infección y estar asociado con el comportamiento doméstico y peridoméstico de los triatomos (Ramsey *et al.*, 2000). La mayor seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. Cruzi* se determinó en mujeres embarazadas de áreas rurales del estado de Guanajuato (15 mujeres), donde los habitantes son fácilmente infectados por la presencia de vectores infectados (Cucunubá *et al.*, 2014). Otros factores de riesgo significativos identificados en este estudio incluyeron los materiales de construcción de las viviendas, tales como paredes y techo sin aplanado o afinación con yeso, debido a que estas superficies tienen huecos que los triatomos utilizan fácilmente como escondites (Bustamante *et al.*, 2009; Sandoval-Ruiz *et al.*, 2014). En el estado de Guanajuato, se ha reportado la presencia de especies

de triatomíneos epidemiológicamente consideradas entre las más importantes debido a su capacidad vectorial. Dichas especies incluyen *Triatoma barberi*, *T. dimidiata*, *T. Longipennis* y *T. pallidipennis* (López-Cárdenas *et al.*, 2002, Ramsey *et al.*, 2015). En este estudio, la presencia de mascotas fue significativa y, por lo tanto, se asoció con la transmisión de *T. cruzi*, los perros y gatos domésticos han sido previamente identificados como principales fuentes en la transmisión doméstica de parásitos en México, Texas y Argentina (Kjos *et al.*, 2013; Enriquez *et al.*, 2014; Odagiu y Mayer, 2015). Es importante señalar que, en el estudio, sólo dos mujeres infectadas por *T. cruzi* (3.8%, 2/520) reportaron haber recibido al menos una transfusión de sangre en al menos una ocasión, mientras que cuatro mujeres infectadas por *T. cruzi* participaron como donadoras de sangre (0.8 %, 4/520). La prevalencia general reportada por los bancos de sangre en América Latina fue de 1.3%, con 0.6% para México (OPS, 2006), sin embargo, la participación estimada como donadoras de sangre en este estudio alcanzó una tasa del 4,8% (25/520). Aunque este resultado podría sugerir la baja probabilidad de adquirir la infección por esta vía, sí destaca la necesidad de realizar un tamizaje universal para los donadores de sangre, pero especialmente para las mujeres embarazadas, en este escenario, las autoridades sanitarias podrían hacer un mejor esfuerzo para reducir la prevalencia de la enfermedad de Chagas en el país. Esto también es una recomendación de la Iniciativa de Centroamérica y México (OPS, 2014), aplicable principalmente para los estados no endémicos del país, donde tanto el vector como la enfermedad siguen siendo poco reconocidos y la mayoría de los médicos la consideran como una enfermedad "exótica" y por lo tanto, no pueden proporcionar un diagnóstico y tratamiento certeros para esta patología (Bonney, 2014). Los resultados mostraron una asociación directa entre la seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* y mujeres de menor edad que se encontraban entre su primer y segundo embarazo; donde ambos factores fueron altamente significativos, dato que sugiere que la parasitemia disminuye con la edad, ya que la frecuencia de transmisión sería mayor entre las madres jóvenes (Bittencourt, 1992). Esto resalta la importancia de realizar una detección temprana de la enfermedad de Chagas como se ha sugerido anteriormente (OPS, 2014). Existe evidencia de que la transmisión congénita de *T. cruzi* no se puede prevenir durante el embarazo, sin embargo, el diagnóstico y el tratamiento temprano en los recién nacidos es la estrategia más recomendada (Muñoz *et al.*, 2007). Mujeres

embarazadas en edades entre los 22 y 26 años de Colombia y Paraguay mostraron una seroprevalencia similar a la reportada en este estudio (2-4%); sin embargo, la transmisión congénita reportada en esos estudios fue mayor (20-30%) (Russomando *et al.*, 2005; Manrique-Abrile *et al.*, 2013; Cucunubá *et al.*, 2014). La tasa de transmisión congénita reportada para otras regiones tanto endémicas como no endémicas de Sudamérica oscila entre el 1% y el 12% (Carlier y Torrico, 2003; Torrico *et al.*, 2004). En México, las tasas más altas de esta enfermedad han sido reportadas para Oaxaca, Jalisco y México, donde la prevalencia entre madres fue de 4.4, 4.12 y 12.02%, respectivamente, y la transmisión congénita osciló entre 11.9 y 20% (Jiménez-Cardoso *et al.*, 2012). La seroprevalencia en madres e hijos de las comunidades mayas de Yucatán oscilaron entre 4.4% y 0.7% (Gamboa-León *et al.*, 2014), los reportes anteriormente mencionados apoyan la importancia de la vigilancia y prevención de la enfermedad de Chagas en mujeres embarazadas y sus recién nacidos al demostrar que la infección por *T. cruzi* está activa en varias regiones del país.

Aunque no hay un método efectivo para evitar la transmisión congénita en países endémicos, se sugiere un mayor control sobre las principales vías de transmisión, como son el mecanismo vectorial y el transfusional, además del tratamiento antiparasitario recomendado (nifurtimox y benznidazol) para reducir la prevalencia en mujeres infectadas. Se sugiere que la mejor estrategia de control para la enfermedad está basada en el diagnóstico temprano de recién nacidos infectados por medio de pruebas de laboratorio para prevenir su mortalidad y los efectos secundarios de la cardiopatía congénita, así como la disminución de la morbilidad pre y posneonatal (Carlier y Torrico, 2003).

Varios estudios señalan que más del 50% de niños infectados congénitamente desarrolló manifestaciones clínicas con una tasa de mortalidad de hasta 14% (Carlier y Torrico, 2003). Aunque la totalidad de los casos congénitos reportados aquí no presentaron evidencia clínica, alrededor del 60-90% de los casos congénitos pueden presentar síntomas no específicos o heterogéneos (Freilij y Altcheh, 1995; Altcheh *et al.*, 2005; Brutus *et al.*, 2008), o como en casos oligosintomáticos, en los que los bebés presentan casos severos de meningoencefalitis, miocarditis o síndrome de dificultad respiratoria (RDS) (White *et al.*, 2000; Torrico *et al.*, 2004). Además de que otras infecciones

congénitas pueden identificarse con el acrónimo TORCH (*Toxoplasma gondii*, virus de la rubéola, citomegalovirus y el virus del herpes simple), al igual que sucede con la enfermedad de Chagas, en casos no tratados, la infección puede progresar a la cronicidad (Carlier *et al.*, 2012).

Existe un consenso oficial que considera las pruebas parasitológicas que se realizan cerca de la fecha del nacimiento de los bebés como el estándar de oro para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas congénita, aunque la técnica de PCR aún se encuentra en evaluación y no ha sido validada para el diagnóstico de la infección congénita (Carlier *et al.*, 2011), esta podría mejorar la detección temprana de la enfermedad (Velázquez *et al.*, 2014; Rendell *et al.*, 2015). Además, del microhematocrito y el hemocultivo, la PCR podría también ser considerado como un método de diagnóstico temprano, y así, con este grupo de pruebas se establecería evidencia de infección congénita por *T. cruzi* antes de que la madre y el niño abandonen los cuidados hospitalarios (Mora *et al.*, 2005).

Aunque se considera que las técnicas parasitológicas ofrecen un diagnóstico rápido y definitivo que permite una iniciación más rápida del tratamiento, estudios recientes han mostrado varias desventajas como lo son: 1) el requerimiento de personal calificado y el aseguramiento del control de calidad en las determinaciones, el cual podría no estar disponible en los centros de atención primaria (Carlier *et al.* 2011), 2) los métodos parasitológicos son altamente específicos, pero pierden sensibilidad cuando las parasitemias son demasiado bajas (<40), 3) cerca del 50% de niños infectados no son detectados por la técnica del microhematocrito y esta proporción aumenta utilizando el hemocultivo (Mora *et al.* , 2005; Velázquez *et al.*, 2014).

Para este estudio, la prueba del hematocrito resultó negativa para el 100% de los casos, probablemente debido a las bajas cargas parasitarias obtenidas en los cuatro casos positivos.

Dado que actualmente la técnica estándar para la detección de la transmisión congénita está basada en el microhematocrito, este ha demostrado un menor nivel de sensibilidad en la detección cuando la carga de parásitos es baja (Freilij *et al.*, 1983) y, en algunos niños, las cargas parasitarias en sangre están por debajo del límite de sensibilidad o



especificidad (40 parásitos/ml) (Velázquez *et al.*, 2014), lo anterior debe ser considerado en los procedimientos diagnósticos, ya que se ha reportado una transmisión congénita de mujeres embarazadas en fase crónica con parasitemias entre 10-20 parásitos / ml (Rendell *et al.*, 2015). Además, una distribución desigual de parásitos en pequeñas muestras sanguíneas puede mostrar falsos resultados negativos en el diagnóstico parasitológico (Mora *et al.*, 2005). Una nueva consideración podría ser tomada en cuenta para la PCR, ya que esta técnica ha demostrado una sensibilidad mucho más alta para el diagnóstico precoz de la enfermedad (Mora *et al.*, 2005; Bern *et al.*, 2011; Velázquez *et al.*, 2014). Por lo tanto, en este estudio se utilizó la técnica de PCR, con la cual se determinaron cuatro muestras de recién nacidos positivos a *T. cruzi*, posteriormente, se les dio el seguimiento en el HGRL para la administración del tratamiento, cuidados y observación de su evolución clínica, misma que continuará hasta su segundo año de vida usando técnicas serológicas que aseguren la ausencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en su organismo (Jackson *et al.*, 2010). Se ha demostrado la eficacia del tratamiento de la enfermedad de Chagas en niños infectados durante el primer año de vida al mostrar éxito terapéutico en casi el 100% de los casos (Moya *et al.*, 2005), sin embargo, el tratamiento en mujeres embarazadas infectadas con el parásito sigue siendo controversial y permanece en estudio (Sosa-Estani *et al.*, 2009).

Los triatomíneos colectados en las localidades en las que se determinaron pacientes positivos a *T. cruzi*, no se encontraron infectados con el parásito a excepción de un caso positivo. Sin embargo, se capturaron *T. mexicana* y *T. barberi* dentro y en la periferia de los hogares, mientras que *T. longipennis* y *T. pallidipennis* solo se capturaron en zona silvestre. Aunque se ha señalado a *T. barberi* y *T. mexicana* como los mejores transmisores de la enfermedad en el país (Vidal *et al.*, 2000; Guzmán, 2001; Espinoza *et al.*, 2002), para este estudio, no se encontró una relación entre la infección parasitaria en la población humana y las especies de triatomíneos presentes en las localidades estudiadas.

De acuerdo con la evaluación de cada uno de los aislados de *T. cruzi* utilizando el gen del mini-exón (Souto *et al.*, 1996), el linaje predominante tanto en muestras de sangre humana, como en heces de triatomíneos analizadas en este estudio es *T. cruzi* I. En países del cono Sur, se ha relacionado a este linaje con el ciclo selvático y se le ha considerado

con un bajo potencial de patogenicidad (Macedo *et al.*, 2004), sin embargo, en México, el linaje que predomina tanto en la población humana como en otros mamíferos y triatomos, corresponde a *T. cruzi* I (Bosseno *et al.*, 2002). Aunque en este estudio no se estudiaron las manifestaciones clínicas de los pacientes analizados, en México y en algunos países de Centroamérica y Colombia, la prevalencia de *T. cruzi* I se ha reportado en ciclos domésticos y se encuentra asociada al desarrollo de cardiomiopatía chagásica (Montilla *et al.*, 2002; Higo *et al.*, 2004)

La prevalencia calculada con la técnica de ELISA indirecta fue de 0.8%, similar a la reportada por Cruz-Reyes y Pickering-López, en 2006 (0.82%) para el estado de Guanajuato. La comparación de costos muestra un ahorro de casi el 75% al utilizar la técnica de ELISA indirecta en lugar de kits comerciales, el único inconveniente que puede presentarse es el mantenimiento correcto de las cepas del parásito en medio de cultivo.

## CONCLUSIONES

Este estudio determinó por primera vez la seroprevalencia de *T. Cruzi* en mujeres embarazadas en el estado de Guanajuato, así como la tasa de transmisión congénita por PCR, ya que se ha subestimado como un problema de salud pública en México. El índice calculado de transmisión congénita fue del 20% (4/20), de 20 madres seropositivas y cuatro cordones umbilicales positivos para la PCR. Estos hallazgos fueron similares a los reportados en Oaxaca, un estado considerado como zona endémica de la enfermedad, aunque el estado de Guanajuato no es considerado como tal. Además, la incidencia calculada en este estudio de transmisión congénita de la enfermedad de Chagas fue de 770 casos por cada 100,000 nacimientos durante un período de 12 meses. Este hallazgo destaca la importancia de realizar pruebas serológicas en todas las poblaciones de mujeres embarazadas para prevenir la transmisión de una generación a otra (transmisión vertical).

La implementación de la técnica de ELISA indirecta es una buena alternativa para las clínicas públicas como IMSS o ISSSTE, ya que, al utilizar esta técnica que representa un menor costo, se puede monitorear al 100% a las mujeres en estado de gestación y así, prevenir la transmisión congénita de la enfermedad de Chagas, de igual manera puede utilizarse para el tamizaje de donadores de sangre.

De acuerdo con el gran número de triatominos capturados en las localidades del estado de Guanajuato, se resalta la importancia del empleo de medidas de control y prevención de la enfermedad de Chagas diseñando un programa de vigilancia epidemiológica para esta parasitosis.

## **APORTACIÓN Y PERSPECTIVAS.**

Se determinó la seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en mujeres embarazadas y sus recién nacidos, así como los factores de riesgo asociados a las condiciones de vivienda (transmisión vectorial), con lo que se pretende coadyuvar a la Secretaría de Salud para recomendar medidas de prevención y control de la enfermedad. Estas medidas incluyen el control de vectores, de acuerdo a las especies de triatomíneos de gran importancia por su capacidad vectorial capturados durante la realización de este estudio y su asociación con las viviendas.

Al realizarse el aislamiento de la cepa regional de *T. cruzi*, esto permitirá el diseño de estuches de diagnóstico inmunológico a menor costo, los cuales podrán ser utilizados en los hospitales del estado para el tamizaje del 100% de las mujeres embarazadas que ingresen para su atención médica.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón de Noya B, Díaz-Bello Z, Colmenares C, Ruiz-Guevara R, Mauriello L, Zavala-Jaspe R. 2010. Large urban outbreak of orally acquired acute Chagas disease at a school in Caracas, Venezuela. *J Infect Dis* 201(9):1308-15. doi: 10.1086/651608
- Alejandre-Aguilar R, Noguera-Torres B, Cortés-Jiménez M, Jurgberg J, Galvão C, Corcavallo R. 1999. *Triatoma bassolsae* sp.n. do México, com una chave para as espécies do complexo “phyllosoma” (Hemiptera, Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 94(3):353 – 359.
- Altcheh J, Biancardi M, Lapeña A, Ballering G, Freilij H. 2005. Congenital Chagas disease: experience in the hospital de Niños, Ricardo Gutierrez, Buenos Aires, Argentina. *Rev Soc Bras Med Trop* 38:41–45.
- Andrade SG, Magalhães JB. 1997. Biodemes and zymodemes of *Trypanosoma cruzi* strains: correlations with clinical data and experimental pathology. *Rev Soc Bras Med Trop* 30:27-35.
- Angulo MJ. 1985. Relación clima-vegetación en el estado de Guanajuato. Tesis profesional. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. pp. 106.
- Anónimo. 1980. Síntesis geográfica del estado de Guanajuato. Secretaría de Programación y Presupuesto. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México, D.F. 198 pp. anexo cartográfico.
- Barona-Vilar C, Giménez-Martí MJ, Fraile T, González-Steinbauer C, Parada C, Gil-Brusola A, Bravo D, Gómez MD, Navarro D, Perez-Tamarit A, Fernandez-Silveira L, Fullana-Montoro A, Borrás R. 2012. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in pregnant Latin American women and congenital transmission rate in a non-endemic area: the experience of the Valencian Health Programme (Spain). *Epidemiol Infect* 140(10):1896-903. doi: 10.1017/S0950268811002482
- Basile L, Jansá JM, Carlier Y, Salamanca DD, Angheben A, Bartoloni A, Seixas J, Van Gool T, Cañavate C, Flores-Chávez M, Jackson Y, Chiodini PL, Albajar-Viñas P. 2011. Chagas disease in European countries: the challenge of a surveillance system. *Euro Surveill* 16(37): pii=19968.

- Beltrán L, Carcavallo RU. 1985. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. En: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Carcavallo RU, Rabinovich E y John J (eds). Ministerio de salud y acción social: Argentina, pp. 437-442.
- Bern C, Martin DL, Gilman RH. 2011. Acute and congenital Chagas disease. *Adv Parasitol* 75:19–47. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-385863-4.00002-2>.
- Bittencourt AL. 1972. Incidencia da transmissao congénita da doenca de Chagas em abortos. *Rev Inst Med Trop* 14(4):257-259.
- Bittencourt AL. 1992. Possible risk factors for vertical transmission of Chagas' disease. *Rev Inst Med Trop de São Paulo* 34:403–408.
- Bonney KM. 2014. Chagas disease in the 21st century: a public health success or an emerging threat? *Parasite* 21(11) <http://dx.doi.org/10.1051/parasite/2014012>.
- Bosseno MF, Barnabé C, Magallón-Gastélum E, Lozano-Kasten F, Ramsey J, Espinoza B, Brenière SF. 2002. Predominance of *Trypanosoma cruzi* Lineage I in Mexico. *J Clin Microb* 40(2): 627–632.
- Brener Z. 1973. Biology of *Trypanosoma cruzi*. *Annu rev Microbiol* 27:347-82.
- Brenière SF, Bosseno MF, Tellería J, Carrasco R, Vargas F, Yacsik N, Noireau F. 1995. Field application of polymerase chain reaction diagnosis and strain typing of *Trypanosoma cruzi* in Bolivian triatomines. *Am J Trop Med Hyg* 53(2):179-84.
- Brenière SF, Bosseno MF, Tellería J, Bastrenta B, Yacsik N, Noireau F. 1998. Different behaviour of two *Trypanosoma cruzi* major clones: transmission and circulation young Bolivian patients. *Exp Parasitol* 89(3):285-95.
- Brenière S. F, Bosseno M. F, Magallón E, Castillo E, Soto M. 2007. Peridomestic colonization of *Triatomalongipennis* (HemipteraReduviidae) and *Triatomabarberi* (HemipteraReduviidae) in a rural community with active transmission of *Trypanosoma cruzi* in Jalisco state Mexico. *Acta Tropica* 101:249-57.
- Brisse S, Verhoef J, Tibayrenc. 2001. Characterisation of large and small subunit rRNA and mini-exon genes further supports the distinction of six *Trypanosoma cruzi* lineages. *Int J Parasitol* 31(11):1218-26.
- Brunner & Sudarth. 1988. *Enfermería Medicoquirúrgica*. Editorial Mc. Graw-Hill Interamericana. Vol 1, pp. 241.

- Bustamante DM, Monroy C, Pineda S, Rodas A, Castro X, Ayala V, Quiñones J, Moguel B, Trampe R. 2009. Risk factors for intradomiciliary infestation by the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata* in Jutiapa, Guatemala. *Cad Saude Publica* 25: 83–92.
- Brutus L, Schneider D, Postigo J, Romero M, Santalla J, Chippaux JP. 2008. Congenital Chagas disease: diagnostic and clinical aspects in an area without vectorial transmission Bermejo, Bolivia. *Acta Trop* 106:195–199.
- Carlier Y, Torrico F. 2003. Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: From mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control. *Rev Soc Bras Med Trop*. 36:767-771.
- Carlier Y, Torrico F, Sosa-Estani S, Russomando G, Luquetti L, Freilij H, Albajar-Vinas P. 2011. Congenital Chagas disease: recommendations for diagnosis, treatment and control of newborns, siblings and pregnant women. *PLoS Negl Trop Dis* 5:e1250. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001250>
- Carlier Y, Truyens C, Deloron P, Peyron F. 2012. Congenital parasitic infections: a review. *Acta Trop* 121:55–70.
- Chiarpenello J. 2004. Enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis Americana). *Evid actual pract ambul* 7:114-119.
- Corliss JO. 1994. An interim utilitarian ('User-Friendly') hierarchical classification and characterization of the protest. *Acta Protozoológica* 33: 1-51.
- Cruz-Reyes A, Pickering-López JM. 2006. Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years – A Review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 101: 345–54.
- Cucunubá ZM, Valencia-Hernández CA, Puerta CJ, Sosa-Estani S, Torrico F, Cortés JA, Ramirez JD, Veraf MJ, Acostag BX, Álvarez CA, Muller EÁ, Beltránj M, Bermúdez MI, Berrío M, Camacho-Morenok G, Castellanos YZ, Criollo I, Flórez AC, Guerra-Morales P, Herazoa RA, Hernández DC, Leóna CM, Medina-Camargo M, Medina-Alfonso M, Pachón E, Paez-Fonseca B, Parra ML, Pavia PX, Quiróz FR, Ríos LC, Roar NL, Torres F, Uribe-Rivero LM. 2014. Primer consenso colombiano sobre Chagas congénito y orientación clínica a mujeres en edad fértil con diagnóstico de Chagas. *Infectio* 18:50–65.
- Dumonteil E. 1999. Update on Chagas' disease in Mexico. *Salud Publica Mex* 41: 322–327.

- Dumonteil E, Gourbière S, Barrera PM, Rodríguez FE, Ruíz PH. 2002. Geographic distribution of *Triatoma dimidiata* and transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* in the Yucatán Peninsula of Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 67:176-83.
- Enriquez GF, Bua J, Orozco MM, Wirth S, Schijman AG, Gürtler RE, Cardinal MV. 2014. High levels of *Trypanosoma cruzi* DNA determined by qPCR and infectiousness to *Triatoma infestans* support dogs and cats are major sources of parasites for domestic transmission. *Infec Genet Evol* 25:36–43.
- Espinoza GF, Maldonado R, Coll AC, Hernández SC, Fernández IS. 2002. Presence of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and risk of transmission of Chagas disease in Colima, México. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97:25-30.
- Franco-Paredes C, Von A, Hidron A. 2007. Chagas disease: an impediment in achieving the Millennium Development Goals in Latin America. *Bio Med* 7(7) doi:10.1186/1472-698X-7-7
- Frank M, Hegenscheid B, Janitschke K, Weinke T. 1997. Prevalence and epidemiological significance of *Trypanosoma cruzi* infection among Latin American immigrants in Berlin, Germany. *Infection* 25:355–358. doi:10.1007/BF01740817
- Feilij H, Muller L, Gonzalez-Cappa SM. 1983. Direct micromethod for diagnosis of acute and congenital Chagas' disease. *J Clin Microbiol* 18:327–330.
- Freilij H, Altcheh J. 1995. Congenital Chagas' disease: diagnostic and clinical aspects. *Clin Infect Dis* 21:551–555.
- Freitas JM de, Augusto-Pinto L, Pimenta JR, Bastos-Rodrigues L, Gonçalves VF, Teixeira SMR, Chiari E, Junqueira ACV, Fernandes O, Macedo AM, Machado CR, Pena SDJ. 2006. Ancestral genomes, sex and the population structure of *Trypanosoma cruzi*. *PLoS Pathog* 2(3):e24. doi: 10.1371/journal.ppat.0020024
- Gamboa-León R, Ramirez-Gonzalez C, Pacheco-Tucuch FS, O'Shea M, Rosecrans K, Pippitt J, Buekens P. 2014. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* among mothers and children in rural Mayan communities and associated reproductive outcomes. *Am J Trop Med Hyg* 91:348–353.



- Goldsmith RS, Kagan IG, Reyes–González MA, Cedeño-Ferreira J. 1971. Estudios seroepidemiológicos realizados en Oaxaca, México. Bol Ofna Sanit Panamer 69(6):500-17.
- Guzmán–Bracho C, García–García L, Floriani–Verdugo J, Guerrero–Martínez S, Torres–Cosme M, Ramírez–Melgar C, Oscar Velasco–Castrejón O. 1998. Riesgo de Transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre en México. Rev Panam Salud Publica 4(2): 94-99.
- Guzman-Bracho C. 2001. Epidemiology of Chagas disease in Mexico: an update. Trends Parasitol 17: 372–376.
- Haro AI. 2003. Algunos hechos históricos relacionados con la enfermedad de Chagas. Rev Mex Patol Clin 50: 109-12.
- Hartwood RF, James BT. 1979. Entomology in human and animal health (7<sup>a</sup> ed). Mc Millan:New York, pp. 139-152.
- Herrera C, BARGUES MD, Fajardo A, Montilla M, Triana O, Vallejo GA, Guhl F. 2007. Identifying four *Trypanosoma cruzi* I isolate haplotypes from different geographic regions in Colombia. Infect Genet Evoln 7(4): 535-39.
- Higo H, Miura S, Horio M, Mimori T, Hamano S, Agatsuma T, Yanagi T, Cruz-Reyes A, Uyema N, Rojas de Arias A, Matta V, Akahane H, Hirayama K, Takeuchi T, Tada I, Himeno K. 2004. Genotypic variation among lineages of *Trypanosoma cruzi* and its geographic aspects. Parasitol Int 53:337-44.
- Hoare C.A, 1972. The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. Blackwell Scientific, Oxford, Edinburgh.
- Howard JE. 1962. La enfermedad de Chagas congénita. En: Colección monografías biológicas. Santiago (Eds). Standler: Universidad de Chile, pp. 16.
- INDRE. 2015. Lineamientos para la vigilancia epidemiológica de Chagas por laboratorio. INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS: México D.F, pp. 21-35.
- INEGI. 2011. Guanajuato. Fecha de consulta: 17 de enero de 2015. Disponible en: <http://mapserver.inegi.org.mx/geografia/espanol/estados/gto/clim.cfm?c=444&e=11>

- Jackson Y, Alirol E, Getaz L, Wolff H, Combescure C, Chappuis F. 2010. Tolerance and safety of nifurtimox in patients with chronic Chagas disease. *Clin Infect Dis* 51:e69–e75. <http://dx.doi.org/10.1086/656917>
- Jiménez-Cardoso E, Campos-Valdéz G, Cortes-Campos A, de la Luz-Sanchez R, Rivera-Mendoza C, Plascencia-Hernández A, Hernández-Ramírez M, Ruiz-Habana J, Bonilla-González E, Damian-Matzumura P, Carlier Y. 2012. Maternal fetal transmission of *Trypanosoma cruzi*: a problem of public health little studied in Mexico. *Exp Parasitol* 131:425–432.
- Kjos SA, Marcet PL, Yabsley MJ, Kitron U, Snowden KF, Logan KS, Dotson EM. 2013. Identification of blood meal sources and *Trypanosoma cruzi* infection in triatomine bugs (Hemiptera: reduviidae) from residential settings in Texas, the United States. *J Med Entomol* 50:1126–1139.
- Kawashita SY, Sanson GFO, Fernandes O, Zingales B, Briones MRS. 2001. Maximum-likelihood divergence data estimates based on rRNA gene sequences suggest two scenarios of *Trypanosoma cruzi* intraspecific evolution. *Mol Biol Evol* 18: 2250-59.
- Kirchhoff LV. 2006. American Trypanosomiasis (Chagas' disease). In: Guerrant R. L, Walker D. H and Weller P. F (Eds), *Tropical Infectious Diseases. Principles, Pathogens and Practice*. Elsevier, Churchill Livingstone. 1082-1094.
- Lent H, Wygodzinsky P. 1979. Revision of the triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bulletin American Museum of Natural History* 163: 124–520.
- López-Cárdenas J, González-Bravo FE, Salazar-Schettino PM. 2002. Distribución espacial de vectores de la enfermedad de Chagas en el estado de Guanajuato 1998–2000. *Acta Universitaria* 12(3): 64-69.
- Macedo AM, Machado CR, Oliveira RP, Pena SD. 2004. *Trypanosoma cruzi*: genetic structure of populations and relevance of genetic variability to the pathogenesis of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99:1-12.
- Manrique-Abril F, Ospina JM, Herrera G, Florez AC, Pavia PX, Montilla M, Nicholls RS, Puerta-Bulac C. 2013. Diagnóstico de enfermedad de Chagas en mujeres embarazadas y recién nacidos de Monquirá y Miraflores Boyacá, Colombia. *Infectio* 17:28–34.

- Martins AV, Gomes AP, Gomes de Mendonça E, Lopes Rangel Fietto J, Santana LA, Goreti de Almeida Oliveira M, Geller M, de Freitas Santos R, Vitorino RR, Siqueira-Batista R. 2012. Biology of *Trypanosoma cruzi*: An update. *Infectio* 6(1): 45-58.
- Miles MA, Cedillos RA, Povoá MM, Souza AA de, Prata AA, Macedo V. 1981. Do radically dissimilar *Trypanosoma cruzi* strains (zymodemes) cause Venezuelan and Brazilian forms of Chagas disease? *Lancet* 317:1338-40.
- Molina-Garza ZJ, Rosales-Encina JL, Galaviz-Silva L, Molina-Garza D. 2007. Prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en triatominos silvestres de Nuevo León, México. *Salud Publica Mex* 49:37-44.
- Moncayo A. 1997. Progress towards the elimination of transmission of Chagas disease in Latin America. *World Health Stat Q.* 50: 195-8.
- Montilla MM, Guhl F, Jaramillo C, Nicholls S, Barnabe C, Bosseno MF, Breniere SF. 2002. Isoenzyme Clustering of Trypanosomatidae Colombian Populations. *Am J Trop Med Hyg* 66:394-400.
- Mora MC, Sanchez-Negrette O, Marco D, Barrio A, Ciaccio M, Segura MA, Basombrío MA. 2005. Early diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection using PCR, hemoculture, and capillary concentration, as compared with delayed serology. *J Parasitol* 91:1468–1473.
- Morales JR. 1996. Aspectos clínicos de la enfermedad de Chagas. *Boletín de la Academia Nacional de Medicina de Buenos Aires.* Sup:71-88.
- Morel C, Chiari E, Camargo EA, Mattei DM, Romanha AJ, Simpson L. 1980. Strains and clones of *Trypanosoma cruzi* can be characterized by pattern of restriction endonuclease. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:6810-14.
- Moretti E, Basso B, Castro I. 2003. Estudio de transmisión materno fetal en embarazadas con enfermedad de Chagas aguda. *Medicina* 63:619-620.
- Moya P, Villagra L, Risco J. 1979. Enfermedad de Chagas Congénita: hallazgos anatomopatológicos en placenta y cordón umbilical. *Rev Fac Cienc Med Córdoba* 37:21-27.

- Moya P, Paolasso R, Blanco S, Lapacet M, Sanmartino C, Basso B, Moretti E, Cura D. 1985. Enfermedad de Chagas: Resultados terapéuticos en niños en los primeros meses de vida. *Medicina* 45:553-558.
- Moya PR. 1994. Enfermedad de Chagas en la infancia. En: *La Enfermedad de Chagas y el Sistema Nervioso*. OPS: Publicación Científica N° 547, pp. 189-194.
- Moya P, Moretti E. 1997. Doença de Chagas congénita. En: *Clinica e Terapêutica da Doença de Chagas*. Pinto Dias JC e Rodrigues Coura J (Eds). Fiocruz: Rio de Janeiro, pp. 33-99.
- Moya P, Basso B, Moretti E. 2005. Congenital Chagas disease in Córdoba, Argentina: epidemiological, clinical, diagnostic, and therapeutic aspects. Experience of 30 years of follow up. *Rev Soc Bras Med Trop* 38:33–40.
- Muelas S, Suárez M, Pérez R, Rodríguez H, Ochoa C, Escario JA, Gómez-Barrio A. 2002. In Vitro and in Vivo Assays of 3, 5-Disubstituted-Tetrahydro-2H-1,3,5-Thiadiazin-2-Thione Derivatives against *Trypanosoma cruzi*. *Memorias Instituto Oswaldo Cruz* 97(2): 269-272.
- Muñoz J, Portús M, Corachan M, Fumado V, Gascon J. 2007. Congenital *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic area. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 101:1161–1162. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2007.06.011>.
- Neves–Pinto AY, Gomes–Ferreira SM, Silva–Valente SA, Costa–Valente V, Gomes–Ferreira A. 2010. Alteraciones electrocardiográficas durante y después de tratamiento con benzonidazol en fase aguda de la enfermedad de Chagas autóctona de la Amazonía brasilena. *Rev Pan-Amaz Saude* 1(2):67-76. doi: 10.5123/S2176-62232010000200008
- Odagiu, S, Mayer JD. 2015. Chagas’ disease in Mexico: factors, surveillance, and recommendations. Proceedings of the National Conference On Undergraduate Research (NCUR). Disponible en: <https://ncurdb.cur.org/ncur2015/search/display/ncur.aspx?id=93432>
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2003. Control of Chagas disease: second report of the WHO expert committee. Fecha de consulta: 20 de noviembre de 2016. Disponible en: <http://www.who.int/iris/handle/10665/42738>
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2011. Enfermedad de Chagas. Fecha de consulta: 12 de diciembre de 2016. Disponible en:

[http://new.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&task=blogcategory&id=3591&Itemid=3921&lang=es](http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=3591&Itemid=3921&lang=es)

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2010. Chagas Disease: Control and Elimination. Fecha de consulta: 10 de diciembre del 2016. Disponible en: [http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA63/A63\\_17-en.pdf](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA63/A63_17-en.pdf)

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2013. Chagas Disease (American Trypanosomiasis). Fecha de consulta: 11 de diciembre de 2015. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>

OPS (Organización Panamericana de la Salud). 2006. Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas. Fecha de consulta: 04 de noviembre de 2015. Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5856&Itemid=40687&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5856&Itemid=40687&lang=es)

OPS (Organización Panamericana de la Salud). 2014. Regional Consultation on Organization and Structure of Health Care for the sick or infected with. In: Chagas' Disease: Scientific and Technical Materials. Fecha de consulta: 27 de septiembre de 2015. Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman%26task%3Ddocview%26gid%3D23129%26Itemid%3D%26lang%3Dfr+%&cd=9&hl=es-419&ct=clnk](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman%26task%3Ddocview%26gid%3D23129%26Itemid%3D%26lang%3Dfr+%&cd=9&hl=es-419&ct=clnk)

Padilla-Rodríguez JL, Guhl-Nannetti F, Soto-Mancipe J, Alvarez-Uribe G. 1999. Diagnóstico y terapéutica de las enfermedades transmitidas por vectores en Colombia. En: Sociedad Colombiana de Parasitología y Medicina Tropical, EMSA (eds). ILADIBA: Bogotá, pp. 128-135.

Paredes-Espinoza M, Paredes-Casillas P. 1996. Historia de las tripanosomiasis humanas. *Med Int Mex* 2:38-41.

Pinto-Dias JC, Rodríguez-Coura J. 2008. Emmanuel Dias and *Trypanosoma cruzi* discovery: two centennaries to celebrate. Rio de Janeiro, *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103:415-416.

Prata A. 2001. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis* 1: 92-100.

Ramsey JM, Ordoñez R, Cruz-Celis A, Alvear AL, Chavez V, Lopez R, Pintor JR, Gama F, Carrillo S. 2000. Distribution of domestic Triatominae and stratification of

Chagas disease transmission in Oaxaca, Mexico. *J Med Vet Entomol* 14:1–12. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2915.2000.00214.x>.

Ramsey JM, Peterson AT, Carmona-Castro O, Moo-Llanes DA, Nakazawa Y, Butrick M, Tun-Ku E, de la Cruz-Félix K, Ibarra-Cerdeña CN. 2015. Atlas of mexican triatominae (Reduviidae: hemiptera) and vector transmission of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 110: 339–352.

Rassi A, Borges C, Koeberle F, De Paula OH. 1958. Sobre a transmissao congénita da doenca de Chagas. *Rev Goiania Med.* 4:319-332.

Rassi AJr, Dias JC, Marin-Neto JA, Rassi A. 2009. Challenges and opportunities for primary, secondary, and tertiary prevention of Chagas' disease. *Heart* 95:524-34.

Rassi AJr, Rassi A, Marin-Neto JA. 2010. Chagas disease. *Lancet* 375(9723):1388-402. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60061-X

Reisenman CE, Lawrence G, GuerensteinPG, Gregory T, Dotson E, Hildebrand JG. 2010. Infection of kissing bugs with *Trypanosoma cruzi*, Tucson Arizona, USA. *Emerging Infectious Diseases* 16(3):400-405. doi:10.3201/eid1603.090648

Rendell VR, Gilman RH, Valencia E, Galdos-Cardenas G, Verastegui M, Sanchez L, Acosta J, Sanchez G, Ferrufino L, La Fuente C, Abastoflor MC, Colanzi R, Bern C. 2015. *Trypanosoma cruzi*-infected pregnant women without vector exposure have higher parasitemia levels: implications for congenital transmission risk. *PLoS One* 10(3): e0119527. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0119527> (eCollection).

Romanha AJ, da Silva Pereira AA, Chiari E, Kilgour V. 1979. Isoenzyme patterns of cultured *Trypanosoma cruzi* changes after prolonged subculture. *Comp Biochem Physiol* 62:139-42.

Ruegsegger GL, Monteón VM, Marcuschamer J, Reyes PA. 1993. Tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas). Encuesta clínico-serológica en un municipio rural oaxaqueño. *Arch Inst Cardiol Mex* 63:145-8.

Russomando G, Almirón M, Candia N, Franco L, Sánchez Z, de Guillen I. 2005. Implementación y evaluación de un sistema localmente sustentable de diagnóstico prenatal que permite detectar casos de transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en zonas endémicas del Paraguay. *Rev Soc Bras Med Trop* 38:49–54.

- Salazar-Schettino PM. 2003. Enfermedad de Chagas situación en México. *Gaceta Médica Méx* 39(3): S78–S80.
- Salazar-Schettino PM, Rosales-Piña J, Rojas-Wastavino G, Cabrera-Bravo M, Vences-Blanco MO. 2007. *Triatoma mexicana* (Hemiptera: Reduviidae) in Guanajuato México: house infestation and seasonal variation. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102(7):803-807.
- Saleme A, Yanicelli G, Iñigo L, Valperga S, Alonso E. 1971. Enfermedad de Chagas Mazza en Tucumán. *Arch Argent Pediatr* 69:162-16.
- Sánchez-Guillén MC, López-Colombo A, Ordóñez-Toquero G, Gomez-Albino I, Ramos-Jimenez J, Torres-Rasgado E, Salgado-Rosas H, Romero-Díaz M, Pulido-Pérez P, Pérez-Fuentes R. 2006. Clinical forms of *Trypanosoma cruzi* infected individuals in the chronic phase of Chagas disease in Puebla, Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101(7):733-40.
- Sandoval-Ruiz CA, Guevara R, Ibáñez-Bernal S. 2014. Household risk factors associated to infestation of *Triatoma dimidiata* the Chagas disease vector in Central Region of Veracruz, Mexico. *Salud Publica Mex* 56:213–220.
- Schmunis GA. 1999. La tripanosomiasis americana como problema de salud pública. En: *La enfermedad de Chagas y el sistema nervioso*. Washington, D. C. Organización Panamericana de la Salud (Publicación Científica núm. 547): 1 pp. 3–31.
- Schofield CJ. 1994. Triatominae. En: *Biología y Control*. W. Sussox (Eds): Eurocommunica Pubs: Inglaterra, pp. 77.
- Schofield CJ, Dias JCP. 1996. Introduction and historical overview. En: Schofield C. J, Dujardin J. P, Jurberg J. (Eds). *Taller Internacional sobre Genética Poblacional y Control de Triatóminos (INDRE): México, D.F*, pp. 11–16.
- Simpson L. 1972. The kinetoplast DNA of hemoflagellates. *Int Rev Cytol* 32: 139.
- Sosa-Estani S, Cura E, Velazquez E, Yampotis C, Segura EL. 2009. Etiological treatment of young women infected with *Trypanosoma cruzi*, and prevention of congenital transmission. *Rev Soc Bras Med Trop* 42:484–487.
- Souto R, Fernandes O, Macedo A, Campbell D, Zingales B. 1996. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Bioch Parasitol* 83:141-52.
- Tibayrenc M, Ayala FJ. 1991. Towards a population genetics of microorganisms: the clonal theory of parasitic protozoa. *Parasitol* 7:228-32.

- Tibayrenc M. 1998. Genetic epidemiology of parasitic protozoa and other infectious agents: the need for an integrated approach. *Int J Parasitol* 28:85-104.
- Torrice F, Alonso-Vega C, Suarez E. 2004. Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia. *Am J Trop Med Hyg* 70(2): 201-9.
- Trombotto G. 2002. Estudio epidemiológico sobre malformaciones congénitas en el Hospital Universitario de Maternidad y Neonatología UNC. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.
- Urbina JA y Docampo R. 2004. Specific chemotherapy of Chagas disease: Controversies and Advances. *Trends in Parasitology* 19: 495-501.
- Valdespino GJ. 1994. Enfermedades Tropicales en México. Diagnóstico, Tratamiento y Distribución Geográfica. En: Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica. México, D. F. pp 254-261.
- Velasco-Castrejón O, Valdespino JL, Tapia-Conyer R, Salvatierra B, Guzmán-Bracho C, Magos C, Llausás A, Gutiérrez G, Sepúlveda J. 1992. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. *Salud Pública Mex* 34: 186-196.
- Velázquez EB, Rivero R, De Rissio AM, Malagrino N, Esteva MI, Riarte AR, Ruiz AM. 2014. Predictive role of polymerase chain reaction in the early diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Acta Trop* 137:195-200.
- Vidal-Acosta V, Ibáñez-Bernal S, Martínez-Campos C. 2000. Infección natural de chinches Triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud pública Méx* 42(6): 496-503.
- Walpole RE, Myers RH, Myers SL, Keying Y. 2011. *Probability & Statistics for Engineers & Scientists*, 9th ed. Prentice Hall Boston, pp. 59-63.
- White IJ, Souabni A, Hooper NM. 2000. Comparison of the glycosyl-phosphatidylinositol cleavage/attachment site between mammalian cells and parasitic protozoa. *J Cell Sci* 113:721-727.
- Zárate LG, Zárate RJ. 1985. A checklist of triatominae (Hemiptera: Reduviidae) of Mexico. *Int J Entomol*. 27: 102-127.
- Zingales B. 1998. Molecular epidemiology of American trypanosomiasis in Brazil based on dimorphisms of rRNA and mini-exon gene sequences. *Int J Parasitol* 28(1):105-12.



## RESUMEN BIOGRÁFICO

Laura Mayela Montes Rincón

Candidata para el Grado de

Doctora en Ciencias con acentuación en Entomología Médica.

**Tesis:** EVALUACIÓN DEL RIESGO DE TRANSMISIÓN CONGÉNITA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EL ESTADO DE GUANAJUATO.

**Campo de Estudio:** Ciencias de la Salud.

**Datos personales:** Nacida en Celaya, Guanajuato el 01 de Enero de 1986, hija de José Manuel Montes Balderas y Norma Elva Rincón López.

**Educación:** Egresada del Instituto Tecnológico de Celaya, obteniendo el grado de Ingeniero Bioquímico con especialidad en Tratamiento de Aguas Residuales y residuos Sólidos en 2009.

**Experiencia Profesional:** Subjefe del área de Calidad en la empresa DIPASA de México S.A de C.V, Jefe del área de control microbiológico y Auditor Interno de Calidad en la misma empresa del 2008 al 2011. Asistente de investigación en el laboratorio de Patología Molecular y Experimental de la Universidad Autónoma de Nuevo León y Profesor en la preparatoria No. 23 desde 2016.

ISSN 0120-4157

# Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

## PUBLICACIÓN ANTICIPADA EN LINEA

El Comité Editorial de *Biomédica* ya aprobó para publicación este manuscrito, teniendo en cuenta los conceptos de los pares académicos que lo evaluaron. Se publica anticipadamente en versión pdf en forma provisional con base en la última versión electrónica del manuscrito pero sin que aún haya sido diagramado ni se le haya hecho la corrección de estilo.

Siéntase libre de descargar, usar, distribuir y citar esta versión preliminar tal y como lo indicamos pero, por favor, recuerde que la versión impresa final y en formato pdf pueden ser diferentes.

### Citación provisional:

**Montes-Rincón LM, Galaviz-Silva L, Molina-Garza ZJ.** Primer reporte de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en migrantes latinoamericanos en tránsito al cruce fronterizo México-USA. *Biomédica*. 2018;38(1).

Recibido: 02-08-16

Aceptado: 09-04-17

Publicación en línea: 18-04-17

**Primer reporte de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en migrantes latinoamericanos en tránsito al cruce fronterizo México-USA**

**Anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies in Latin-American migrants in transit to Mexico-USA border**

**Anticuerpos anti-*T. cruzi* en migrantes**

Laura Mayela Montes-Rincón, Lucio Galaviz-Silva, Zinnia Judith Molina-Garza  
Laboratorio de Patología Molecular y Experimental, Facultad de Ciencias  
Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León, México.

**Correspondencia:**

Lucio Galaviz-Silva, Departamento de Zoología de Invertebrados, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Unidad B, Avenida Universidad SN, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, CP 66451, México.

Telefono/fax: (+52) 81-8352-4425

lucio.galavizsl@uanl.edu.mx

**Contribución de los autores:**

Laura Mayela Montes: idea original y protocolo de investigación.

Lucio Galaviz-Silva: análisis serológicos, análisis de la información y organización de los datos de las encuestas.

Zinnia Judith Molina: coordinación de las encuestas y los análisis de laboratorio.

Todos los autores participaron en la elaboración y crítica del estudio estadístico y del manuscrito.

**Introducción.** En los últimos años, la tripanosomiasis americana se ha convertido en un problema de salud pública emergente en países receptores de poblaciones migrantes como México, Estados Unidos, Canadá o Europa.

**Objetivo.** Analizar la prevalencia de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en los migrantes latinos en su paso hacia Estados Unidos y Canadá, por medio de técnicas serológicas.

**Materiales y métodos.** Se realizaron análisis serológicos por ELISA y HAI para detectar anticuerpos anti-*T. cruzi* y encuestas socioeconómicas para determinar los factores asociados a los casos seropositivos que favorecieron la transmisión en el país de origen de los migrantes.

**Resultados.** La seroprevalencia total en la población estudiada fue del 20% (24/120). La más alta prevalencia se encontró en migrantes de Guatemala con 37,5% (6/16), seguida de Honduras (22,6%; 12/53), El Salvador (16%; 4/25) y México (8,7%; 3/23). Del total de los migrantes encuestados 105/120 (87,5%) de ellos reconocieron al vector y 62/105 (59%) afirmaron haber sido picados por estos. Las asociaciones de la infección con los materiales de construcción para las paredes de las viviendas, así como con la presencia de mascotas (perros) en los hogares fueron altamente significativas ( $p \leq 0,01$ ). El material de construcción del patio, los servicios básicos precarios, así como la cría de animales dentro de corrales en la periferia de los hogares también mostraron asociación significativa ( $p \leq 0,05$ ).

**Conclusión.** Los países no endémicos que reciben migrantes de zonas endémicas deben mejorar o desarrollar políticas de salud para prevenir la transmisión del parásito por transfusión o por vía congénita.

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*; enfermedad de Chagas; migrantes; estudios seroepidemiológicos; ensayo de inmunoadsorción enzimática; hemaglutinación.

**Introduction:** In recent years, American trypanosomiasis has become an emergent public health problem in countries receiving migrant populations such as Mexico, USA, Canada or Europe.

**Objective:** To analyze the prevalence by serologic techniques of Chagas disease in Latin American migrants on their way to USA and Canada.

**Material and methods:** ELISA and IHA were performed to detect anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies. Also, each participant filled out a socioeconomic questionnaire to determine the associated factors with seropositive cases, which could allow the transmission in the country of origin.

**Results:** The total seroprevalence among the studied population was 20% (24/120). The higher prevalence was found in migrants from Guatemala with 37.5% (6/16), followed by Honduras (22.6%; 12/53), El Salvador (16%; 4/25), and Mexico (8.7%, 3/23). From the total of surveyed migrants 105/120 (87.5%) recognized the Chagas disease vector, and 62/105 (59%) assured having been bitten by them. Highly significant statistical associations were found between infection and construction materials of walls and presence of pets (dogs) inside houses ( $p \leq 0.01$ ), while significant associations were found with the building materials of the backyard, inadequate basic services, and animal husbandry inside corrals, buildings around dwellings ( $p \leq 0,05$ ).

**Conclusion:** Non-endemic countries receiving migrants from endemic areas should enhance or develop better health policies to prevent the transfusional or congenital parasite transmission.

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*; Chagas disease; transients and migrants; seroepidemiologic studies; enzyme-linked immunosorbent assay; hemagglutination.



La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es causada por el protozoo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. El principal mecanismo de transmisión en países endémicos es vectorial, donde participan hemípteros como *Triatoma barberi* y *T. dimidiata* (1). El segundo mecanismo en importancia lo ocupan la transmisión por transfusión sanguínea y la transmisión congénita, esta última con una ocurrencia en promedio del 5% en los nacimientos en países endémicos, destacándose estas dos últimas vías de infección como los más importantes para la transmisión de la enfermedad de Chagas (2). Se estima que existen entre 8 y 10 millones de pacientes en estado crónico en el mundo y que anualmente ocurren 50.000 nuevos casos (3), con 25 millones de personas en riesgo de contraer la infección en países endémicos y una incidencia estimada de 42.500 casos anuales por transmisión vectorial y una mortalidad de 21.000 muertes anuales (4,5).

La enfermedad de Chagas es considerada la tercera infección parasitaria más común en todo el mundo, siendo la más importante en América Latina. También es una enfermedad emergente en Estados Unidos de América (EUA), Canadá y países europeos (España, Holanda, Suiza), Australia y Japón (6,7).

Históricamente los inmigrantes, se han considerado un factor clave para la diseminación de la enfermedad de Chagas a otros países, ya que la edad temprana en la que se da la migración es un factor importante para diseminar la enfermedad (8). Incluso los movimientos migratorios en busca de empleo de habitantes de zonas rurales donde la infección es más frecuente, los lleva hacia las zonas urbanas del mismo país, o más allá de las fronteras de Latinoamérica

cambiando de forma importante la epidemiología de esta enfermedad. De esta forma la enfermedad de Chagas ha dejado de ser exclusiva de Latinoamérica (9). La prevalencia de la enfermedad en estos países no endémicos es proporcional al número de inmigrantes procedentes de áreas endémicas y, a su vez, la prevalencia de portadores está determinada por la prevalencia en el país de origen (10). Estados Unidos de América (EUA) no debe ser clasificado como área no endémica de la enfermedad, al haberse reportado 11 especies de triatomíneos dentro de su territorio, reservorios selváticos como mapaches, tlacuaches y animales domésticos, además de que existen casos autóctonos de enfermedad de Chagas reportados en el país (11,12) con casi 300 mil habitantes infectadas con *T. cruzi* (13). Durante los últimos 15 años se ha reportado la mayor migración desde Latinoamérica hacia Europa y en este periodo un 10% del total de la población española ha estado compuesta por inmigrantes, de los cuales, cerca de 1,5 millones son originarios de Latinoamérica (14). En Europa se calculan entre 68 a 123 mil pacientes infectados con *T. cruzi* aproximadamente, pero hasta el año 2009 sólo se reportaron 4.290 casos (8,9), mientras que el número de personas afectadas por la enfermedad de Chagas en otros países oscila desde 140 en Australia hasta 12 mil en Inglaterra (15). El número real de personas infectadas por *T. cruzi* ha sido subestimado en países como EUA y Canadá debido a la escasez de datos sobre la cifra real de migrantes que ingresan en ellos. Por ello, el conocer la verdadera seroprevalencia de la infección chagásica en estos países representa un reto para los mismos (13).

El objetivo principal de este estudio fue determinar la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en migrantes centroamericanos y mexicanos en su trayecto hacia EUA y Canadá.

### **Materiales y métodos**

Se realizó un estudio de corte transversal con un muestreo dirigido que incluyó al total de la población de la casa de hospedaje temporal ubicada en la ciudad de Celaya Guanajuato, México, en el que participaron 120 migrantes que se dirigían hacia los EUA o Canadá. Este grupo estuvo compuesto por personas procedentes del sur de México y Centroamérica. En el criterio de inclusión se consideró la participación voluntaria, respetando los derechos humanos y su integridad personal, además de firmar un consentimiento por escrito por parte de los participantes. Se excluyeron del estudio personas que se negaron a participar en él, así como menores de edad sin el consentimiento de sus padres o tutores.

Se aplicó una encuesta socioeconómica para determinar los factores asociados al riesgo de transmisión vectorial (presencia referida de triatominos). Las preguntas se diseñaron de acuerdo a la metodología descrita en la Norma oficial mexicana NOM-032-SSA2-2002 (16). A estas encuestas se agregaron preguntas sobre la identificación de vectores, el conocimiento de la enfermedad e ilustraciones a color y en tamaño real de las especies de triatominos conocidas en la región de origen, para que así los participantes identificaran visualmente los vectores (17).

La toma de muestra se realizó por punción venosa utilizando un sistema Vacutainer (1,5 ml aproximadamente). El suero se separó por centrifugación (1200 g por 10 min) y se almacenó a -20 °C (18). El análisis de las muestras se realizó

por medio de dos pruebas diagnósticas de acuerdo a lo señalado en la norma oficial (16). Se ejecutó la técnica de ELISA con el estuche comercial recombinante (Chagatest ELISA. 4.0, Wiener Lab Group, Rosario, Argentina), siguiendo las instrucciones de acuerdo del protocolo del fabricante. La absorbancia (DO) se midió con un espectrofotómetro de microplacas a 450/620 nm (Multiscan MS; Thermo Labsystem, Waltham, MA). La línea de corte (LC) para separar a los casos seropositivos se calculó usando la ecuación  $LC = CN + 0.3 DO$ , donde CN = promedio de absorbancia de los controles negativos y DO = densidad óptica. La segunda técnica fue la de hemaglutinación indirecta (HAI) (Serodia-Chagas, Fujirebio Inc., Tokio, Japón), considerándose positivas todas aquellas muestras que presentaron reactividad a una dilución mayor o igual a 1:32. Para ambas técnicas, se utilizaron sueros de pacientes chagásicos crónicos originarios de Brasil y México como controles positivos, los cuales fueron proporcionados por el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez y el CINVESTAV-IPN, México, mientras que para los controles negativos se utilizaron sueros de individuos sanos. Para ambas técnicas, cada determinación se realizó por duplicado, incluidos los controles positivos y negativos (19,20).

### ***Análisis estadístico***

Se realizó un análisis estadístico en el que se elaboraron tablas de contingencia por  $\chi^2$  para determinar la asociación entre las características de las viviendas analizadas en la encuesta y el reconocimiento de los vectores como la principal vía de transmisión de la enfermedad en su país de origen, con el programa SPSS versión 17 (Chicago, IL).

### **Consideraciones éticas**

Esta investigación se realizó con el consentimiento informado de cada participante. La aplicación de encuestas y toma de muestras de sangre se realizó con apoyo de personal médico. Se les brindó ayuda médica en forma gratuita. Se siguieron las normas de bioética establecidas en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial en su versión adoptada en la LII Asamblea General de Edimburgo del año 2000 y el protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

### **Resultados**

Del total de los migrantes analizados, 97/120 (80,8%) de ellos eran procedentes de Centroamérica, la mayor proporción representada por Honduras (53/120, 44,2%), El Salvador (25/120, 20,8%) y México (23/120, 19,2%). En general, se observó una mayor proporción para el sexo masculino (103/120, 85,8%), cuyas edades oscilaron entre 18-45 años; en contraste con las mujeres 17/120 (14,2%), cuyas edades se encontraban entre 18-33 años (cuadro 1). La seroprevalencia en general fue del 20% (24/120).

La mayor seroprevalencia calculada de anticuerpos anti-*T. cruzi* fue de 37,5% (6/16) y corresponde a los migrantes originarios de Guatemala, siguiéndole Honduras con 22,6% (12/53) y El Salvador con una seroprevalencia de 16% (4/25), mientras que para México fue de 8,7% (2/23) (cuadro 1 y 2).

De los 24 casos determinados con anticuerpos anti-*T.cruzi*, 18/24 (75%) de ellos pertenecen al sexo masculino y 6/24 (25%) al sexo femenino, todas ellas en edad entre los 18-30 años. En cuanto a los hombres seropositivos, 10/18 (55,6%) de

ellos se encontraban en edad de entre 18-30 años, mientras que los 8/18 (44,4%) restantes tenían entre 31 y 45 años (cuadro 1).

De acuerdo a los resultados de las encuestas aplicadas a los migrantes, 89 (74,1%) de ellos tienen solo educación básica, 24 (20%) con carrera técnica y 7 (5,8%) son analfabetas (cuadro 1). Del total de los migrantes encuestados, 105/120 (87,5%) de ellos reconocieron al vector de la enfermedad de Chagas y 62/105 (59%) afirmaron haber sido picados por estos.

De acuerdo con los análisis de las encuestas socioeconómicas, para determinar la importancia de la presencia de los vectores como la principal vía de transmisión de la enfermedad, resultaron ser altamente significativos los materiales de construcción para las paredes de las viviendas, así como la presencia de mascotas (perros) en los hogares ( $p \leq 0,01$ ). En cuanto al material de construcción del patio, servicios básicos precarios, así como la cría de animales dentro de corrales en la periferia de los hogares resultó ser significativo ( $p \leq 0,05$ ) (cuadro 2).

## **Discusión**

Hoy en día, la enfermedad de Chagas sigue siendo una enfermedad desatendida y un problema de salud pública tanto en países desarrollados como en aquellos en desarrollo. Aunque es endémica del Continente Americano (20,21), su distribución mundial ha cambiado significativamente debido principalmente a los movimientos migratorios (22). De acuerdo a datos reportados por el Banco Mundial, los países que forman parte de América Latina y el Caribe, incluido México, son países que presentan los mayores índices de pobreza extrema, y poseen los niveles más

bajos de expectativas para satisfacer sus necesidades básicas en el futuro (23), motivo de su migración. El 100% de los participantes en este estudio aseguró que eran el hambre, la falta de oportunidades laborales en su país de origen y el precario nivel socioeconómico las principales razones de migrar. Al trasladarse a otras regiones esperaban elevar la calidad de vida de sus familias aun cuando esto los lleve a ingresar como indocumentados a otros países pasando todos los peligros de inseguridad, incomodidad y hambre.

En este estudio, el 20% de los migrantes que resultaron con anticuerpos para la enfermedad de Chagas desconocían sobre su padecimiento aunque el 87,5% conocían a los vectores. Los migrantes seropositivos al no conocer las consecuencias de la enfermedad de Chagas pueden actuar como fuentes de transmisión en regiones no endémicas, principalmente mujeres embarazadas y donadores de sangre (24). Una de las principales limitaciones para obtener estimaciones precisas de la enfermedad de Chagas es que se desconoce la seroprevalencia de esta infección en las poblaciones migrantes que habitan en Estados Unidos, Canadá y otros países del continente europeo. La misma probablemente difiere de los reportes en los países de América Latina y está estrechamente vinculada con el país y la región de origen (25). En el caso de países con alto índice de recepción migratoria, la seroprevalencia es bastante alta, ya que estos cuentan con una diversidad socioeconómica sustancial (6). Además de EUA, existen otros países en los que se ha reportado casos importados de la enfermedad de Chagas como son Canadá, Austria, Bélgica, Croacia, Dinamarca, Francia, Alemania, Italia, Reino de los Países Bajos, Portugal, Rumania, España,

Suecia, Suiza y el Reino Unido (26). En EUA, el diagnóstico generalizado de *T. cruzi* para donadores de sangre se inició en el 2007 debido al aumento en los casos reportados de la enfermedad de Chagas en 42 estados, destacándose California, Florida, Nuevo México y Texas con la mayor seroprevalencia de la enfermedad en hemodonadores (13). Aunque los movimientos migratorios de personas originarias de países endémicos son menores hacia Canadá, existe el reporte de casos positivos de la enfermedad de Chagas en la provincia de Manitoba y Quebec, mismos que fueron detectados durante el proceso de tamizaje para donadores de sangre (27).

Aunque la población muestreada para este estudio puede no ser representativa, la seroprevalencia general calculada fue de 20% (cuadro 1), valor concordante con los reportes de seroprevalencia para países como México. Para el caso de Guatemala y Honduras, se calculó una prevalencia mucho mayor a la reportada (21). Sin embargo, se ha indicado que la prevalencia de la enfermedad de Chagas presenta grandes variaciones incluso dentro del mismo país debido a que existen gradientes de endemismo de la enfermedad de acuerdo con la zona estudiada (28,29).

Los datos obtenidos en este estudio obligan a no subestimar el número de infecciones con *T. cruzi* presentes en migrantes que no solo llegan a esos países, sino que también se mueven hacia países del continente europeo o en su defecto, se quedan en algún estado de la República Mexicana alterando así la seroprevalencia calculada para ese territorio (21). En este estudio, el 78,3% corresponde a migrantes clasificados como adultos jóvenes, y un 21,7% a



migrantes clasificados como adultos maduros (cuadro 1). Se ha señalado la posibilidad de que la edad de la población migrante difiera del promedio de edad de la población en general de acuerdo a su país de origen. Es decir, una población migrante probablemente contendrá un menor número de adultos maduros, y estos podrían presentar una prevalencia de la enfermedad superior a la de la población general, pero también es probable que contenga mayor número de adultos jóvenes, cuya prevalencia de la enfermedad sería inferior a la de la población general (13). Lo anterior contrasta con lo reportado en este estudio, en el que 14,2% de las personas positivas está representado por adultos jóvenes, por lo que estos presentan una seroprevalencia mayor a la reportada para la población en general de acuerdo a su país de origen.

El mayor flujo de migrantes incluidos en el estudio, provenía de Honduras, siguiéndole El Salvador, México, Guatemala y Nicaragua, reportándose como destino final EUA (90,8%) y Canadá (9,2%) (cuadro 1), en contraste con el origen de los migrantes que llegan a Europa, donde destaca Bolivia (30).

La seroprevalencia reportada en donadores latinoamericanos en EUA es de 0,07% (31) y para Canadá fue de 1% en migrantes latinoamericanos y refugiados (32).

Aunque para ambos países la seroprevalencia calculada es baja, puede aumentar el riesgo en estos países de contraer la enfermedad de Chagas por medio de transfusión sanguínea o vía congénita.

El resultado del análisis estadístico de las encuestas socioeconómicas aplicadas en este estudio, subraya lo difícil que resulta la eliminación de la enfermedad de Chagas transmitida por vía vectorial en los países endémicos. Entre los factores

que contribuyen con esta situación destacan las precarias condiciones de vivienda de la población estudiada, principalmente por tener menos acceso a los servicios de salud, además de la ausencia de síntomas durante la enfermedad, lo que hace probable que las personas desconozcan tener serología positiva a *T. cruzi* y migren de su país de origen hacia zonas no endémicas. De esta manera, pueda diseminarse el parásito, ya sea por vía congénita o por transfusión sanguínea (33). Existen países o zonas dentro de un mismo país que son propensas a experimentar movimientos inmigratorios, en su mayoría debido al desarrollo económico que estos ofrecen, lo que sugiere que los patrones de migración de personas de diferentes regiones pueden ejercer una influencia en la prevalencia de la enfermedad de Chagas. Por lo tanto, los sistemas de salud de países no endémicos deben estar preparados para responder ante la enfermedad a fin de evitar nuevos casos de la infección principalmente por los mecanismos de transmisión congénita y transfusión sanguínea por migrantes de zonas endémicas, esto a través de medidas preventivas y de control que pueden ser aplicadas a los pacientes en las diferentes etapas de la enfermedad. México, como es un país de libre tránsito para centroamericanos, también presenta las consecuencias de migrantes infectados que se quedan por meses o tiempo indefinido en el país o que son deportados de los EUA hacia los estados fronterizos y se quedan a vivir en condiciones de pobreza, hacia los cuales se requiere una mayor atención diagnóstica, de prevención y atención médica.

## Agradecimientos

Al grupo de migrantes que participaron en el estudio y personal médico que participó en la toma de muestras, encuestas y consultas gratuitas para los participantes.

## Conflicto de intereses

Ninguno a declarar.

## Financiación

Este proyecto fue financiado por el Programa de Red Zoonosis Parasitaria 103.5/15/11043 de SEP-PRODEP.

## Referencias

1. **Montes-Rincón LM, Galaviz-Silva L, González-Bravo, FE, Molina-Garza, ZJ.** *Trypanosoma cruzi* seroprevalence in pregnant women and screening by PCR and microhaematocrit in newborns from Guanajuato, Mexico. Acta Trop. 2016;164:100-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.08.029>
2. **Carlier Y, Truyens C.** Congenital Chagas disease as an ecological model of interactions between *Trypanosoma cruzi* parasites, pregnant women, placenta and fetuses. Acta Trop. 2015;151:103-15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.06.013>
3. **Rassi A Jr, Dias JC, Marin-Neto JA, Rassi A.** Challenges and opportunities for primary, secondary, and tertiary prevention of Chagas' disease. Heart. 2009;95:524-34. <http://dx.doi.org/10.1136/hrt.2008.159624>
4. **Reisenman CE, Lawrence G, Guerenstein PG, Gregory T, Dotson E, Hildebrand JG.** Infection of kissing bugs with *Trypanosoma cruzi*, Tucson Arizona,

USA. *Emerging Infect Dis.* 2010;16:400-5.

<http://dx.doi.org/10.3201/eid1603.090648>

5. **World Health Organization (WHO)**. Chagas Disease: Control and Elimination 2010. Fecha de consulta: 10 de diciembre del 2015. Disponible en:

[http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA63/A63\\_17-en.pdf](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA63/A63_17-en.pdf)

6. **Requena-Méndez A, Aldasoro E, de Lazzari E, Sicuri E, Brown M, Moore DA, et al.** Prevalence of Chagas disease in Latin-American migrants living in

Europe: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.*

2015;9:e0003540. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003540>

7. **Barona-Vilar C, Giménez-Martí MJ, Fraile T, González-Steinbauer C, Parada C, Gil-Brusola A, et al.** Prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in pregnant

Latin American women and congenital transmission rate in a non-endemic area: the experience of the Valencian Health Programme (Spain). *Epidemiol Infect.*

2012;140:1896-903. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268811002482>

8. **Pinazo MJ, Gascon J.** The importance of the multidisciplinary approach to deal with the new epidemiological scenario of Chagas disease (global health). *Acta Trop.*

2015;151:16-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.06.013>

9. **Gascon J, Bern C, Pinazo MJ.** Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Trop.* 2010;115:22-7.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.07.019>

10. **Lucas RM, Barba MC.** Prevalence of American tripanosomiasis in pregnant women from a health area of Valencia, Spain. 2005–2007. *Rev Esp Salud Pública.*

2009;83:543-55.

11. **Enriquez GF, Bua J, Orozco MM, Wirth S, Schijman AG, Gürtler RE, et al.** High levels of *Trypanosoma cruzi* DNA determined by qPCR and infectiousness to *Triatoma infestans* support dogs and cats are major sources of parasites for domestic transmission. *Infect Genet Evol.* 2014;25:36-43.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2014.04.002>
12. **Kjos SA, Marcet PL, Yabsley MJ, Kitron U, Snowden KF, Logan KS, et al.** Identification of bloodmeal sources and *Trypanosoma cruzi* infection in triatomine bugs (Hemiptera: Reduviidae) from residential settings in Texas, the United States. *J Med Entomol.* 2013;50:1126-39. <http://dx.doi.org/10.1603/ME12242>
13. **Bern C, Montgomery SP.** An estimate of the burden of Chagas disease in the United States. *Clin Infect Dis.* 2009;49:52-54. <http://dx.doi.org/10.1086/605091>
14. **Instituto Nacional de Estadística (INE).** Población migrante en España hasta el primer semestre de 2015. Fecha de consulta: 14 de diciembre de 2015.  
Disponible en: <http://www.ine.es/prensa/np948.pdf>
15. **Guerri-Guttenberg RA, Grana DR, Ambrosio G, Milei J.** Chagas cardiomyopathy: Europe is not spared! *Eur Heart J.* 2008;29:2587-91.  
<http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehn424>
16. **Norma Oficial Mexicana, 2012.** NOM-017-SSA2-2012: Para la vigilancia epidemiológica. Fecha de consulta: 2 de enero de 2014. Disponible en:  
[http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5288225&fecha=19/02/2013](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5288225&fecha=19/02/2013)
17. **Rosecrans K, Cruz-Martin G, King A, Dumonteil E.** Opportunities for improved Chagas disease vector control based on knowledge, attitudes and practices of communities in the Yucatan Peninsula, Mexico. *PLoS Negl Trop Dis.*

2014;8:e2763. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002763>

18. **Galavíz-Silva L, Molina-Garza DP, González-Santos MA, Mercado-Hernández R, González-Galavíz JR, Rosales-Encina JL, et al.** Update on seroprevalence of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies among blood donors in northeast Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81:404-6

19. **World Health Organization.** Control of Chagas disease. Fecha de consulta: 14 de marzo de 2015. Disponible en:

[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42443/1/WHO\\_TRS\\_905.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42443/1/WHO_TRS_905.pdf)

20. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Parasites - American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease): Diagnosis. Fecha de consulta: 2 de diciembre del 2015. Disponible en:

[http://www.cdc.gov/parasites/chagas/health\\_professionals/dx.html](http://www.cdc.gov/parasites/chagas/health_professionals/dx.html)

21. **Organización Panamericana de la Salud (OPS).** Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas 2006. Fecha de consulta: 2 de enero del 2016.

Disponible en: <http://www.bvsops.org.uy/pdf/chagas19.pdf>

22. **Coura JR, Viñas PA.** Chagas disease: a new worldwide challenge. *Nature.* 2010;465:S6-S7. <http://dx.doi.org/10.1038/nature09221>

23. **Vakis R, Rigolini J, Lucchetti L.** Los Olvidados, Pobreza crónica en América Latina y el Caribe. Washington, D.C.: Banco Internacional de Reconstrucción y Fomento/Banco Mundial; 2015. Fecha de consulta: 2 de enero del 2016.

Disponible en:

<https://openknowledge.worldbank.org/bitstream/handle/10986/21552/Left%20Behind%20Overview%20SPANISH.pdf?sequence=5>

24. **Tanowitz HB, Weiss LM, Montgomery SP.** Chagas disease has now gone global. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5:e1136.  
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001136>
25. **Navarro M, Navaza B, Guionnet A, López-Vélez R.** Chagas disease in Spain: need for further public health measures. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6:e1962.  
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001962>
26. **World Health Organization.** New global effort to eliminate Chagas disease. Partners set out strategy against the 'kissing bug' disease. Fecha de consulta: 15 de diciembre de 2015. Disponible en:  
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr36/en/>
27. **Fearon MA, Scalia V, Huang M, Dines I, Ndao M, Lagacé-Wiens P.** A case of vertical transmission of Chagas disease contracted via blood transfusion in Canada. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2013;24:32-4.
28. **Guzman-Bracho C.** Epidemiology of Chagas disease in Mexico: an update. *Trends Parasitol.* 2001;17:372-6. [http://dx.doi.org/10.1016/S1471-4922\(01\)01952-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1471-4922(01)01952-3)
29. **Pew Hispanic Center (PHC).** Pew report: foreign born population at mid-decade. Fecha de consulta: 12 de diciembre de 2015. Disponible en:  
<http://www.pewhispanic.org/2006/10/17/a-statistical-portrait-of-the-foreign-born-population-at-mid-decade/>
30. **Ortí-Lucas RM, Parada-Barba MC, de la Rubia-Ortí JE, Carrillo-Ruiz A, Beso-Delgado M, Boone AL.** Impact of Chagas disease in Bolivian immigrants living in Europe and the risk of stigmatization. *J Parasitol Res.* 2014;2014:1-7.  
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/514794>

31. **Zaniello BA, Kessler DA, Vine KM, Grima KM, Weisenberg SA.**

Seroprevalence of Chagas infection in the donor population. *PLoS Negl Trop Dis.*

2012;6:e1771. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001771>

32. **Steele LS, MacPherson DW, Kim J, Keystone JS, Gushulak BD.** The sero-

prevalence of antibodies to *Trypanosoma cruzi* in Latin American refugees and

immigrants to Canada. *J Immigr Minor Health.* 2007;9:43-7.

<http://dx.doi.org/10.1007/s10903-006-9014-x>

33. **Klotza SA, Dorn PL, Klotz JH, Pinnas JL, Weirauch C, Kurtz JR, et al.**

Feeding behavior of triatomines from the southwestern United States: An update

on potential risk for transmission of Chagas disease. *Acta Trop.* 2009;111:114-8.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.03.003>



**Cuadro 1.** Población migrante de acuerdo a su lugar de origen y seroprevalencia por sexo, edad y destino final.

Entre paréntesis se presenta el número de casos positivos por sexo y edad.

Origen	N (H/M)	Total +/-%	Población de migrantes (prevalencia oficial)*	Nivel de estudios (%)	Hacia USA (positivos)				Hacia Canadá			
		H(%) / M(%)			Hj	Hm	Mj	Mm	Hj	Hm	MJ	MM
El Salvador	25(21/4)	4/16 3 (2,5)/ 1 (0,8)	12.390(3,4)	2(1,7) <sup>a</sup> 23(19,2) <sup>b</sup>	18 (2)	3 (1)	3 (1)	1	-	-	-	-
Guatemala	16(13/3)	6/37,5 4 (3,3)/ 2 (1,6)	40.091(2)	12(10) <sup>b</sup> 4(3,3) <sup>c</sup>	9 (2)	4 (2)	3 (2)	-	-	-	-	-
Honduras	53(44/9)	12/22,6 9 (7,5)/ 3 (2,5)	28.851(3,1)	5(42) <sup>a</sup> 39(32,5) <sup>b</sup> 9(7,5) <sup>c</sup>	27 (5)	9 (4)	7 (3)	1	5 <sub>2)</sub>	2	1	1
México	23(22/1)	2/8,7 2 (1,6)/0	317.000(1)	12(10) <sup>b</sup> 11(9,1) <sup>c</sup>	17 (1)	3 (1)	1	-	1	1	-	-
Nicaragua	3(3/0)	0 0/0	708(7,2)	3(2,5) <sup>b</sup>	2	1	-	-	-	-	-	-
Total	120(103/17)	24/20 18/6	NA	NA								

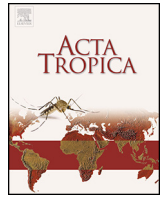
H= Hombre; M= Mujer. j= Jóvenes (18-30 años); m=maduros (31-45).

\* OPS y CDC (Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas) (20,21).

a= analfabetas; b= educación primaria/secundaria; c= carrera técnica/preparatori

**Cuadro 2.** Encuestas socioeconómicas que reflejan las condiciones de vivienda de los migrantes latinoamericanos que propician la presencia de triatominos en sus hogares.

Variable	Total (%)	Presencia referida de triatominos (%)	$\chi^2$	Significancia
<b>Material del piso:</b>				
Cemento	95 (79,2)	60 (50)	0,72	0,276
Tierra	25 (20,8)	16 (13,3)		
<b>Material de la pared:</b>				
Adobe	28 (23,3)	28 (23,3)	24,12	0
Block	21 (17,5)	16 (13,3)		
Enjarre	60 (50)	28 (23,3)		
Madera	11 (9,2)	7 (5,8)		
<b>Material del techo:</b>				
Palma	15 (12,5)	10 (8,33)	3,84	0,147
Lámina	51 (42,5)	38 (31,7)		
Concreto	54 (45)	31 (25,8)		
<b>Material de patio:</b>				
Tierra	87 (72,5)	61 (50,8)	8,14	0,018
Cemento	33 (27,5)	18 (15,0)		
<b>Servicios básicos:</b>				
Agua potable	68 (56,7)	38 (31,7)	2,71	0,0729
Agua de pipa	52 (43,3)	38 (31,7)		
Sanitario	64 (53,3)	33 (27,5)	9,48	0,022
Letrina	56 (46,7)	43 (35,8)		
<b>Presencia de animales:</b>				
Mascota:				
No tiene	31 (25,6)	17 (14,2)	8,29	0,004
Perro	89 (74,4)	66 (55)		
<b>Corral:</b>				
No tiene	51 (42,5)	27 (22,5)	6,74	0,031
Gallinas	59 (49,2)	45 (37,5)		
Cerdos	10 (8,3)	7 (5,8)		



## Trypanosoma cruzi seroprevalence in pregnant women and screening by PCR and microhaematocrit in newborns from Guanajuato, Mexico



Laura Mayela Montes-Rincón<sup>a</sup>, Lucio Galaviz-Silva<sup>a</sup>, Francisco Ernesto González-Bravo<sup>b</sup>, Zinnia Judith Molina-Garza<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Patología Molecular y Experimental, Ave. Universidad SN, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León 66451, Mexico

<sup>b</sup> Secretaría de Salud del Estado de Guanajuato, Hospital General Regional de León, León, Guanajuato 37320, Mexico

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 9 March 2016

Received in revised form 21 July 2016

Accepted 31 August 2016

Available online 3 September 2016

#### Keywords:

Congenital Chagas disease

Seroprevalence

Pregnant women

*Trypanosoma cruzi*

Guanajuato

### ABSTRACT

Chagas disease is caused by an infection with the protozoan hemoflagellate *Trypanosoma cruzi*, and it is a major endemic health problem in Latin America. The congenital route is one of the main non-vectorial pathways of transmission, which can arise either in the chronic or acute phase of maternal infection. Serological screening of *T. cruzi* infection was performed in 520 pregnant women and newborns at the Hospital General Regional de León, Guanajuato, Mexico, between 2014 and 2015. Anti-*T. cruzi* antibodies were detected in 20 mothers (4%) by ELISA and HIA with four PCR-positive newborn cases. Risk factors were identified according to an epidemiological survey, and the most significant ( $P < 0.050$ ) factors associated with *T. cruzi* infection were the building materials of dwellings, the presence of pets and dwellings located in rural areas. This study constitutes the first systematic study on congenital Chagas disease and the epidemiological risk factors in Guanajuato. Our results represent the probability of an incidence of 770 cases per 100,000 births during a period of 12 months, with a vertical transmission rate by 0.8%, which highlights the necessity to establish reliable serological and PCR tests in pregnant women to prevent vertical transmission. However, it is also important to follow-up the newborns from seropositive mothers for one year, which is necessary, as many children yielded negative results.

© 2016 Published by Elsevier B.V.

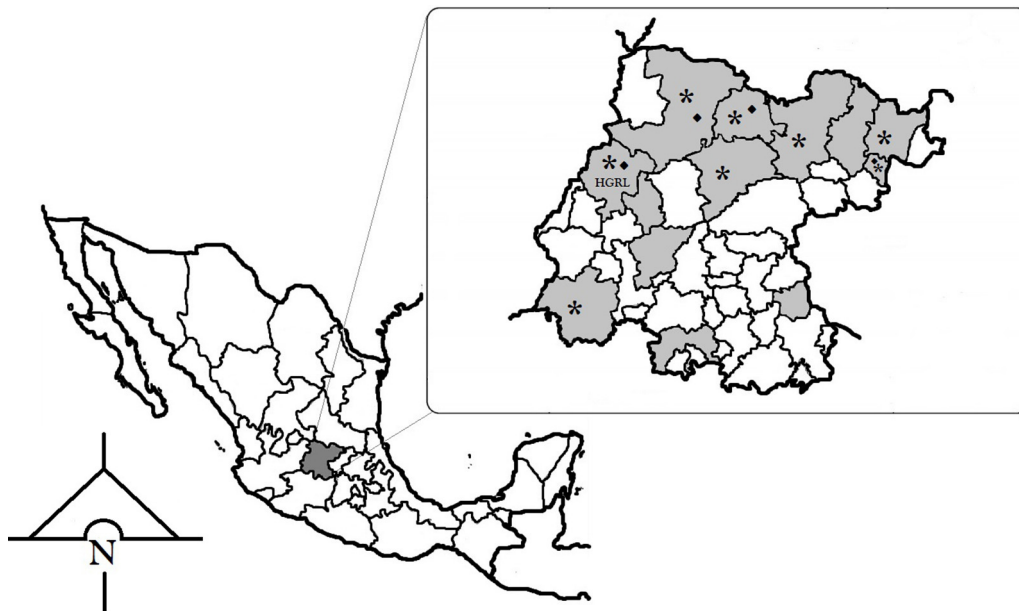
### 1. Introduction

Chagas disease (CHD) is caused by an infection with the protozoan hemoflagellate *Trypanosoma cruzi*, and it is a major endemic health problem in Latin American. It is also known as American trypanosomiasis. This disease is widespread and endemic from South America northward to the southern United States of America and is usually transmitted to humans by blood-feeding triatomines known as “kissing bugs” or “bug-nosed.” However, it can also be spread via non-vectorial routes, such as blood transfusion, congenital transmission, organ transplantation, food contamination with bug feces or laboratory accidents (Rassi et al., 2010). Currently in Latin America, approximately 1,125,000 women of child-bearing age are infected with *T. cruzi*, and this infection kills approximately 10,000 people annually (WHO, 2015). Congenital transmission can occur during the acute or chronic phase of CHD of an infected mother (Carlier and Truyens, 2015). The prevalence of *T. cruzi* infec-

tion in pregnant women is variable among different countries, geographic areas or inclusive, at urban cities, ranging from 1 to 70.5% (Oliveira et al., 2010). In particular, in countries from the South Cone of Latin America, the reported rate of congenital transmission varies from 1 to 12% (Carlier and Torrico, 2003). Newborns infected with *T. cruzi* can progress to a severe condition and may potentially become lethal (Torrico et al., 2004), although in non-endemic areas, the main transmission pathway is congenital, which is more important than organ transplantation or blood transfusion (WHO, 2015). Vector control programs and serologic screening of blood donors could be the best alternative for the prevention of congenital cases (Carlier and Torrico, 2003; PAHO, 2014). Studies among pregnant women and their newborns previously done in Celaya, Guanajuato, reported uncertain “seroprevalences”, among 0.4–0.9% in mothers and cord blood, as tested by ELISA and Stat-Pak (Gamboa-León et al., 2011) techniques. However, there is a scarcity of reports concerning the congenital route of *T. cruzi* and the risk factors involved in Mexico and non-endemic countries (Carlier and Truyens, 2010). The aims of the present study were to analyze the presence of anti-*T. cruzi* antibodies in pregnant women and to assess the rate of infection in newborns of Guanajuato, Mexico

\* Corresponding author.

E-mail address: [molinazinnia@hotmail.com](mailto:molinazinnia@hotmail.com) (Z.J. Molina-Garza).



**Fig. 1.** Study area. Map of Mexico, Guanajuato state marked in dark gray. The patients' municipality of origin is marked in light gray. Positive cases of pregnant women are marked with an asterisk. Congenital transmission cases are marked with a dot. HRGL marks the hospital's municipality location.

by parasitological and molecular techniques, without comparing them, since this type of studies have been reported by others (Mora et al., 2005; Velázquez et al., 2014).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Sample size and study design

This study was done in Guanajuato state, located in north-central Mexico and which represents a 1.6% of the Mexican territory. Samples were collected over a yearly period, from February 2014 to March 2015 at the Obstetrics and Gynecology Department of Hospital General Regional de León (HGRL), which provided medical care to the population of Guanajuato state (Fig. 1). This study was performed with a sample size of 520 pregnant women, which was calculated from a population of 777,217 women of child-bearing age reported in Guanajuato state according to the 2012 census (INEGI, 2012). Our final sample exceeded the calculated sample size of 384 according to the prevalence reported in a Mexican community (0.8%) (Sosa-Estani et al., 2008), with the equation:

$$n = \frac{Z^2 pq}{E^2}$$

Where:  $Z$  = Absolute precision;  $p$  = prevalence reported;  $q = (1-p)$ ;  $E$  = Standard error. The absolute precision was 1.96, confidence level of 97.5% and  $E = 1.36$  (Walpole et al., 2011).

A questionnaire was given to the enrolled participants to determine the epidemiological profile of the dwellings related to vectorial transmission and other individual risk factors associated with potential non-vectorial transmission, such as their age, blood transfusion (or blood products), gestational age, birthplace and time of residence, and number of deliveries. The questionnaire ascertained information on their place of birth, age, sex, and region and location of home village. Another set of questions (independent variables) was designed according to the methodology suggested by the Official Mexican Standards for surveillance, prevention, and control of vector-transmitted diseases (NOM, 2012) to evaluate the household characteristics and pet ownership (dogs and cats). Knowledge of triatomine bugs inside or around dwellings was eval-

uated showing a set of color photos of eggs, each triatomine nymph stadia and adults (male and female) of representative species of the region.

### 2.2. Inclusion criteria

Pregnant women were invited to be included in the congenital CHD protocol, at arrival to HRGL, of which 520 accepted to participate, whereas 285 refused to be included on this study. Inclusion criteria for pregnant women included (i) the mother's acceptance to participate in this research; (ii) being a resident of the study area; and (iii) a gestational age among 6th–9th month, according to Capurro method and the last menstrual period (Capurro et al., 1978; Berg, 1991). Informed consent forms were signed after detailed interviews, and a sample of maternal blood was collected in addition to a sample of the umbilical cord blood at the time of delivery and they allowed a follow-up of their newborn children. Women under 18 years old were included only with the consent of their parents. Exclusion criteria were (i) no acceptance or return to the study protocol, and (ii) inconclusive (when only one of two serological tests used is positive, or when they do not express the positive or negative standards of the methods) or negative (when both serological test used express the negative control).

### 2.3. Serologic test for pregnant women

Blood samples were taken in vacutainers (B & D) from the peripheral vein of women at the time of delivery. The serum was separated by centrifugation (1200g for 10 min), and the samples were stored at  $-20^\circ\text{C}$  until further analyses by serological tests (Galavíz-Silva et al., 2009). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA; Chagatest ELISA recombinant v. 4.0; Wiener Laboratory, Rosario, Argentina) was performed according to the manufacturer's protocol. The absorbance was measured spectrophotometrically at 450/620 nm (Multiscan MS; Thermo Labsystem, Waltham, MA). Each test was performed in duplicate. Positive sera from chronic chagasic patients from Brazil and Mexico, provided by the Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chavez, D.F., Mexico, and negative sera from healthy individuals were used as the controls for each test. The cut-off (CO) value was calculated according to the

**Table 1**  
Birthplace of mothers sampled at Hospital General Regional de León, the prevalence of *T. cruzi* infection and transmission rate of Chagas disease to newborns.

Birthplace of mothers	Samples by locality n (%)	Seropositive mothers (%)	Positive cord PCR (%)
– Foreign mothers*			
Chiapas	2 (0.4%)	1 (0.2%)	-
Mexico City	5 (1%)	2 (0.4%)	1 (0.2%)
Hidalgo	2 (0.4%)	-	-
Jalisco	4 (0.8%)	1 (0.2%)	-
Michoacán	3 (0.6%)	-	-
Puebla	1 (0.2%)	-	-
– Mothers born in Guanajuato			
Apaseo el Alto	1 (0.2%)	-	-
Dolores Hidalgo	8 (1.5%)	2 (0.4%)	-
Irapuato	12 (2.3%)	-	-
León	195 (37.5%)	1 (0.2%)	-
Pénjamo	4 (0.8%)	1 (0.2%)	-
San Diego	51 (9.8%)	3 (0.6%)	1 (0.2%)
San Felipe	57 (10.9%)	5 (1%)	1 (0.2%)
San Luis de la Paz	44 (8.4%)	2 (0.4%)	-
Santa Catarina	33 (6.3%)	1 (0.2%)	-
Silao	82 (15.8%)	-	-
Victoria	9 (1.7%)	-	-
Xichú	5 (1%)	1 (0.2%)	1 (0.2%)
Yuriria	2 (0.4%)	-	-
Total:	520 (100%)	20 (4.0%)	4 (0.8%)

n = samples by locality; - = Negative test.

\* Foreign mothers: Defined as women that were born in another state, but are currently living in Guanajuato.

manufacturer's instructions using the equation  $CO = NC + 0.3 OD$ , where NC = the average absorbance of the negative controls and OD = optical density. The indirect hemagglutination assay (IHA; SERODIA-Chagas; Fujirebio, Tokyo, Japan) was performed according to the manufacturer's instructions. Reactive samples at dilution  $\geq 1:32$  were considered a positive test. All samples were analyzed in duplicate, including the control positive and negative sera described above. A positive sample is defined as a sample clearly positive by two different serological techniques, without inconclusive results (WHO, 2002; CDC, 2014).

#### 2.4. Identification of *Trypanosoma cruzi* infection by parasitological and PCR tests in newborns

For microhaematocrit test, six heparinized capillary tubes were filled with 70  $\mu$ l of cord blood each one at delivery; tubes were centrifuged at 3000g for 1 min and after centrifugation, each tube was cut with a diamond point marker between the buffy coat and the erythrocyte pellet. The buffy coat was placed in a slide and covered with a coverslip, and the complete coverslip area was analyzed at 40 $\times$  and 100 $\times$  under the microscope (Velázquez et al., 2014).

The PCR was performed with a blood sample of 0.5 ml from the umbilical cord, which was immediately mixed with EDTA 0.2 M, pH 8 and stored at 4 °C until processing. Total DNA was extracted from 300  $\mu$ l of whole blood sample with DNAzol (Invitrogen, San Diego, California) and incubated for 24 h. Next, 300  $\mu$ l of chloroform was added and incubated for 15 min at 25 °C. After incubation, samples were centrifuged at 12,000 rpm for 10 min, and the aqueous phase was poured into a fresh tube. The DNA was concentrated via ethanol precipitation, and the pellet was washed once with 70% ethanol, resuspended in 50  $\mu$ l TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA) and stored at 4 °C until further use. A PCR test targeted to the minicircle region of kDNA was performed using primers S35 and S36 to amplify a repetitive sequence of 330 base pair (Virreira et al., 2003). The PCR reactions were performed using 2  $\mu$ l of extracted DNA as a template (10–15 ng), 1 U of Taq DNA polymerase (QIAGEN, MA), 0.2 mM of each dNTP, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 5  $\mu$ l of 10 $\times$  reaction buffer provided by the manufacturer, and RNase-free deionized water to obtain a total volume of 50  $\mu$ l. An initial DNA denaturalization step was performed at 94 °C for 5 min, followed by 35 cycles of DNA denat-

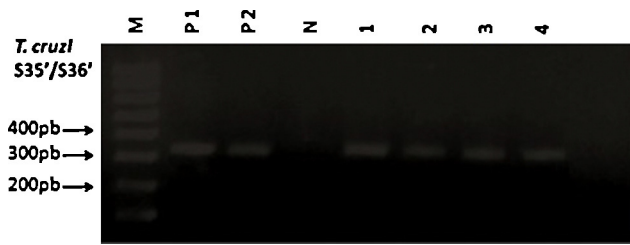
urization at 94 °C for 30 s, alignment at 57 °C for 10 s and chain elongation at 72 °C for 30 s, ending with a final elongation period at 72 °C for 5 min (Ramsey et al., 2012). The reactions were performed in a DNA multigene thermocycler (Labnet, MA, USA). The negative control contained DNA extracted from healthy newborns from *T. cruzi*-seronegative mothers, and the positive control contained epimastigotes *T. cruzi* DNA from a culture in LIT medium. To monitor the quality of the extraction and the presence of PCR inhibitors, each sample was also tested for the amplification of the housekeeping gene with  $\beta$ -glob-forward (5'-CCTTGTCCCTAAGTCCAA-3') and  $\beta$ -glob-reverse (5'-CCTCACCTTCTTCATGGAG-3') amplifying a product of 200 bp (Virreira et al., 2003). The PCR products were electrophoresed in 2% agarose gels in TAE buffer (40 mM Tris, 40 mM acetate, 1 mM EDTA), stained with 0.5  $\mu$ g/ml ethidium bromide and imaged under UV light (Sambrook and Russell, 2001).

#### 2.5. Statistical analyses

The association between positive samples and risk factors was calculated by constructing contingency tables; in addition, the  $\chi^2$  (Chi-squared) with a significance level of 95% was calculated. The odd ratios (OR) were calculated using SPSS version 17 (Chicago, IL).

### 3. Results

The overall seroprevalence of *T. cruzi* infection among the 520 mothers was 4% with 20 positives detected by both techniques without inconclusive results. Nearly all of the women (503, 96.7%) were autochthonous of Guanajuato state, from 13 different municipalities, and 16 women demonstrated anti-*T. cruzi* antibodies. The rest of the sampled population (17/3.3%) was from another state of the country, but their current residence place was Guanajuato state, four of whom were seropositive. Most of the seropositive cases of mothers who attended the HGRL came from San Felipe (5/57) and San Diego (3/51), followed by Dolores Hidalgo and San Luis de la Paz (Table 1). Although most pregnant women lived in Leon and Silao (195 and 82, respectively), only one positive mother was reported from Leon. In this study, four positive umbilical cords were found in three autochthonous mothers from Guanajuato (San Felipe, San



**Fig. 2.** PCR from the umbilical cords of newborns from *T. cruzi*-seropositive mothers. M = DNA Marker (100-bp); P1 and P2 = Positive controls; N = Negative control; 1–4 = PCR samples of newborns' umbilical cords.

Diego and Xichú); and the last positive umbilical cord was obtained from a mother born in Mexico City (Table 1).

With regard to the main risk factor associated with CHD transmission in positive mothers, the presence of pets (OR = 1.9;  $P = 0.017$ ) was found as the highest significant risk factor, followed by the residence place located at rural areas (OR = 1.1;  $P = 0.040$ ), walls constructed of brick and adobe (OR = 2.1;  $P = 0.044$ ), and ceiling constructed of concrete (OR = 2.2;  $P = 0.049$ ) but all them unplastered. The type of floor construction material was not significant (OR = 1.0;  $P = 0.141$ , Table 2). Moreover, 16.9% of pregnant women (88/520) from the rural area of Guanajuato were able to identify the vectors of CHD, and 11 of the women (12.5%, 11/88) reported having been bitten by triatomines.

Approximately 6.3% of dwellings (31–33/520) showed neglected public services (potable water or drainage and sewerage), and although this factor may not have any direct effect on *T. cruzi* infection, three seropositive pregnant women were found without any of these services (Table 2).

The youngest women aged 14–24 years showed the highest risk factor associated with congenital transmission (OR = 2.4;  $P = 0.000$ ), particularly if they were between their first or second delivery (OR = 1.7;  $P = 0.003$ ). Four women were seropositive (16%, 4/25) with only a newborn positive for *T. cruzi* by PCR from the group of twenty five mothers (25/520) who reported their participation as a blood donor; but no significance was found as a risk factor for vertical transmission ( $P = 0.880$ ). Two women (11.76%) were seropositive for anti-*T. cruzi* antibodies from the group of 17 mothers who had participated as blood receptors, however, no PCR-positive results were found in samples from umbilical cords (Table 3).

The PCR results from the umbilical cord blood of *T. cruzi*-seropositive mothers showed four positive cases (20%, Fig. 2). Amplification of the housekeeping gene was obtained in all of the

analyzed samples; however, microhaematocrit tests were negatives.

#### 4. Discussion

This is the first systematic study of seroprevalence of anti-*T. cruzi* antibodies in pregnant women and congenital transmission of CHD seroprevalence in Guanajuato state. This study demonstrated a total seroprevalence of *T. cruzi* antibodies of 4% in pregnant women with an index of 20% positive umbilical cords by PCR from 20 seropositive mothers. In addition, the main risk factors involved in the CHD transmission, included building materials of houses, dwellings located in rural places and the presence of pets. The scarcity of information on the prevalence of *T. cruzi* infection in pregnant women and newborns indicated that this disease is underestimated because a routine analysis was not performed in the obstetrics or gynecology hospitals to diagnose infected mothers or newborns. Thus, most children who are congenitally infected will remain without treatment (Muñoz et al., 2007). The control and prevention of CHD transmission, particularly via the congenital route, is one of the main goals of the World Health Organization (WHO, 2013), which indicates that opportune diagnostics of mother and baby are important issues to prevent this pathology and avoid the spread of disease.

According to our epidemiological surveys, 88 mothers reported the presence of intra domiciliary triatomines (16.9%), but only three seropositives were confirmed to have been bitten by bugs. Although this finding was not significant, we thought that it could have an effect on the prevalence of infection associated with the rural setting of domiciles, where triatomines have domestic and peridomestic habitats (Ramsey et al., 2000). Furthermore, a higher seroprevalence of anti-*T. cruzi* antibodies was found in pregnant women from rural areas of Guanajuato state (15 mothers), where the inhabitants are easily infected by the presence of infected vectors (Cucunubá et al., 2014). Other significant risk factors identified in this study included the building materials of dwellings, such as unplastered walls and ceiling, because these surfaces are easily used as appropriate hiding by triatomines (Bustamante et al., 2009; Sandoval-Ruiz et al., 2014). In Guanajuato state, the presence of the triatomines species has been reported and is considered among the most epidemiologically important areas due to the higher vectorial capacity. Such species include *Triatoma barberi*, *T. dimidiata*, *T. longipennis* and *T. pallidipennis* (López-Cárdenas et al., 2005; Ramsey et al., 2015). The presence of pets associated with the transmission of *T. cruzi* was significant, and domestic dogs and cats have been previously identified as major sources of parasites for domes-

**Table 2**  
Risk factors associated with building materials of dwellings, public services, and pets.

Variable	Total	Positives	OR	95% CI	X2	P-value
Ceiling construction material						
Concrete vs. roofing/lamine	420/100	14/6	2.2	2–8.4	7.2	0.049
Wall construction material						
Plastering vs. brick and adobe	147/373	9/11	2.1	0.8–5.1	5.1	0.044
Flooring construction material						
Cement floor vs. Tile floor	426/94	18/2	1	0.9–1	2	0.141
Basic services						
Potable water supply Yes/No	487/33	19/1	0.8	0.1–0.9	0.1	0.633
Drainage and sewerage vs. Latrine	489/31	17/3	0.5	0.1–0.6	0.6	0.338
Pets						
Yes/No	377/143	15/5	1.9	0.3–2.5	5	0.017
Livestock						
Yes/No	46/474	3/17	0.5	0.2–1.9	10.2	0.710
Domiciliary triatomines						
Yes/No	88/432	3/17	0.9	0.1–1.1	6.4	0.815
Place of residence						
Rural or urban	455/65	15/5	1.1	0.9–1.8	6.8	0.040



**Table 3**  
Risk factors directly associated with pregnant women and their seropositivity of Chagas disease in Guanajuato state, Mexico.

Variable	Total	Positives	OR	CI	P
Women's Age: 14–24 vs. 25–48	327/193	16/4	2.4	0.8–7.40	0.000
N° of deliveries: 1–2 vs. 3–6	467/53	17/3	1.7	0.5–5.8	0.003
Blood donor: Yes vs. No	25/495	4/16	0.2	0.1–0.7	0.880
Recipient of Blood transfusion: Yes or No	17/503	2/18	0.3	0.2–0.8	0.713
Bitten by kissing-bugs: Yes or No	11/509	3/17	0.6	0.5–1.1	0.691

tic transmission in Mexico, Texas and Argentina (Kjos et al., 2013; Enriquez et al., 2014; Odagiu and Mayer, 2015).

Only two *T. cruzi*-infected mothers (3.8%, 2/520) received blood transfusions at least once in their lifetime, while four *T. cruzi*-infected mothers participated as blood donors (0.8%, 4/520). The overall prevalence reported by blood banks in Latin America was 1.3%, with 0.6% specifically for Mexico (PAHO, 2006). The estimated participation as blood donors in this study reached a rate of 4.8% (25/520). Although this result could suggest the low probability of acquiring the infection by this route, it highlights the necessity to install a universal screening for blood donors, particularly for pregnant women, and within this scenario, our health authorities could improve their efforts to reduce the prevalence of CHD in the country. This is recommended by the Initiative of Central America and Mexico (PAHO, 2014), particularly in non-endemic states, where it remains poorly recognized and most physicians consider it to be an “exotic” disease. Thus, they cannot provide a diagnosis and treatment to prevent and remediate this pathology (Bonney, 2014).

This study demonstrated a direct association among the seroprevalence of *T. cruzi* antibodies and younger-age mothers with low number of deliveries; both factors were highly significant, which may be because parasitemia declines with age, as the frequency of transmission would be greater among young mothers (Bittencourt, 1992). This highlights the importance of performing an earlier detection of CHD as previously described (PAHO, 2014). Congenital transmission of *T. cruzi* cannot be prevented during pregnancy; however, diagnosis and early treatment in newborns is a better recommended strategy (Muñoz et al., 2007). Pregnant women between 22 and 26 years of age from Colombia and Paraguay showed similar seroprevalence of CHD (2–4%) compared to our results (4%). Nevertheless, the congenital transmission reported was higher (20–30%) (Russomando et al., 2005; Manrique-Abril et al., 2013; Cucunubá et al., 2014). The rate of congenital transmission reported for other endemic and non-endemic regions of South America ranges from 1% to 12% (Carlier and Torrico, 2003; Torrico et al., 2004). Although, it appears that in Mexico, this epidemiologic threat is characterized by the highest rates reported to Oaxaca, Jalisco and Mexico states where the prevalence among mothers was 4.4, 4.12, and 12.02%, respectively, and transmissions to their newborns were between 11.9 and 20% (Jiménez-Cardoso et al., 2012). Mothers and children from Mayan communities in Yucatan ranged between 4.4% and 0.7% (Gamboa-León et al., 2014), which supports the importance of CHD in pregnant women and newborns. Taking these rates as a whole, it is obvious that *T. cruzi* transmission is active in several regions of Mexico.

Although there are no guaranteed mechanisms to avoid congenital transmission in endemic countries, a control over the major routes of transmission is suggested, such as the vectorial and transfusional, in addition to the recommended anti-parasitic treatment (nifurtimox and benznidazol) to reduce the prevalence in infected women. In addition, a warranty over a control strategy based on laboratory diagnosis of infected neonates is suggested to prevent mortality and side effects by congenital CHD and to decrease pre- and post-neonatal morbidity (Carlier and Torrico, 2003).

Several studies have indicated that over 50% of congenitally infected infants developed clinical manifestations with a fatality

rate of up to 14% (Carlier and Torrico, 2003). Although the totality of congenital cases reported here does not have strong clinical evidence, some 60–90% of congenital cases can present non-specific or heterogeneous symptoms (Freilij and Altcheh, 1995; Altcheh et al., 2005; Brutus et al., 2008), or oligosymptomatic cases, i.e., babies who present with severe cases of meningoencephalitis, myocarditis or respiratory distress syndrome (RDS) (White et al., 2000; Torrico et al., 2004). In addition, other congenital infections may be commonly identified with the acronym TORCH (*Toxoplasma gondii*, rubella virus, cytomegalovirus, and herpes simplex virus), and in untreated cases, the infection could progress to chronicity (Carlier et al., 2012).

Currently there is an official consensus to consider parasitological test close to birth as the gold standard test for the diagnosis of congenital Chagas disease, and although PCR technique is under evaluation and has not been validated for the diagnosis of congenital infection (Carlier et al., 2011) it might improve the early detection (Velázquez et al., 2014; Rendell et al., 2015). Over more, the PCR could be considered also as an early diagnostic method besides the microhaematocrit and hemoculture, and with this group of tests might establish evidence for congenital *T. cruzi* infection before the mother and child leave the maternity ward (Mora et al., 2005). Although is considered that parasitological techniques offer a rapid and definitive diagnosis allowing a faster initiation of treatment, recent reports had shown several disadvantages for them (1) it requires skilled personnel and assured quality control, which may not be available in primary health care facilities (Carlier et al., 2011) (2) parasitological methods are highly specific, but lack sensitivity if parasitemias are too low (<40) for direct detection (3) microhaematocrit likely misses around of 50% of infected children and hemoculture may easily increase this proportion (Mora et al., 2005; Velázquez et al., 2014).

We obtained negative results for microhaematocrit test, perhaps due to the low parasitic loads obtained in the four positive cases. Since the current standardized technique is based in microhaematocrit it had demonstrated lower level of detection at low parasite load (Feilij et al., 1983), and over more, few blood parasites in some children are below of the limit of sensibility or specificity (40 parasites/ml) (Velázquez et al., 2014), which should be considered in diagnostic procedures since it has been reported a congenital transmission in chronic phase occurs in pregnant women with parasitemias among 10–20 parasites/ml (Rendell et al., 2015). Also, the uneven distribution of few parasites in small samples can show negative results in parasitological diagnostic (Mora et al., 2005). A new consideration might be taken account for PCR, because this technique demonstrate much higher sensitivity for early diagnosis (Mora et al., 2005; Bern et al., 2011; Velázquez et al., 2014). Thus in this study, using PCR technique, we determined four positive samples for *T. cruzi* infection from newborns, currently they are follow up in HGRL for medical care and clinical observation, which will continue until their second year of life using serologic techniques that can be assure the absence of antibodies, (Jackson et al., 2010), because has been proved the effectiveness of treatment of CHD in infected children during the first year of life yielded therapeutic success in nearly 100% of cases (Moya et al., 2005),

the treatment for *T. cruzi*-infected pregnancy in women remains controversial (Sosa-Estani et al., 2009).

## 5. Conclusion

This study determined for the first time the seroprevalence of *T. cruzi* in pregnant women in Guanajuato as well as the rate of congenital transmission by PCR, as it has been underestimated as a public health problem in Mexico. The calculated index of congenital transmission was 20% (4/20), from 20 seropositive mothers and four PCR-positive umbilical cords. These findings were similar to those reported from Oaxaca, an endemic state, although Guanajuato state is not considered endemic. In addition, the calculated incidence in this study of the congenital transmission of Chagas disease was 770 cases per 100,000 births during a period of 12 months. This finding highlights the importance of performing serological tests in all populations of pregnant women to prevent the transmission from one generation to another (vertical transmission).

## Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this study.

## Ethics statement

This study was performed in compliance with the Declaration of Helsinki in its V amendment and with respect for human rights, as stipulated in the Constitution of the United Mexican States. This protocol was approved by both the Ethics Committee and Research School of Biological Sciences at the Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) and by the HGRL ethics committee. Analyses were performed according to the Biosafety laboratory Experimental and Molecular Pathology protocol.

## Acknowledgments

We are very grateful to the gynecology and obstetrician team of the HRGL for their help and support with all of our activities. We also thank all of the pregnant women who participated in this study. We specifically thank the “Red de Cuerpos Académicos SEP-PROMEP” for the project “Zoonosis Parasitarias” 2016, grant N° 103.5/15/11043.

## References

- Altcheh, J., Biancardi, M., Lapeña, A., Ballering, G., Freilij, H., 2005. Congenital Chagas disease: experience in the hospital de Niños, Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38, 41–45.
- Berg, A.T., 1991. Menstrual cycle length and the calculation of gestational age. *Am. J. Epidemiol.* 133, 585–589.
- Bern, C., Martin, D.L., Gilman, R.H., 2011. Acute and congenital Chagas disease. *Adv. Parasitol.* 75, 19–47. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-385863-4.00002-2>.
- Bittencourt, A.L., 1992. Possible risk factors for vertical transmission of Chagas' disease. *Rev. Inst. Med. Trop. de São Paulo* 34, 403–408.
- Bonney, K.M., 2014. Chagas disease in the 21st century: a public health success or an emerging threat? *Parasite* 21, 11. <http://dx.doi.org/10.1051/parasite/2014012>.
- Brutus, L., Schneider, D., Postigo, J., Romero, M., Santalla, J., Chippaux, J.P., 2008. Congenital Chagas disease: diagnostic and clinical aspects in an area without vectorial transmission Bermejo, Bolivia. *Acta Trop.* 106, 195–199.
- Bustamante, D.M., Monroy, C., Pineda, S., Rodas, A., Castro, X., Ayala, V., Quiñones, J., Moguel, B., Trampe, R., 2009. Risk factors for intradomiciliary infestation by the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata* in Jutiapa, Guatemala. *Cad. Saude Publica* 25, 83–92.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2014. Parasites – American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease): Diagnosis, [http://www.cdc.gov/parasites/chagas/health\\_professionals/dx.html](http://www.cdc.gov/parasites/chagas/health_professionals/dx.html) (accessed 14.03.03.).
- Capurro, H., Konichezky, S., Fonseca, D., Caldeyro-Barcia, R., 1978. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *J. Pediatr.* 93, 120–122.
- Carlier, Y., Torrico, F., 2003. Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 36, 767–771.
- Carlier, Y., Truyens, C., 2010. Maternal–fetal transmission of *Trypanosoma cruzi*. In: Telleria, J., Tibayrenc, M. (Eds.), *American Trypanosomiasis – Chagas Disease. One Hundred Years of Research*. Elsevier, London, UK, pp. 539–581.
- Carlier, Y., Truyens, C., 2015. Congenital Chagas disease as an ecological model of interactions between *Trypanosoma cruzi* parasites, pregnant women, placenta and fetuses. *Acta Trop.* 151, 103–115.
- Carlier, Y., Torrico, F., Sosa-Estani, S., Russomando, G., Luquetti, L., Freilij, H., Albajar-Vinas, P., 2011. Congenital Chagas disease: recommendations for diagnosis, treatment and control of newborns, siblings and pregnant women. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 5, e1250. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001250>.
- Carlier, Y., Truyens, C., Deloron, P., Peyron, F., 2012. Congenital parasitic infections: a review. *Acta Trop.* 121, 55–70.
- Cucunubá, Z.M., Valencia-Hernández, C.A., Puerta, C.J., Sosa-Estani, S., Torrico, F., Cortés, J.A., Ramírez, J.D., Veraf, M.J., Acostag, B.X., Álvarez, C.A., Muller, E.Á., Beltrán, M., Bermúdez, M.I., Berrío, M., Camacho-Morenok, G., Castellanos, Y.Z., Criollo, I., Flórez, A.C., Guerra-Morales, P., Herazoa, R.A., Hernández, D.C., León, C.M., Medina-Camargo, M., Medina-Alfonso, M., Pachón, E., Paez-Fonseca, B., Parra, M.L., Pavia, P.X., Quiróz, F.R., Ríos, L.C., Roar, N.L., Torres, F., Uribe-Rivero, L.M., 2014. Primer censo colombiano sobre Chagas congénito y orientación clínica a mujeres en edad fértil con diagnóstico de Chagas. *Infectio* 18, 50–65.
- Enriquez, G.F., Bua, J., Orozco, M.M., Wirth, S., Schijman, A.G., Gürtler, R.E., Cardinal, M.V., 2014. High levels of *Trypanosoma cruzi* DNA determined by qPCR and infectiousness to *Triatoma infestans* support dogs and cats are major sources of parasites for domestic transmission. *Infect. Genet. Evol.* 25, 36–43.
- Feilij, H., Muller, L., Gonzalez-Cappa, S.M., 1983. Direct micromethod for diagnosis of acute and congenital Chagas' disease. *J. Clin. Microbiol.* 18, 327–330.
- Freilij, H., Altcheh, J., 1995. Congenital Chagas' disease: diagnostic and clinical aspects. *Clin. Infect. Dis.* 21, 551–555.
- Galaviz-Silva, L., Molina-Garza, D.P., González-Santos, M.A., Mercado-Hernández, R., González-Galaviz, J.R., Rosales-Encina, J.L., Molina-Garza, Z.J., 2009. Update on seroprevalence of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies among blood donors in northeast Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 81, 404–406.
- Gamboa-León, R., Gonzalez-Ramirez, C., Padilla-Raygoza, N., Sosa-Estani, S., Caamal-Kantun, A., Buekens, P., Dumonteil, E., 2011. Do commercial serologic tests for *Trypanosoma cruzi* infection detect Mexican strains in women and newborns? *J. Parasitol.* 97, 338–343.
- Gamboa-León, R., Ramirez-Gonzalez, C., Pacheco-Tucuch, F.S., O'Shea, M., Rosecrans, K., Pippitt, J., Buekens, P., 2014. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* among mothers and children in rural Mayan communities and associated reproductive outcomes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 91, 348–353.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía), 2012. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=11> (accessed 15.10.10.).
- Jackson, Y., Alirol, E., Getaz, L., Wolff, H., Combesure, C., Chappuis, F., 2010. Tolerance and safety of nifurtimox in patients with chronic Chagas disease. *Clin. Infect. Dis.* 51, e69–e75. <http://dx.doi.org/10.1086/656917>.
- Jiménez-Cardoso, E., Campos-Valdéz, G., Cortes-Campos, A., de la Luz-Sanchez, R., Rivera-Mendoza, C., Plascencia-Hernández, A., Hernández-Ramírez, M., Ruiz-Habana, J., Bonilla-González, E., Damian-Matzumura, P., Carlier, Y., 2012. Maternal fetal transmission of *Trypanosoma cruzi*: a problem of public health little studied in Mexico. *Exp. Parasitol.* 131, 425–432.
- Kjos, S.A., Marcet, P.L., Yabsley, M.J., Kitron, U., Snowden, K.F., Logan, K.S., Dotson, E.M., 2013. Identification of bloodmeal sources and *Trypanosoma cruzi* infection in triatomine bugs (Hemiptera: reduviidae) from residential settings in Texas, the United States. *J. Med. Entomol.* 50, 1126–1139.
- López-Cárdenas, J., Gonzalez-Bravo, F.E., Salazar-Schettino, P.M., Gallaga-Solorzano, J.C., Ramirez-Barba, E., Martinez-Mendez, J., Sánchez-Cordero, V., Peterson, A.T., Ramsey, J.M., 2005. Fine-scale predictions of distributions of Chagas disease vectors in the state of Guanajuato, Mexico. *J. Med. Entomol.* 42, 1068–1081.
- Manrique-Abril, F., Ospina, J.M., Herrera, G., Florez, A.C., Pavia, P.X., Montilla, M., Nicholls, R.S., Puerta-Bulac, C., 2013. Diagnóstico de enfermedad de Chagas en mujeres embarazadas y recién nacidos de Moniquirá y Miraflores Boyacá, Colombia. *Infectio* 17, 28–34.
- Mora, M.C., Sanchez-Negrette, O., Marco, D., Barrio, A., Ciccio, M., Segura, M.A., Basombrío, M.A., 2005. Early diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection using PCR, hemoculture, and capillary concentration, as compared with delayed serology. *J. Parasitol.* 91, 1468–1473.
- Moya, P., Basso, B., Moretti, E., 2005. Congenital Chagas disease in Córdoba, Argentina: epidemiological, clinical, diagnostic, and therapeutic aspects. Experience of 30 years of follow up. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38, 33–40.
- Muñoz, J., Portús, M., Corachan, M., Fumado, V., Gascon, J., 2007. Congenital *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic area. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 101, 1161–1162. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2007.06.011>.
- NOM, 2012. Norma Oficial Mexicana-017-SSA2-2012, Para la vigilancia epidemiológica. [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5288225&fecha=19/02/2013](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5288225&fecha=19/02/2013) (accessed 02.01.14.).
- Odagiu, S., Mayer, J.D., 2015. Chagas' disease in Mexico: factors, surveillance, and recommendations. Proceedings of the National Conference On Undergraduate Research (NCUR). [https://ncurdb.cur.org/ncur2015/search/display\\_ncur.aspx?id=93432](https://ncurdb.cur.org/ncur2015/search/display_ncur.aspx?id=93432) (accessed 15.12.09.).



- Oliveira, I., Torrico, F., Muñoz, J., Gascon, J., 2010. Congenital transmission of Chagas disease: a clinical approach. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 8, 945–956. <http://dx.doi.org/10.1586/eri.10.74>.
- PAHO (Pan American Health Organization), 2006. Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas, [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5856&Itemid=40687&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5856&Itemid=40687&lang=es) (accessed 15.11.04.).
- Pan American Health Organization (PAHO), 2014. Regional Consultation on Organization and Structure of Health Care for the sick or infected with. In: Chagas' Disease: Scientific and Technical Materials, [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5856&Itemid=40687&lang=es-419&ct=clnk](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5856&Itemid=40687&lang=es-419&ct=clnk) (accessed 15.09.27.).
- Ramsey, J.M., Ordoñez, R., Cruz-Celis, A., Alvear, A.L., Chavez, V., Lopez, R., Pintor, J.R., Gama, F., Carrillo, S., 2000. Distribution of domestic Triatominae and stratification of Chagas disease transmission in Oaxaca, Mexico. *J. Med. Vet. Entomol.* 14, 1–12. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2915.2000.00214.x>.
- Ramsey, J.M., Gutiérrez-Cabrera, A.E., Salgado-Ramírez, L., Townsend, P.A., Sánchez-Cordero, V., Ibarra-Cerdeña, C.N., 2012. Ecological connectivity of *Trypanosoma cruzi* reservoirs and *Triatoma pallidipennis* hosts in an anthropogenic landscape with endemic Chagas disease. *PLoS ONE* 7, e46013. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0046013>.
- Ramsey, J.M., Peterson, A.T., Carmona-Castro, O., Moo-Llanes, D.A., Nakazawa, Y., Butrick, M., Tun-Ku, E., de la Cruz-Félix, K., Ibarra-Cerdeña, C.N., 2015. Atlas of Mexican triatominae (Reduviidae: hemiptera) and vector transmission of chagas disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 110, 339–352.
- Rassi, A., Rassi Jr., A., Marin-Neto, J.A., 2010. Chagas disease. *Lancet* 375, 1388–1402.
- Rendell, V.R., Gilman, R.H., Valencia, E., Galdos-Cardenas, G., Verastegui, M., Sanchez, L., Acosta, J., Sanchez, G., Ferrufino, L., La Fuente, C., Abastoflor, M.C., Colanzi, R., Bern, C., 2015. *Trypanosoma cruzi*-infected pregnant women without vector exposure have higher parasitemia levels: implications for congenital transmission risk. *PLoS One* 10 (3), e0119527. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0119527> (eCollection).
- Russomando, G., Almirón, M., Candia, N., Franco, L., Sánchez, Z., de Guillen, I., 2005. Implementación y evaluación de un sistema localmente sustentable de diagnóstico prenatal que permite detectar casos de transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en zonas endémicas del Paraguay. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38, 49–54.
- Sambrook, J., Russell, D.W., 2001. *Molecular Cloning. In: A Laboratory Manual*, third ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Sandoval-Ruiz, C.A., Guevara, R., Ibáñez-Bernal, S., 2014. Household risk factors associated to infestation of *Triatoma dimidiata* the Chagas disease vector in Central Region of Veracruz, Mexico. *Salud Publica Mex.* 56, 213–220.
- Sosa-Estani, S., Gamboa-León, M.R., del Cid-Lemus, J., Althabe, F., Alger, J., Almdares, O., Cafferata, M.L., Chippaux, J.P., Dumontel, E., Gibbons, L., Padilla-Raygoza, N., Schneider, D., Belizán, J.M., Buekens, P., Working Group, 2008. Use of a rapid test on umbilical cord blood to screen for *Trypanosoma cruzi* infection in pregnant women in Argentina, Bolivia, Honduras and Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 79, 755–759.
- Sosa-Estani, S., Cura, E., Velazquez, E., Yampotis, C., Segura, E.L., 2009. Etiological treatment of young women infected with *Trypanosoma cruzi*, and prevention of congenital transmission. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 42, 484–487.
- Torrico, F., Alonso-Vega, C., Suarez, E., Rodriguez, P., Torrico, M.C., Dramaix, M., Truyens, C., Carlier, Y., 2004. Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 70, 201–209.
- Velázquez, E.B., Rivero, R., De Rissio, A.M., Malagrino, N., Esteva, M.I., Riarte, A.R., Ruiz, A.M., 2014. Predictive role of polymerase chain reaction in the early diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Acta Trop.* 137, 195–200.
- Virreira, M., Torrico, F., Truyens, C., Alonso-Vega, C., Solano, M., Carlier, Y., Svoboda, M., 2003. Comparison of polymerase chain reaction methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 68, 574–582.
- WHO (World Health Organization), 2002. Control of Chagas Disease, [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42443/1/WHO\\_TRS\\_905.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42443/1/WHO_TRS_905.pdf) (accessed 13.01.08.).
- WHO (World Health Organization), 2013. Chagas Disease (American Trypanosomiasis), <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/> (accessed 15.12.11.).
- WHO (World Health Organization), 2015. Chagas Disease in Latin America: An Epidemiological Update Based on 2010 Estimates, <http://www.who.int/wer/2015/wer9006/en/> (accessed 15.03.12.).
- Walpole, R.E., Myers, R.H., Myers, S.L., Keying, Y., 2011. *Probability & Statistics for Engineers & Scientists*, 9th ed. Prentice Hall Boston.
- White, I.J., Souabni, A., Hooper, N.M., 2000. Comparison of the glycosyl-phosphatidylinositol cleavage/attachment site between mammalian cells and parasitic protozoa. *J. Cell Sci.* 113, 721–727.