



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Químicas

TESIS

“Determinación de factores de riesgo asociados a la seropositividad a anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en niños alojados en el internado de primaria del municipio de Xayacatlán de Bravo de la mixteca poblana”

Tesis presentada para obtener el título de licenciado en Químico Farmacobiólogo

Presenta:

QFB. Ricardo Cuatlayotl Olarte

Asesor de Tesis:

M. en C. José Ángel Francisco Flores Hernández

Diciembre 2015

Agradecimientos

Al Dr. Lino Zumaquero Rios y al Laboratorio de Parasitología y Vectores de la Facultad de Biología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por permitirme colaborar en el desarrollo de este proyecto de gran impacto en el Estado de Puebla y en el país.

Al M. en C. José Ángel F. Flores Hernández por su supervisión y observaciones en la elaboración de este material, mismas que ayudaron a mejorar la calidad del mismo.

A mis padres Manuel Cuatlayotl Barbosa y Patricia Olarte Padilla, por el precioso regalo de la vida, y por todo su amor y apoyo durante cada etapa de mi vida.

A mis Hermanos Irais y Fernando, y a mi pequeño sobrino Santiago por su cariño y cada momento que hemos compartido juntos.

A mi novia Biól. Estefany Luna Espinosa quien ha sido mi más grande apoyo durante los últimos 3 años, por todo su amor y comprensión, y porque sin ella, yo no hubiera colaborado en este proyecto.

A toda mi familia, primos, tíos, abuelos y bisabuelos, quienes han sido una parte muy importante de mi vida y me han llevado a ser una persona plena y feliz.

A la familia de mi novia madre, padre, hermana, tíos, tías y abuela quienes han sido un gran apoyo en tiempos recientes.

Resumen

En México se han descrito 34 especies de Triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) reportados como vectores del parásito flagelado *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) causante de la tripanosomiasis americana. En el estado de Puebla se han informado casos crónicos de tripanosomiasis americana, el sistema de salud mexicano requiere información de la cantidad de personas infectadas actualmente, así como del nivel de riesgo de infección vectorial.

Teniendo conocimiento de esta deficiencia de información, se realizaron encuestas socioeconómicas y entomológica, además de un estudio serológico por las técnicas ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) y Western blot en niños indígenas alojados en dos albergues de comunidades del municipio de Xayacatlán de Bravo, Puebla, México,

En la búsqueda entomológica fueron colectados especímenes de *Meccus pallidipenis*, los cuales se encontraban en diferentes estadios de desarrollo, estos fueron buscados tanto en el intradomicilio, como en el peridomicilio.

Entre los índices entomológicos de Silveira, se obtuvo un alto grado de dispersión y de infección natural, los cuales corresponden a 67% y 33.3% respectivamente. Se observaron una gran cantidad de factores de riesgo; como pobreza extrema, falta de desarrollo del sistema de salud y de educación.

En la determinación de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* mediante las técnicas de ELISA, y Western blot para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* se obtuvieron 4 de 54 casos seropositivos, lo que equivale a una seroprevalencia de 7.4%.

Igualmente se realizó un índice Kappa de los análisis, lanzando una concordancia de 0.9 y una concordancia esperada de 0.78, estos valores brindan el valor de Kappa en 0.6, indicando así una Fuerza de Concordancia Moderada.

Contenido

1.	Antecedentes	6
1.1.	Tripanosomiasis Americana	6
1.2.	Tripanosomiasis en Latinoamerica	10
1.3.	Xayacatlán de Bravo.....	13
1.4.	Diagnóstico por laboratorio de la tripanosomiasis americana	14
2.	Definición del Problema.....	16
3.	Justificación.....	17
4.	Objetivo General	18
4.1.	Objetivos Específicos.	18
5.	Hipótesis.....	19
6.	Diseño de la investigación	20
6.1.	Tipo de estudio	20
6.2.	Definición del universo.....	20
6.3.	Tamaño de la muestra.....	20
6.4.	Tipo de muestreo	20
6.5.	Criterios de selección	20
6.6.	Variables y definición de variables	20
6.7.	Manejo estadístico de los datos y pruebas estadísticas	21
6.8.	Aspectos bioéticos	21
7.	Diagrama de trabajo	22
8.	Materiales y métodos.....	23
8.1.	Área de estudio.....	23
8.2.	Determinación de IMC.....	23
8.3.	Obtención de Muestras sanguíneas.	23
8.4.	Obtención de los Antígenos de Trypanosoma cruzi.....	23
8.5.	Ensayos serológicos.....	24
8.6.	Inmunodiagnóstico Western Blot.	25
8.7.	Observación del parásito en heces del vector	28
8.8.	Evaluación socioeconómica.	28
8.9.	Obtención de índices entomológicos	29
9.	Organización	31
9.1.	Recursos humanos	31
9.2.	Recursos materiales	31
9.3.	Recursos financieros	31



10.	Resultados	32
10.1.	Resultados de pruebas ELISA para detección de anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> . 36	
10.2.	Resultados de la técnica Western blot para la detección de anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i>	38
10.3.	Resultados de Encuestas socioeconómicas	33
10.4.	Índices Entomológicos	35
10.5.	Resultados del Índice kappa	39
11.	Discusión	40
12.	Conclusión	45
13.	Bibliografía	46
14.	Anexos	52
14.1.	Encuesta aplicada a los tutores de los infantes	52

1. Antecedentes

1.1. Tripanosomiasis Americana

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas, es una zoonosis provocada por el protozooario flagelado *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) (Chagas, 1909), el cual es transmitido a personas y a reservorios animales principalmente por los triatominos (Hemiptera: Reduviidae), los cuales son insectos hematófagos comúnmente llamados: chinche voladora, vaquillas, chinche besucona, entre otros nombres (Paz *et al.*, 2005).

Esta enfermedad persiste como problema en algunos países de América Latina, y del mundo (Voelker, 2009), esto es debido a la migración continua de recursos humanos de países endémicos hacia Estados Unidos de América y otros países industrializados (Jackson *et al.*, 2010, Tanowitz *et al.*, 2011). Se estima que a nivel mundial hay entre 16 y 18 millones de personas infectadas por el parásito, de los cuales entre 8 y 11 millones se encuentran en Latinoamérica, arrojando una estimación de 50, 000 muertes por año (OPS, 2006).

Entre los medios de transmisión del protozooario, además de los Triatominos destacan: transfusiones sanguíneas, trasplante de órganos (Machado, 2013), transmisión congénita y por vía oral (la cual es ocasionada al consumir alimentos infectados con heces de los vectores) (Herrera *et al.*, 2011), siendo la transfusión sanguínea considerada como el segundo mecanismo más importante para la transmisión de *Trypanosoma cruzi*, sobre todo en comunidades colonizadas por triatominos (Pinto-Días *et al.*, 1992).

T. cruzi completa su ciclo de vida entre el vector y diferentes especies de mamíferos, por ello presenta diferentes y especializadas formas a lo largo de su ciclo de vida. El parasito presenta 3 formas descritas, una es su forma de tripomastigote metacíclico (forma infectante) la cual traspasa las barreras primarias de defensa (piel, uñas) mediante heridas o vía oftálmica, ya dentro del huésped se encuentra circulando en sangre como tripomastigote (forma extracelular), esta forma invade las células del

manifestaciones clínicas como chagomas: lesiones cutáneas de entrada que pueden pasar desapercibidas, al ser confundido el piquete del vector por un piquete de otro insecto., En el caso de que la infección sea a nivel de la conjuntiva, se puede presentar el signo de Romana, así como sudoración excesiva, dolor muscular, fiebre, bronconeumonías y miocarditis aguda, comúnmente la sintomatología presentada es confundida por otros padecimientos comunes debido a que en la mayoría de las ocasiones no es severa y puede ser controlada con medicamentos de cuadro básico, sin embargo algunos casos pueden agravarse debido a un sistema inmune deprimido provocado la muerte del paciente, esto suele suceder de manera particular en infantes. El paciente sobreviviente presentará, consecuentemente disminución de estos primeros síntomas en los primeros meses y conforme evolucione clínicamente cesaran parcial o completamente, simulando un estado saludable (Carabarin *et al.*, 2011).

La etapa crónica se presenta tiempo después de la entrada del parásito, en esta etapa se presenta un estado de equilibrio entre el huésped y parásito (Segura *et al.*, 1985), donde no se encuentran gran cantidad de tripomastigotes circulando aunque siguen presentes, esta etapa tiene dos fases: la fase crónica asintomática o indeterminada donde el huésped puede permanecer unos cuantos años o de por vida sin tener secuelas, en esta fase el silenciamiento clínico de los pacientes prevalece en la mayoría de los casos, sin embargo en un rango del 20% al 35% se desarrolla la fase sintomática caracterizada por el cuadro clínico típico de la enfermedad, el cual presenta generalmente cardiopatías (principal factor de reconocimiento de la enfermedad), estas alteraciones incluyen necrosis, fibrosis, disfunción autónoma y alteraciones microvasculares, las cuales junto con una serie de reacciones inflamatorias generan aneurisma ventricular progresivo, característica identificable de la cardiopatía chagásica. Los daños no solo son enfocados al miocardio, también se incluyen otras manifestaciones como las viceromegalias (aumento de tamaño patológico de un órgano visceral) y dilatación de órganos como esófago y colon, lo cual genera alteraciones en la función del aparato digestivos (Carabarin *et al.*, 2011).

Se ha relacionado el bajo peso de un individuo con la seropositividad a *Trypanosoma cruzi*, encontrándose que tienen 2.8 veces mayores posibilidades de ser seropositivos al parásito en comparación a individuos con pesos mayores (de Andrade y Zicker, 1995).

Los Triatomínos (Hemíptera: Reduviidae), son los anfitriones de la vía vectorial, estos comprenden un grupo de insectos hematófagos obligados, esta característica es fundamental para desempeñar su papel como vector de la tripanosomiasis americana. Estos insectos presentan metamorfosis hemimetábola; la cual abarca cinco estados ninfales iniciando de huevo hasta el estado adulto (Figura 2) este ciclo es variable en tiempo debido a varios factores como son: la especie, las condiciones ambientales y la frecuencia de alimentación, entre otros (Reyes y Angulo, 2009).

Figura 2. Ciclo de vida de los Triatomínos: Huevo, 5 estadios ninfales y adulto hembra. Laboratorio de Parasitología y vectores, Escuela de Biología, BUAP (2015).



Los triatomínos se encuentran distribuidos desde los estados fronterizos del sur de Estados Unidos de América hasta la región sur de Argentina y Chile (Rodríguez y Pinto, 2009). Hasta el momento se han descrito 141 especies en el continente americano (Galvão *et al.*, 2003, Galvão y Angulo, 2006, Costa *et al.*, 2006, Costa y Félix, 2007, Martínez *et al.*, 2007, Sandoval *et al.* 2007, Bérenger *et al.*, 2009).

En México la diversidad de Triatomínos es amplia contando con 34 especies, 19 de éstas se han encontrado naturalmente infectadas con *Trypanosoma cruzi* (Cruz-

Reyes y Pickering-López, 2006). No obstante, la mayoría de los registros de infección se basan en pocos individuos, sin la posibilidad de obtener un índice de parasitemia de los insectos vectores (Vidal-Acosta et al., 2000).

En México las especies *Triatoma barberii*, *Meccus pallidipenis* y *Triatoma dimidiata*, son las de mayor importancia epidemiológica, debido a la migración del vector, lo cual se debe en gran medida al crecimiento de las mismas comunidades rurales, provocando así la interacción de los triatomíneos con el humano (Zárate y Zárate, 1985).

Estudios seroepidemiológicos reportan una seropositividad alta de *T. barberii* en el estado de Oaxaca (76%) (Zárate y Zárate, 1985), de *Meccus pallidipenis* en Morelos (44%) y en Yucatán (11.2%) (Quintal et al., 1975).

1.2. Tripanosomiasis en Latinoamérica

En la primera reunión del Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud sobre la tripanosomiasis americana (1960), se estimó una prevalencia mundial de 7 millones de personas infectadas y con 35 millones en riesgo. En el informe de 2006, se estimó que existe entre 16 a 18 millones de personas infectadas y de 90 a 100 millones se encuentran en riesgo. Las prevalencias varían de una región a otra dando valores muy diferentes de Argentina 4.12%, Bolivia 6.75%, Brasil 1.01%, Chile 0.98%, Paraguay 2.54%, Uruguay 0.65%, Colombia 0.95%, Ecuador 1.73%, Perú 0.68%, Venezuela 1.15%, Belice 0.74%, Costa Rica 0.53%, Salvador 3.37% y Honduras 3.05% (OPS, 2006).

Mazzotti (1936) describió por primera vez la enfermedad en nuestro país describiendo dos casos en el estado de Oaxaca, documentados hasta 1940, en el Instituto Nacional de Cardiología (INC), el cual se encontraba recién inaugurado.

Cuartero (1967) observó y describió en el Estado de Jalisco primeras evidencias de la tripanosomiasis americana por medio de estudios seroepidemiológicos, los cuales se realizaron en 124 municipios de Jalisco, este estudio abarcó a 13 274

personas y la tasa de positividad llego 17.7% (Cuartero *et al.*, 1967).

Goldsmith y colaboradores (1978) realizaron el primer estudio para determinar anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre en el Estado de Oaxaca, y obtuvieron 4.4% de positividad (Goldsmith *et al.*, 1978).

Zárate y Zárate (1985) describieron la importancia de *Triatoma barberii* como vector de la tripanosomiasis americana en el municipio de Magdalena Apazco, Oaxaca con una seropositividad de 72% a *T. cruzi* (Zárate y Zárate, 1985).

Gloss *et al.* (1990) determinaron un 8% de infección entre las miocardiopatías que se realizaron entre 1977 a 1988 (Gloss *et al.*, 1990).

Salazar-Schettino *et al.* (1989) informaron el primer caso de transmisión por medio de transfusión sanguínea en México. En el mismo año se reconoció el primer caso mexicano de cardiopatía chagásica crónica (Salazar-Schettino *et al.*, 1989).

Ramos *et al.* (1992) informaron una seroprevalencia de 0.28% en donadores de sangre en el banco de sangre del Instituto Nacional de Cardiología de México (Ramos-Echeverría *et al.*, 1993), años después Monteón-Padilla *et al.* (1999) informaron en el mismo instituto una seroprevalencia de 0.3% en donadores de sangre (Monteón-Padilla *et al.*, 1999).

En 1993 la Secretaría de Salud de México estableció por primera vez la realización de pruebas serológicas para donadores de banco de sangre en zonas endémicas, cabe señalar las pruebas a emplear no fueron estandarizadas (Secretaria de Salud, 1993).

Trujillo Contreras *et al.* en 1991 en el Estado de Jalisco realizaron un estudio con una muestra de 3419 donadores de sangre, procedentes de 12 municipios rurales y de ocho hospitales urbanos, con reactividad positiva de 1.28% (Trujillo-Contreras *et al.*, 1993).

Rangel y colaboradores (1998) indicaron en el banco de sangre de Cuernavaca, Morelos la reacción positiva más elevada hasta entonces, misma que fue de 17% (Rangel *et al.*, 1998). Y en el mismo año Guzmán Bracho y colaboradores realizaron un estudio en donadores de sangre de 18 estados del país encontrando presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en un 1.5% (Guzmán-Bracho *et al.*, 1998).

La Secretaría de Salud de México por medio de su Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud (2000) realizó un conteo del país encontrando 314 casos agudos, 137 casos con manifestaciones tardías y 132 cardiopatías chagásicas en 14 Estados de la República (SPPS, 2001). En el mismo año Martínez-Martínez informo que solo el 15.47% de las donaciones sanguíneas eran examinadas aun cuando la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993 establecida en 1993 establecía que toda donación sanguínea debería ser analizada para *T. cruzi* (Martínez-Martínez *et al.*, 2011).

Magallón Gastélum y colaboradores (2006) informaron por primera vez acerca de índices entomológicos alarmantes de *Triatoma longipennis* en Tepehuaje de Morelos (municipio de San Martín de Hidalgo parte occidental de México) con tasa de infestación de 42.3% y colonización domiciliaria de 73.7%, obteniendo 206 Triatomíneos con tasa de infección de 56.6% (Magallón-Gastélum *et al.*, 2006).

Solórzano Santos (2008) informaron el comienzo del tamiz para la infección de *Trypanosoma cruzi* en el Centro Médico Nacional "La Raza", a todas las muestras de sangre donadas del Mayor Banco de sangre en México, (Solórzano-Santos, 2008). El Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE) estableció en el 2009 la detección oportuna como parte del Plan de Desarrollo 2007-2012, donde se consideró dar cursos de capacitación a personal operativo, microscopistas y entomólogos para facilitar la detección de *Trypanosoma cruzi* (Secretaría de Salud, 2009).

Balan y colaboradores (2011) realizaron la búsqueda de *T. cruzi* en Yucatán donde se encontró en perros seroprevalencia de 7.6% y en humanos 0.1% hallando a *T.*

dimidiata como único vector (Balan *et al.*, 2011).

En el estado de Puebla, Guzmán Bracho *et al.* (1998) indicaron seroprevalencia de 1.8% (Guzmán-Bracho *et al.*, 1998). Sánchez Guillen *et al.* (2002) siguieron los estudios y determinaron en 2140 donadores de sangre por medio de técnicas de HAI y ELISA 7.7% de seropositividad (Sánchez-Guillen *et al.*, 2002).

Sandoval *et al.* (2004) continuaron años más tarde las investigaciones en San Antonio Rayón, Puebla, y encontraron el 18.40% de infección natural, Sosa-Jurado *et al.* (2004) también demostraron seroprevalencia chagásica poblacional de 3.33% a 3.84% en Palmar de Bravo, Pue. (Sosa-Jurado *et al.*, 2004, Sandoval *et al.*, 2004).

Tay *et al.* (2006) visitaron 1699 viviendas de 84 localidades del norte, centro y sur de Puebla en búsqueda de Triatomíneos y fueron colectados 952 organismos con una positividad de 57.5% a *Trypanosoma cruzi* (Tay *et al.*, 2006).

Sandoval Ruiz *et al.* (2008) analizó la distribución geográfica de triatomíneos usando modelos de nichos ecológicos demostrando que *M. pallidipenis* presenta los valores más altos como principal vector del Estado de Puebla.

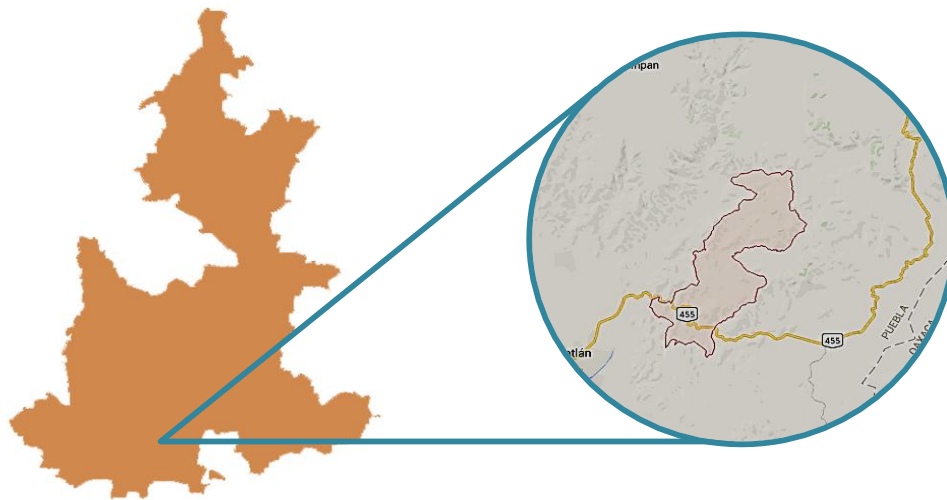
Zumaquero *et al.* (2001) determinaron la presencia de *Meccus bassolsae* y *Triatoma barberii*, 2 especies de las 34 identificadas en México en la mixteca poblana, indicando además que la Mixteca poblana presenta características ecológicas y sociales que favorecen el incremento de las poblaciones del vector y por ende a la propagación de la enfermedad. (Zumaquero *et al.*, 2001 Sandoval-Ruiz *et al.*, 2008)

1.3. Xayacatlán de Bravo

El municipio de Xayacatlán de Bravo se encuentra en la parte sur del estado de Puebla sus coordenadas geográficas son los paralelos 18° 13' 24" y 18° 20' 06" de latitud norte y los meridianos 97° 58' 36" y 98° 00' 06" de latitud occidental, sus colindancias son: Santa Inés Ahuetempan al Norte, Acatlán al Sur y Poniente, y San Jerónimo Xayacatlán al Oeste (Figura 3).

Este municipio de Puebla presenta una población aproximada de 1649 habitantes de los cuales solo 888 son derechohabientes (IMSS, ISSSTE) y por tanto el 42.1% de la población del Municipio no tiene acceso a Servicios de Salud, de 475 viviendas, 33 presentan pisos de tierra, en estas viviendas habitan en promedio 3 personas por hogar. En éste municipio se encuentran 1481 personas con más de 6 años y solo 648 tienen educación primaria (CONEVAL, 2010).

Figura 3. Limitación geográfica de Xayacatlán de Bravo, Puebla. Laboratorio de Parasitología y Vectores, BUAP.



1.4. Diagnóstico por laboratorio de la tripanosomiasis americana

Existen técnicas basadas en la detección de antígenos o anticuerpos específicos contra determinado patógeno (ELISA, Western blot), no presentes en caso de ausencia de infección, el resultado es expresado como positivo o negativo mediante un valor de corte arbitrario y determinante diferente, dependiendo las regiones geográficas debido a posibles reacciones cruzadas con otros antígenos o anticuerpos semejantes (Carrada-Bravo, 2004).

Para el diagnóstico *Trypanosoma cruzi* se utilizan comúnmente los anticuerpos de superficie (IgG, IgA e IgM) de forma indirecta, ya que al ser un protozoario muy antigénico la proporción en las IgG1 y IgG3 es muy alta en comparación con las IgM (Solórzano-Santos, 2008), es por

esto que las técnicas indirectas, como la técnica de ELISA y la técnica de Western blot son basadas en anticuerpos IgG, o bien anticuerpos totales (Lane *et al.*, 2003).

La confiabilidad de los métodos de inmunodiagnóstico está basada en: la sensibilidad, la capacidad de dar resultado positivo en presencia de infección, la especificidad, la capacidad de dar resultados negativos en ausencia de infección, el valor predictivo y la probabilidad de resultados positivos o negativos verdaderos.

El valor predictivo depende de la prevalencia de la infección, es decir si la muestra es de una zona altamente endémica la posibilidad de obtener un falso negativo es baja, debido a que se debe presentar una reacción fuerte para que sea considerado como positivo.

Las pautas de diagnóstico para tripanosomiasis americana son al menos dos reacciones positivas de métodos serológicos diferentes para ser considerado como positivo, si las dos reacciones no coinciden en el resultado se deberá tomar una nueva muestra 30 días después y repetir las pruebas, hasta realizarlas no se puede considerar al paciente como posible positivo o negativo.

En la técnica de ELISA para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* con la lectura espectrofotométrica suele suceder que el valor lanzado este situado cerca del valor de corte o zona gris, en este caso el valor no es considerado positivo o negativo y se deberá realizar otra prueba mediante diferente técnica para corroborar el resultado. (Fernández-Kirchner *et al.*, 2012).

2. Definición del Problema

La enfermedad de Chagas representa un problema epidemiológico, económico, social y político tanto en países endémicos como no endémicos, debido a los movimientos de población, este es el caso de América del Norte, zona con alta tendencia a recibir migrantes de América Latina.

El incremento de la migración, así como los cambios de la economía rural han modificado los patrones epidemiológicos de la tripanosomiasis americana como son su transmisión y la atención médica que requiere. La migración a su vez presenta algunos factores favorables como es la disminución de la densidad demográfica, lo cual puede derivar en una menor infestación por parte del vector. Pero desde otra perspectiva, la enfermedad puede extenderse cuando los individuos previamente infectados migran hacia países no endémicos en busca de oportunidades laborales o para mejorar su calidad de vida.

La migración persistente de la zona de Mixteca Poblana hacia los Estados Unidos de América es realizada por jóvenes de escasos recursos de zonas rurales que migran para poder obtener mayores recursos lejos de su lugar de origen. Se estima que las personas infectadas superan las 300.000 solamente en Estados Unidos provocando una situación alarmante desde el punto de vista epidemiológico.

En el municipio de Xayacatlán de Bravo, existen factores de riesgo que pueden favorecer el contagio y proliferación de la Enfermedad de Chagas, la mayoría ligados a la pobreza permanente en la zona (Patiño, 2003).



3. **Justificación**

En la región de la Mixteca Poblana se han reportado factores de riesgo asociados a la pobreza de la zona de la mixteca poblana y Triatominos capturados intradomiciliariamente y peridomicilariamente (Zumaquero *et al.*, 2001), esta situación pone en peligro de infección tanto a la población de origen, como a las poblaciones hacia las cuales se dirigen los futuros migrantes, es por ello que se decidió identificar a niños menores de 15 años seropositivos de dos albergues escolares indígenas del Municipio de Xayacatlán de Bravo y localizar factores de riesgo en sus domicilios, con el objetivo de establecer la presencia de seropositividad en niños menores de 15 años, los cuales tienen una alta probabilidad de migrar hacia otros estados y países en busca de oportunidades, presentando así un riesgo de proliferación para la tripanosomiasis americana.

4. **Objetivo General**

Determinar la seropositividad a anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en niños alojados en dos albergues infantiles del municipio de Xayacatlán de Bravo y correlacionarlos con factores de riesgo

4.1. Objetivos Específicos.

1. Obtener el índice de masa corporal de la población en estudio y correlacionarlo como factor a la seropositividad a *T. cruzi*
2. Determinar por medio de encuestas a padres o tutores las condiciones de seguridad social y de vivienda de la población en estudio.
3. Obtener los índices entomológicos de las zonas de vivienda de la población en estudio.
4. Detectar la presencia de Anticuerpos IgG anti-*Trypanosoma cruzi* en la población en estudio.



5. Hipótesis

H: Se encontrará seropositividad a anticuerpos anti *T. cruzi* en la población de dos albergues infantiles de Xayacatlán de Bravo, asociada a factores de riesgo (Bajo nivel socioeconómico, desnutrición, hacinamiento, entre otros)

H⁰: No se encontrará seropositividad a anticuerpos anti *T. cruzi* en la población de dos albergues infantiles de Xayacatlán de Bravo, asociada a factores de riesgo (Bajo nivel socioeconómico, desnutrición, hacinamiento, entre otros)

6. Diseño de la investigación

6.1. Tipo de estudio

Transversal, descriptivo, analítico.

6.2. Definición del universo

Todos aquellos niños menores de 15 años de dos albergues infantiles sin tener otro factor en cuenta.

6.3. Tamaño de la muestra

Matrícula escolar total del periodo 2014-2015 de los dos albergues infantiles.

6.4. Tipo de muestreo

De conveniencia, debido a que se seleccionaron a todos los individuos por debajo de los 16 años de edad, no teniendo en cuenta ningún otro factor.

6.5. Criterios de selección

6.5.1. Criterios de inclusión

Todos aquellos individuos matriculados en los dos albergues que tuvieran una edad por debajo de los 15 años.

6.5.2. Criterios de exclusión

- Aquellos niños de los cuales no se pudo obtener el consentimiento de algún padre, familiar o tutor.

6.5.3. Criterios de eliminación

- Aquellas muestras llegaron a presentar errores en la rotulación y que pudo derivar en error de identificación.

6.6. Variables y definición de variables

Las variables dentro del estudio fueron las siguientes:

INDEPENDIENTES:

- Presencia de anticuerpos anti *T. cruzi*.
- Triatominos recolectados.
- Datos socioeconómicos recolectados

- Peso
- Talla
- Edad
- Género

DEPENDIENTES:

- Índices entomológicos
- Índice de masa corporal

6.7. Manejo estadístico de los datos y pruebas estadísticas

Se utilizó el índice de concordancia kappa para verificar la concordancia entre las pruebas ELISA y Western blot para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* esperando obtener una concordancia de moderada a alta (Anexo 2).

Los índices Entomológicos serán obtenidos de acuerdo a las ecuaciones de Silveira.

Los datos cualitativos: grado de estudios de los tutores, acceso o no acceso a servicios de salud, nivel socioeconómico, solo serán indicados en porcentaje para indicar la presencia o ausencia respecto de la muestra total.

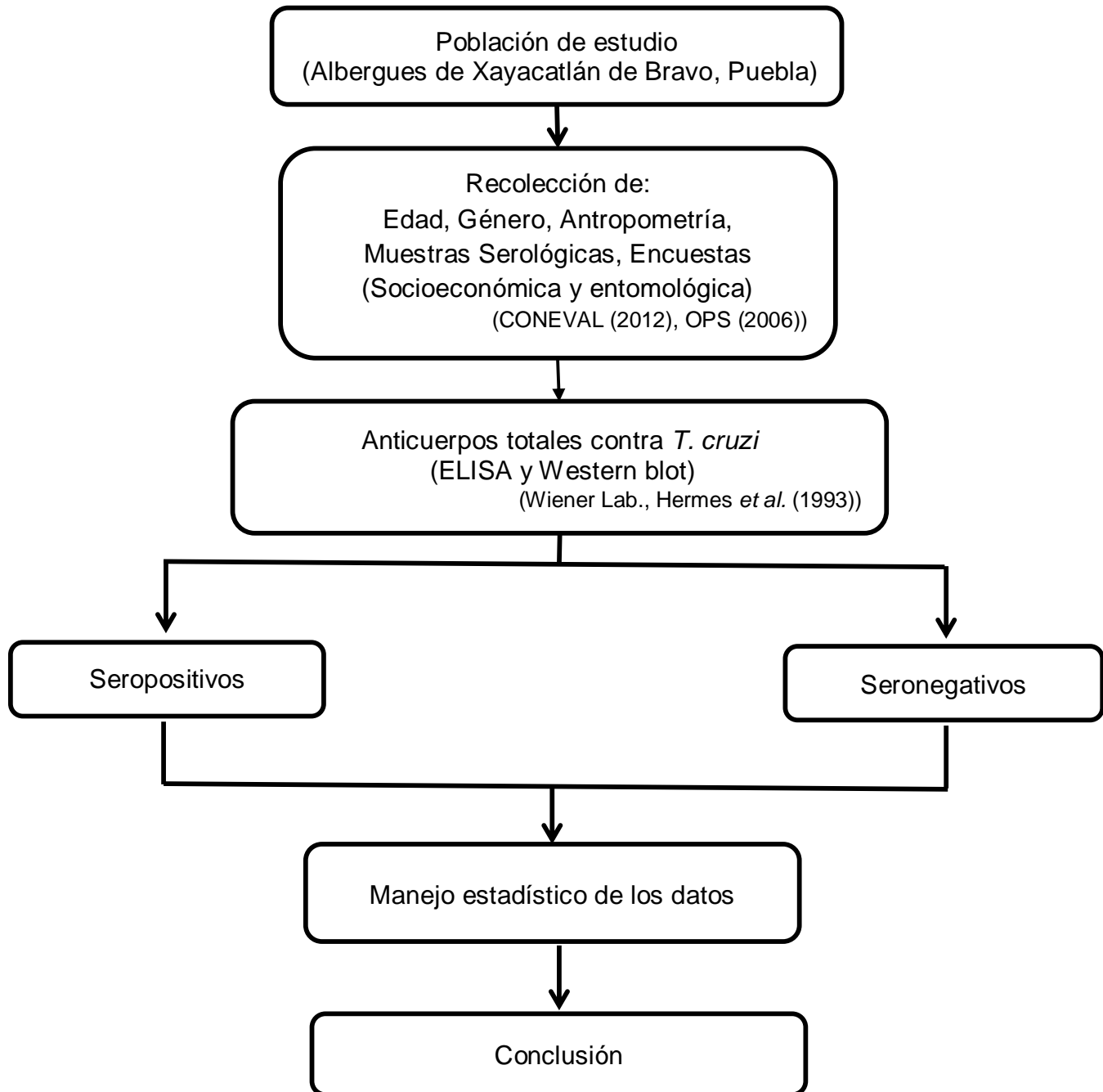
El índice de masa corporal (IMC) solo será un indicador de riesgo, para evaluar la nutrición de los niños en el momento del estudio.

6.8. Aspectos bioéticos

6.8.1. Riesgos de la investigación

Dentro de los riesgos a considerar en la investigación, se identificó el riesgo de transmisión vectorial hacia la plantilla investigadora, lesionar a los menores en la recolección de la muestra sanguínea y posibles rechazos de las muestras por las alteraciones debidas al traslado o conservación.

7. Diagrama de trabajo



8. **Materiales y métodos**

8.1. Área de estudio.

El área de estudio fue determinada por antecedentes de búsqueda y hallazgo de Triatomíneos realizados por integrantes del Laboratorio de Parasitología y Vectores de la Escuela de Biología, pertenecientes a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla en años anteriores (Zumaquero *et al.*, 2001).

8.2. Determinación de IMC.

Se tomaron medidas antropométricas de talla y peso de los niños de los dos albergues, posteriormente se determinó el Índice de Masa Corporal mediante la fórmula $IMC = \frac{masa}{estatura^2}$, como parámetro de la calidad nutricional de los niños, y poder relacionarlo como factor de riesgo en el contagio e infección de la tripanosomiasis americana.

8.3. Obtención de Muestras sanguíneas.

Se recolectaron muestras sanguíneas de niños que radicaban en los dos albergues infantiles del municipio de Xayacatlán de Bravo. Para este fin se utilizaron tubos y agujas Vacutainer desechables, previo consentimiento informado de los padres o familiares según el caso, siguiendo las recomendaciones del Comité de Ética para el Manejo de Muestras Biológicas en Humanos (Rodríguez *et al.*, 2001, Pàmpols *et al.*, 2007 y Gil, 2012).

Las muestras sanguíneas fueron transportados a 4°C en contenedores refrigerados, al Laboratorio de Parasitología y Vectores de la Escuela de Biología de la BUAP, los tubos fueron centrifugados y se separó el suero asegurando su posterior conservación en un congelador a -70°C hasta su procesamiento.

8.4. Obtención de los Antígenos de Trypanosoma cruzi.

Para la realización de las técnicas de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) y Western blot para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* (Monteón-Padilla

et al., 1997, Iniesta *et al.*, 2002) se trabajaron antígenos de epimastigote de *T. cruzi* obtenidos en el Instituto Nacional de Cardiología (INC) “Ignacio Chávez” (Centro Nacional de Referencia para el estudio de la enfermedad). Como parte de un control de calidad, todas las muestras positivas y el 20% de las negativas se procesaron nuevamente en el laboratorio de Análisis clínicos de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP por parte de una experta del INC.

8.5. Ensayos serológicos.

8.5.1. Inmunodiagnóstico mediante técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*.

• **Fundamento del método**

Se utilizó el kit Chagatest ELISA para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* recombinante de la marca Wiener lab, Este emplea una técnica cualitativa para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*, donde la muestra se diluye en el soporte en el que se encuentran inmovilizados antígenos recombinantes (1, 2, 13, 30, 36 y SAPA). Estos antígenos se obtienen por técnica de ADN recombinante a partir de proteínas específicas de los estadios epimastigote y tripomastigote del *T. cruzi*, correspondientes a zonas altamente conservadas entre distintas cepas. La tecnología empleada permite asegurar una mezcla antigénica de composición conocida y constante lote a lote, brindando resultados reproducibles, específicos y con una elevada sensibilidad.

Si la muestra contiene los anticuerpos específicos, éstos formarán un complejo con los antígenos y permanecerán unidos al soporte. La fracción no unida se elimina por lavado tras lo que se agregan anticuerpos anti-inmunoglobulina humana conjugados con peroxidasa.

Si se produjo la reacción en la primera etapa del proceso, se unirá el conjugado. Luego de un nuevo lavado se agrega el sustrato enzimático. En los casos en que se haya unido el conjugado habrá aparición de color celeste. La reacción se detiene con ácido sulfúrico, con lo que el color celeste vira al amarillo.

- **Desarrollo del método**

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

8.6. Inmunodiagnóstico Western Blot.

- **Fundamento del método:**

La técnica de Western blot se utiliza a menudo en la investigación para separar e identificar proteínas. Esta técnica separa una mezcla de proteínas, apoyándose en el peso molecular, y por tanto su tipo, a través de una electroforesis en gel. Posteriormente las bandas producidas por la electroforesis son transferidas a una membrana produciendo una banda para cada proteína. Esta membrana se incuba luego con anticuerpos específicos marcados para la proteína de interés. El anticuerpo no unido se elimina por lavado, dejando sólo el anticuerpo unido a la proteína de interés. Los anticuerpos unidos se detectan mediante el revelado de la membrana. Como los anticuerpos sólo se unen a la proteína de interés solo una banda debe ser visible El espesor de la banda corresponde a la cantidad de

proteína presente; por lo tanto apoyándose en un estándar se puede obtener la cantidad de proteína presente.

Se utilizó el método descrito por Hermes y colaboradores (1993).

8.6.1. Materiales

- Membrana de nitrocelulosa con proteínas transferidas
- Tampón de bloqueo (solución salina tamponada con Tris (TBS) o fosfatado solución salina tamponada (PBS) con 0,05% de Tween-20 y 1-6% de leche en polvo sin grasa
- Tampón de lavado (TBS o PBS con 0,05% de Tween-20)
- Anticuerpo primario, diluido en tampón de bloqueo
- Reactivo secundario conjugado con HRP,

8.6.2. Inmunodetección

1. Los volúmenes de tampón fueron de 20 ml para los minis blots y 100 ml para los midi blots. Los volúmenes del buffer de bloqueo y de solución de anticuerpos fueron de menos 10 ml para los minis blots y 25 ml para los midi blots.
2. Se equilibró la membrana con proteínas transferidas por medio de lavados con tampón durante 3 minutos. La membrana de nitrocelulosa fue remojada brevemente en metanol antes de equilibrado en tampón de lavado.
3. Se incubó el lado con proteínas de la membrana hacia arriba, en tampón de bloqueo durante 1 hora con agitación continua.
4. Se incubó la membrana en solución de anticuerpo primario diluido durante 1 hora con agitación continua (La incubación en el anticuerpo primario puede llevarse a cabo durante la noche a 4 ° C)

5. Se lavó la membrana en tampón de lavado 5 veces durante 5 minutos cada uno con agitación continua.
6. Se incubaron las membranas en solución de anticuerpo secundario diluido durante 1 hora con agitación continua.
7. Se lavaron las membranas en tampón de lavado 6 veces durante 5 minutos cada uno con agitación continua.

8.6.3. Desarrollo quimioluminiscente

1. Se mantuvieron las membranas húmedas en tampón de lavado mientras se preparaba la mezcla de sustrato (conjugado antígeno-anticuerpo).
2. El sustrato se preparó en una relación 1:1 de antígeno-anticuerpo, y la cantidad preparada fue de 0,1 ml de solución de sustrato / cm² de membrana.
 - Para una membrana de tamaño mini (7 x 8,5 cm), se prepararon 7 ml de solución.
 - Para una membrana-midi tamaño (8,5 x 13,5 cm), se prepararon 12 ml de solución.
3. Se colocaron las membranas sobre una superficie clara y plana.
 - Se añadió sustrato a la membrana y se incubó durante 5 min
 - Se verificó que la superficie de la membrana estuviera completamente cubierta con sustrato sin la presencia de burbujas de aire
4. Se retiró la membrana de la superficie y se escurrió el exceso de sustrato.
5. Se colocó la membrana en una envoltura de plástico para evitar que la membrana se secase.
6. Se tomaron imágenes con una cámara digital.

8.7. Observación del parásito en heces del vector

Las deyecciones obtenidas de las chinches colectadas se mezclaron en una solución de PBS al 1% con la finalidad de mantener al parásito en condiciones isosmóticas para mantenerlo vivo, posteriormente se colocó la muestra en un portaobjetos, analizándolo en el microscopio con el fin de observar al parásito, de esta forma se corroboró si la chinche se encontraba infectada.

8.8. Evaluación socioeconómica.

Se realizaron encuestas socioeconómicas para determinar las condiciones sociales en las cuales vivían los niños que radicaban en los dos albergues, para evaluar el grado de rezago social y compararlo con los datos ofrecidos por la última evaluación del CONEVAL.

La información relacionada con las variables biológicas (edad, sexo y talla), estilo de vida (presencia de animales, hacinamiento en la vivienda se obtuvieron mediante un cuestionario aplicado directamente a los jefes de familia (padre, madre) o tutores en su caso.

La clasificación del material de construcción de la vivienda se hizo de acuerdo con el riesgo que presentó este de alojar triatominos (Tabla 1) (García de la Torre, 1998). Los datos de cada organismo obtenido fueron anotados como los estadios en los cuales fueron recolectados, posteriormente fueron introducidos en frascos oscuros con un pedazo de cartón para evitar el estrés de los organismos y poder realizar el análisis de las heces.

Tabla 1. Clasificación de los materiales de construcción de las viviendas estudiadas, según el riesgo de albergar Triatominos (Salazar *et al.*, 2007).

	Techo	Muros	Piso
Viviendas con riesgo	Madera Carrizo Tejas Hojas de cartón	Adobe Piedras Madera Carrizo	Tierra
Viviendas sin riesgo	Cemento Láminas de asbesto Bloques	Cemento Ladrillos Bloques	Cemento Mosaico

8.9. Obtención de índices entomológicos

Se realizaron 2 muestreos en la zona en los cuáles se colectaron Triatominos para determinar los índices entomológicos de las zonas estudiadas, los cuales se calcularon mediante las ecuaciones de Silveira (Tabla 2).

Tabla 2. Índices entomológicos de Silveira, OPS/DPC/CD/276/03.

Índice	Fórmula
Índice de Infestación	$\frac{\text{No. de casas con Triatominos}}{\text{No. Total de Casas estudiadas}}$
Índice de Densidad	$\frac{\text{No Total de Triatominos Capturados}}{\text{No. Total de Casas}}$
Índice de Hacinamiento	$\frac{\text{No. Total de Triatominos Capturados}}{\text{No. de Casas con Triatominos}}$
Índice de Dispersión	$\frac{\text{No. de Localidades con Triatominos Capturados}}{\text{No. de Localidades Estudiadas}}$
Índice de Colonización	$\frac{\text{No. de Casas con Ninfas de Triatominos} \times 100}{\text{No. de Casas positivas a Triatominos}}$
Índice de Infección Natural	$\frac{\text{No. de Triatominos con } T. \text{ cruzi} \times 100}{\text{No. de Triatominos Estudiados}}$

La búsqueda de los Triatominos se realizó por personal capacitado del Laboratorio de Parasitología y Vectores de la Escuela de Biología, con ayuda de linternas por hora /hombre casa. Estas fueron inspeccionadas en su composición de: muebles, camas, partes traseras de cuadros, cajoneras, contactos eléctricos, alacenas, baúles, corrales y cualquier objeto que permitiera alojar a los Triatominos.



Con vistas a reforzar y tener un elemento del conocimiento o avistado de los insectos se introdujo en la encuesta social la muestra de las diferentes etapas de los triatominos.

9. Organización

9.1. Recursos humanos

- 1 Químico Farmacobiólogo (Tesisista), cuya función fue obtener las muestras de sangre obtenidas de los menores y procesarlas en el laboratorio.
- 3 Biólogos, cuya función fue realizar las encuestas entomológicas, encuestas socioeconómicas y la identificación de las muestras obtenidas.
- 1 Médico, quien realizó las mediciones antropométricas de talla y peso de los infantes.

9.2. Recursos materiales

- Encuestas
- Insumos para recolección de muestras sanguíneas
- Insumos para transporte de muestras
- Insumos para recolección de Triatominos
- Basculas
- Cintas de Medición
- Vehículo y combustible para transporte del personal del proyecto
- Instalaciones y equipos para el análisis de las muestras.

9.3. Recursos financieros

Todos los recursos necesarios para llevar a cabo el proyecto fueron financiados por el VIEP y el director externo de tesis Dr. Lino Zumaquero Ríos.

10. Resultados

La primera visita a los albergues del municipio de Xayacatlán de Bravo, fueron con el motivo de explicar a los encargados de los dos albergues y a la población residente la importancia del estudio y en qué consistía este, así como obtener información general acerca de la población infantil que residía durante el transcurso del periodo 2014-2015, así mismo se propuso una programar una reunión con los padres o tutores para informarlos acerca del estudio que se pretendía realizar y obtener el consentimiento de estos.

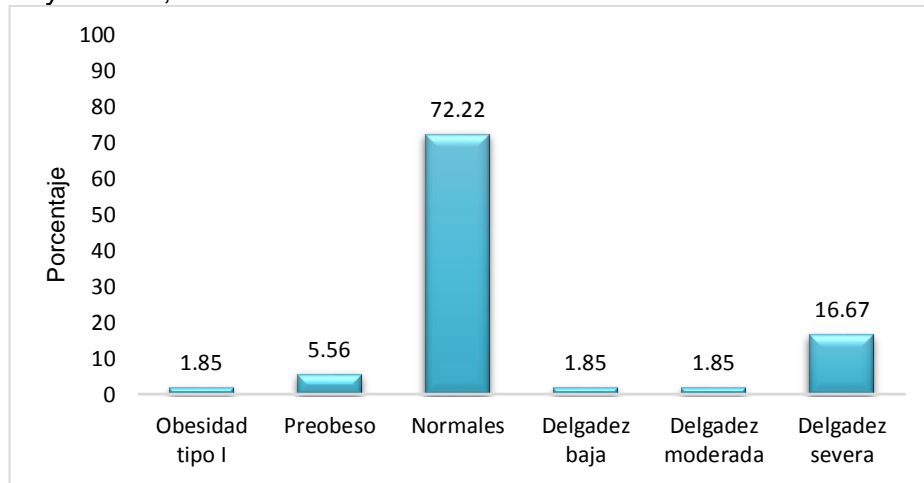
Se realizó una segunda visita en la cual se informó a los padres o tutores de los niños acerca del estudio, impacto y riesgos que se desarrollarían en el transcurso de este, obteniendo así el consentimiento para la participación de 54 niños menores de 16 años, siendo estos 31 hombres y 23 mujeres, provenientes de 48 hogares diferentes. Se encontró que procedían de 10 localidades diferentes cercanas al municipio Xayacatlán de Bravo, las cuales son:

Acatlán, Tetelcingo, Tonahuiztla, San Jerónimo Xayacatlán, Tepexi de Rodríguez, La Huerta, Santiago Chazumba, San Pedro Yeloixtlahuaca, y Santo Domingo Tonahuiztla.

En la tercera visita se realizaron mediciones de peso y talla, y la toma de muestras sanguíneas de los niños.

Posteriormente se procedió a tomar mediciones de talla y peso, observando desde niños con delgadez severa hasta un caso de obesidad tipo 1 (Gráfica 1) el cual presentaba una distensión abdominal muy pronunciada.

Gráfica 1. Frecuencia de los estados nutricionales, de niños del municipio de San Jerónimo Xayacatlán, en base al IMC obtenido.



Los datos representan la frecuencia del estado nutricional basados en el IMC según los lineamientos de la OMS (1977).

10.1. Resultados de encuestas socioeconómicas

Como se puede observar en la Tabla 3 se asistió a un total de 48 hogares para realizar las encuestas socioeconómicas y entomológicas, la edad promedio del entrevistado fue de 29.2 años.

En las casas se encontró 43.8% de techos, 18.8% de pisos y 23% de paredes que presentan riesgo de albergar triatominos debido al material del que están hechos. Se encontró que en promedio habitaban en el sitio 5 personas, variando este número desde un mínimo de 2 habitantes hasta un máximo de 7 habitantes.

De la misma forma se encontraron en varias casas diversos animales domésticos como gallinas, perros, entre otros, habitando en el hogar, y se encontró que varios hogares los animales llegan a dormir en los mismos cuartos que los habitantes.

También se informaron presuntos avistamientos del vector, y en un caso un habitante señaló haber comido en alguna ocasión un insecto que de acuerdo a la descripción proporcionada se trataba de un triatomo.

Tabla 3. Datos proporcionados por los habitantes de las casas de donde provienen los niños que asisten a los albergues infantiles de Xayacatlán de Bravo.

Datos Recolectados	Descripción	Cantidad	Porcentaje
Hogares visitados		48	n/a
Edad del entrevistado	Promedio (Años)	29.2	n/a
Material del techo	Madera	2	4.2%
	Carrizo	11	22.9%
	Tejas	8	16.7%
	Cemento	16	33.3%
	Láminas de asbesto	11	22.9%
Material del piso:	Tierra	9	18.8%
	Cemento	31	64.6%
	Mosaico	8	16.7%
Material de las paredes	Adobe	1	2.1%
	Piedras	0	0.0%
	Madera	3	6.3%
	Carrizo	7	14.6%
	Cemento	12	25.0%
	Ladrillos	14	29.2%
	Bloques	11	22.9%
Uso de leña	Interior	18	37.5%
	Exterior	23	47.9%
N° de personas en la vivienda:	Promedio	5	n/a
INGRESOS	Promedio por mes (MXN)	\$ 1,732.00	n/a
ANIMALES EN LA VIVIENDA	Aves	26	54.2%
	Ganado	11	22.9%
	Perros	21	43.8%
	Gatos	9	18.8%
	Roedores	1	2.1%
	Duermen en interior	24	50.0%
	Intromisión en la vivienda	31	64.6%
PREVENCIÓN	Mosquitero en la vivienda	33	68.8%
	Duerme con Mosquitero	28	58.3%
	Fumigan periódicamente	19	39.6%
CONTACTO CON EL VECTOR	Avistamiento presuntivo	17	35.4%
	Tiempo promedio transcurrido desde el avistamiento (Meses)	5.2	n/a

10.2. Índices Entomológicos

Durante la aplicación de la encuesta entomológica se encontraron ninfas del tercer y cuarto estadio de *Meccus pallidipennis*, así como ejemplares adultos (Figura 4 y 5). Los índices entomológicos determinados se muestran en la Gráfica 2.

Figura 4. Recolección de especímenes durante la aplicación de la encuesta entomológica en el intradomicilio y peridomicilio de los hogares de los niños.

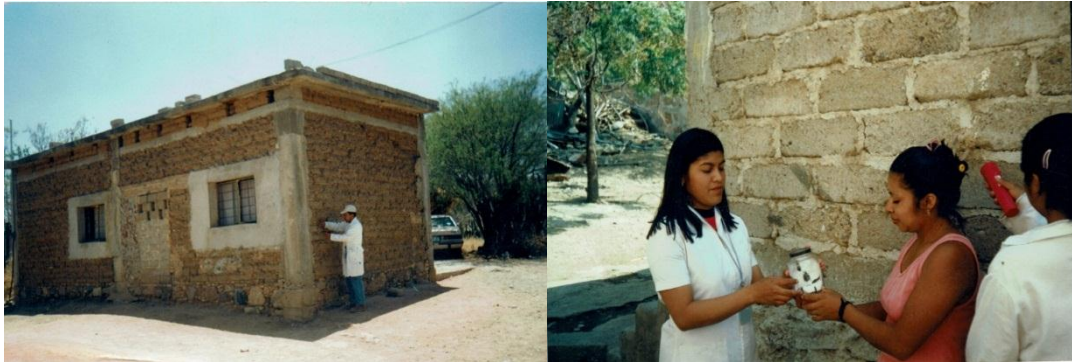
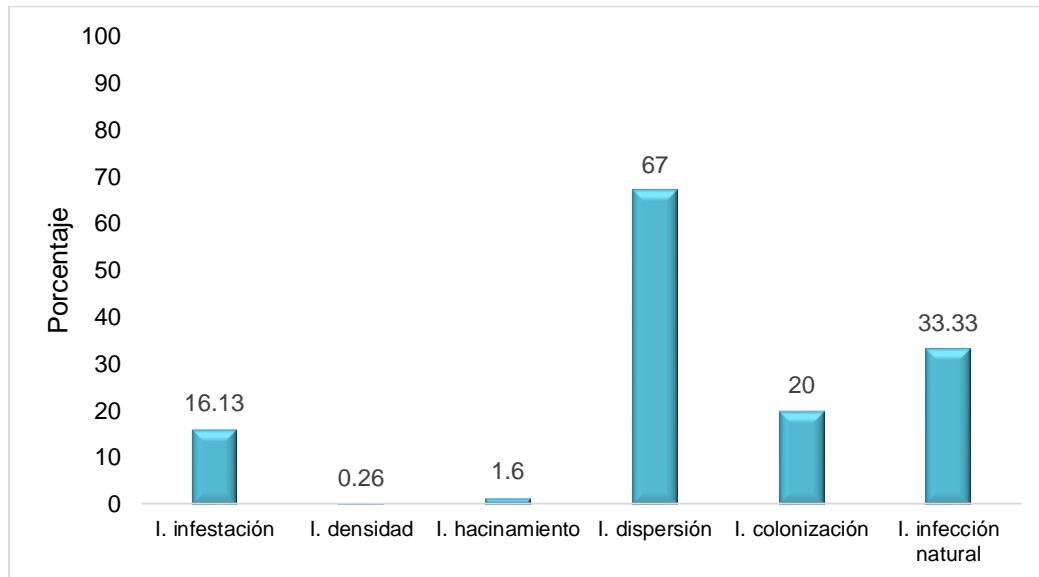


Figura 5. Triatomínos recolectados durante la aplicación de la encuesta entomológica.



(A) *Meccus pallidipennis* de tercer y cuarto estadio, **(B)** *Meccus pallidipennis* (Hembra muerta), **(C)** *Meccus pallidipennis* (Macho vivo), **(D)** *Meccus pallidipennis* (Macho muerto).

Gráfica 2. Índices Entomológicos de Silveira correspondientes al Municipio de Xayacatlán de Bravo.



10.3. Resultados de pruebas ELISA para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*.

Se realizaron pruebas ELISA para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* a los sueros de los niños (Figura 6), obteniendo un valor de corte de 0.218, con lo cual 10 muestras obtuvieron valores de lectura por encima de este valor, consiguiendo así un 18.51 % de seroprevalencia aparente del total de muestras (Tabla 4).

Figura 6. Pruebas ELISA para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* realizadas a los sueros, Laboratorio de Parasitología y Vectores, BUAP.

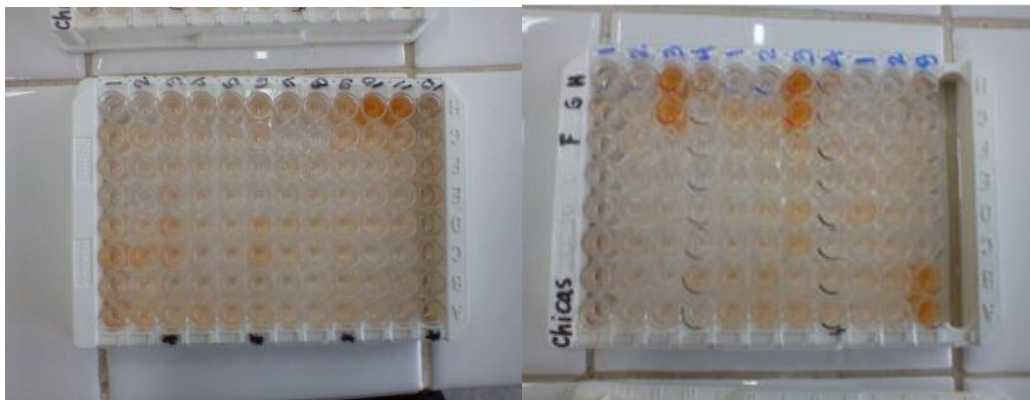
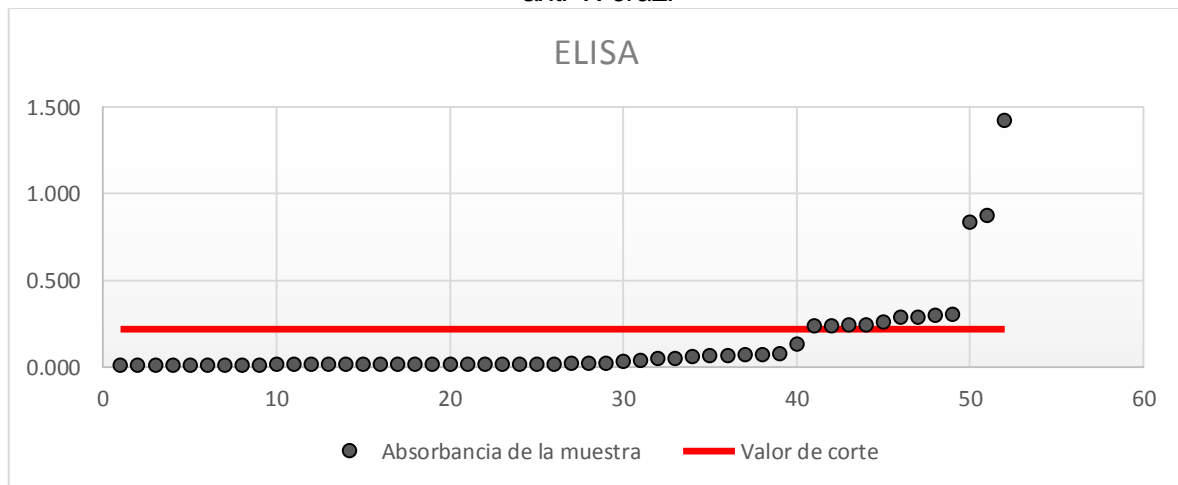


Tabla 4. Resultados de pruebas ELISA para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* , Estado de Puebla, México.

MUNICIPIO DE ORIGEN	# DE NIÑOS			POSITIVOS ELISA			% POSITIVOS ELISA
	HOMBRES	MUJERES	TOTAL	HOMBRES	MUJERES	TOTAL	
ACATLÁN	7	3	10	0	1	1	10.00%
XAYACATLÁN DE BRAVO	9	5	14	2	1	3	21.40%
TETELCINGO	5	5	10	1	1	2	20.00%
TONAHUIZTLA	1	0	1	0	0	0	0.00%
SAN JERONIMO-XAYACATLÁN	5	3	8	0	1	1	12.50%
TEPEXI DE RODRÍGUEZ	0	1	1	0	0	0	0.00%
LA HUERTA	2	3	5	1	0	1	20.00%
SANTIAGO CHAZUMBA	1	0	1	0	0	0	0.00%
SAN PEDRO YELOIXTLAHUACA	1	0	1	0	0	0	0.00%
SANTO DOMINGO TONAHUIZTLA	0	3	3	0	2	2	66.70%
TOTAL	31	23	54	4	6	10	18.50%

Los valores de corte de los casos positivos indican un alto valor de lectura, lo que permitió distinguir fácilmente las reacciones positivas de las negativas (Gráfica 3).

Gráfica 3. Valores de absorbancia obtenidos mediante ELISA para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*



Cabe señalar que la técnica ELISA para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* presenta una especificidad y sensibilidad limitada (Escalante *et al.*, 2014), por este motivo se corroboraron los posibles positivos por medio de la técnica de Western blot, procedimiento más específico en el diagnóstico de la enfermedad.

10.4. Resultados de la técnica Western blot para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*

Con la finalidad de tener una mayor precisión en el diagnóstico, se realizó la técnica de Western blot para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* a las muestras que dieron positivo en la técnica ELISA realizando además la prueba en el 20 por ciento de las muestras que dieron negativo mediante la técnica ELISA, obteniendo como resultado 4 casos confirmados de reacción seropositiva a anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* (Figura 7), dos de ellos de niños procedentes del municipio de Xayacatlán de bravo, uno procedente de la localidad de La Huerta y uno de Santo Domingo Tonahuiztla, dando así una seroprevalencia total de 7.4% para las muestras recolectadas (Tabla 5).

Tabla 5. Resultados de pruebas Western Blot, Estado de Puebla, México

MUNICIPIO DE ORIGEN	# DE NIÑOS			POSITIVOS WESTERN BLOT			% POSITIVOS WESTERN BLOT
	HOMBRES	MUJERES	TOTAL	HOMBRES	MUJERES	TOTAL	
ACATLÁN	7	3	10	0	0	0	0.00%
XAYACATLÁN DE BRAVO	9	5	14	1	1	2	14.30%
TETELCINGO	5	5	10	0	0	0	0.00%
TONAHUIZTLA	1	0	1	0	0	0	0.00%
SAN JERONIMO-XAYACATLÁN	5	3	8	0	0	0	0.00%
TEPEXI DE RODRÍGUEZ	0	1	1	0	0	0	0.00%
LA HUERTA	2	3	5	1	0	1	20.00%
SANTIAGO CHAZUMBA	1	0	1	0	0	0	0.00%
SAN PEDRO YELOIXTLAHUACA	1	0	1	0	0	0	0.00%
SANTO DOMINGO TONAHUIZTLA	0	3	3	0	1	1	33.30%
TOTAL	31	23	54	2	2	4	7.40%

Figura 7. Pruebas Western blot para detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* realizadas a los sueros, Laboratorio de Parasitología y Vectores, BUAP.





10.5. Resultados del Índice kappa

En el proceso de análisis mediante el índice Kappa se determinó la concordancia entre las pruebas ELISA y Western blot para detección de anticuerpos anti- *T. cruzi*.

El índice arrojó una concordancia observada de 0.9074074 y una concordancia esperada de 0.7839506, estos valores nos arrojaron el valor de kappa de 0.5714286.

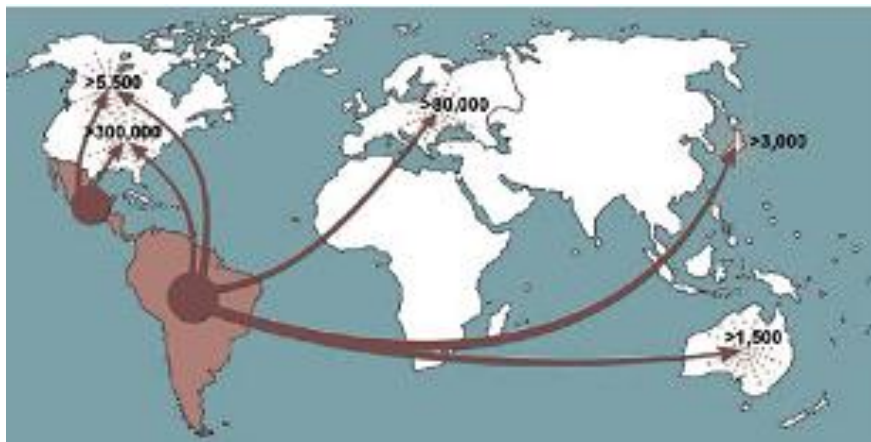
La Medición de la consistencia se hizo mediante los criterios de Landis y Koch que indicó una fuerza de concordancia moderada.

11. Discusión

Las enfermedades transmitidas por vectores tienen una gran importancia para la salud pública, esto se debe a su magnitud y trascendencia, considerando la existencia de áreas que reúnen condiciones geográficas, epidemiológicas, demográficas y socioeconómicas, así como de marginación y pobreza. Se estima que cerca del 47.4% de la población del país reúne estas condiciones en mayor o menor medida (CONEVAL, 2012).

En el municipio de Xayacatlán de Bravo, así como en otras regiones pobres de México y América Latina el impacto de la globalización ha traído cambios dentro de la epidemiología de la tripanosomiasis americana, tanto en su manejo como en su prevención (Di Noia *et al.* 2002), esto también ha derivado en un incremento de la migración, debido sobre todo a los cambios de la economía rural. Esto ha modificado los patrones epidemiológicos de la tripanosomiasis americana como son su transmisión y la atención médica que requiere. La migración a su vez presenta algunos factores favorables como es la disminución de la densidad demográfica, lo cual puede derivar en una menor infestación por parte del vector en la zona de origen, pero no en la zona hacia la cual se dirige el migrante en busca de oportunidades laborales o para mejorar su calidad de vida (Figura 8) (Pinto-Días, 2013).

Figura 8. Rutas de migración desde países endémicos y número estimado de infectados en países no endémicos



En el estado de Puebla se han practicado varios estudios serológicos, de los cuales algunos adolecen de una integralidad, sin embargo, nuestros resultados apuntan a un estudio de las vías posibles de transmisión, especialmente analizando individuos que son propensos a migrar en un futuro cercano debido al rezago económico común en la mixteca poblana.

Debido a las condiciones socioeconómicas en esta zona, es común llegar a encontrar niños con deficiencias nutricionales cuyo peso y talla se encuentran por debajo del promedio, y que representaron 10 de los 54 casos analizados 18.51%, lo cual es preocupante ya que estudios como el realizado por Andrade y Zicker (1995), hallaron hasta un riesgo 2.4 veces mayor de ser seroprevalente a *T. cruzi* en individuos con desnutrición, y aunque también se encontró el caso de un niño obeso, el hecho de que tuviera una distensión abdominal muy pronunciada hace difícil descartar la presencia de otras enfermedades, entre ellas una parasitosis intestinal severa.

Zumaquero y colaboradores (2001) realizaron un estudio similar en otra región de la mixteca poblana y encontraron valores superiores a los encontrados en nuestro estudio, situación que se puede explicar por la mejoría de las construcciones en varias de las localidades visitadas, lo cual se originó en su mayoría por la aplicación del programa piso firme del Gobierno Federal (2009-2012) que doto de piso a todos los habitantes, de la misma forma las brigadas de descacharrización (2012) de los patios que sin dudas son un reflejo de bienestar para la población, y que al mismo tiempo disminuyen los factores que permiten la colonización de los insectos en el intradomicilio y el peridomicilio, así se puede observar que el gobierno implementa programas similares a los de otros países donde existen prevalencias altas de la enfermedad como Argentina, Bolivia y Brasil mismos que han realizado programas pilotos de mejoramiento de la ruralidad que han permitido la reducción de las cifras de seroprevalentes y enfermos.

Esta disminución de seroprevalencia a *T. cruzi* se equipará al estudio realizado por Salazar y colaboradores en 2007 en varias localidades del estado de Veracruz mismo

que demuestra la factibilidad del mejoramiento de la vivienda y las condiciones higiénicas de su entorno, reduciendo notablemente la acción vectorial. Este mismo estudio encontró una mayor susceptibilidad a la presencia del vector en aquellos hogares cuyos habitantes albergaban animales, misma situación presentada en hasta el 60% de los hogares estudiados donde los animales más comúnmente encontrados fueron aves y perros, y que por su pequeño tamaño transitan de intradomicilio a peridomicilio sin dificultad, presentando un riesgo al ser posibles transportadores del vector.

Comparando nuestros resultados donde se analizaron 54 muestras y 48 viviendas con los obtenidos en el Estado de Veracruz por Segura y Escobar-Meza (2008), donde se analizaron un total de 9782 muestras y 2526 viviendas, en 9 de las 11 jurisdicciones sanitarias de este estado, en las encuestas entomológicas se pueden observar valores similares para el índice de infestación 16.13 (Xayacatlán) y 13.5% (Veracruz) lo que significa que, de todas las viviendas examinadas, en esta cantidad de viviendas se encontraron triatominos.

Los índices de colonización del insecto vector fueron de 20% para Xayacatlán y de 60.8% para Veracruz, esto implica que entre los domicilios con triatominos, se encontró 3 veces mayor variedad de estadios del insecto vector en Veracruz que en Xayacatlán.

El índice de infección natural fue de 33.3 % para Xayacatlán y 10.6% para Veracruz, encontrándose una mayor posibilidad de transmisión vectorial en el Municipio de Xayacatlán debido a que este índice nos indica el porcentaje de vectores recolectados que se encuentran infectados, aunque no se puede decidir si la especie es un indicativo de esta situación, ya que la especie recolectada por nosotros fue *Meccus pallidipenis* y en Veracruz fue *Triatoma dimidiata*.

Estudios previos ubican poblaciones de la especie recolectada: *Meccus pallidipenis*, en los estados de Morelos, Michoacán y Oaxaca (Martínez-Ibarra *et al.*, 2012), el estudio que llevamos a cabo ubica al triatomino en el estado de Puebla que a su

vez colinda con Morelos y Oaxaca, lo cual permite discernir una zona de alojamiento de este insecto vector. Sandoval y colaboradores (2008) señalan al insecto vector en esta zona y Zumaquero y colaboradores (2001) indican la presencia de huevos y triatomíneos de esta especie en la zona perteneciente a la mixteca poblana.

El conocimiento de los lugares donde puede encontrarse el vector en las comunidades rurales, puede permitir a los sistemas de salud llevar a cabo medidas de vigilancia epidemiológica más precisas para el evitar la propagación de la enfermedad.

Para determinar la seroprevalencia a anticuerpos anti-*T. cruzi* en el estado de Veracruz, fueron utilizadas la técnica ELISA y Hemaglutinación en placa como pruebas presuntivas, e Inmunofluorescencia como prueba confirmatoria, y se obtuvieron 63 individuos seropositivos a anticuerpos anti-*T. cruzi*, teniendo una seroprevalencia global del 0.64%, y una máxima por zona de hasta 2.8% los individuos seropositivos se encontraron en 7 de las 9 zonas estudiadas, en nuestro estudio la prueba ELISA fue la prueba presuntiva y la técnica de Western blot fue la confirmatoria, y como se puede observar la seroprevalencia en este estudio es menor a la encontrada por nosotros (7.4%), aunque cabe destacar que la población analizada fue menor, aun así se asemejan algunos de los factores de riesgo analizados como es el caso de los materiales de construcción de la casa, de los cuales aquellos con huecos o fisuras representan un mayor riesgo de albergar al vector en sus distintas etapas.

Cabe resaltar que existen trabajos realizados en hospitales, lugar donde una fracción relativamente grande de la población acude para la donación de sangre, motivo por el cual es un sitio de interés para varios investigadores en la búsqueda de factores y casos de tripanosomiasis americana (Solórzano-Santos *et al.*, 2008), los trabajos realizados en las comunidades rurales de varias zonas de México, donde se realiza la búsqueda activa de los vectores y donde se tiene contacto con la población endémica es una forma destacada para realizar este tipo de estudios, esto es debido a la posibilidad de obtener datos que permanece desconocidos por su peculiaridad, y que



solo saben pobladores y lugareños de estas zonas, como es el caso de un testimonio recolectado en uno de los hogares visitados por nosotros, acerca de la ingesta directa del insecto vector debido a la confusión con otro insecto perteneciente a la Familia Hemiptera que se alimenta de hortalizas, con estos datos se hace falta de la intervención por parte del sector salud en varias regiones del estado para evitar por medio de la educación a la población endémica que accidentes como este tomen lugar.

12. Conclusión

Se determinó el índice de masa corporal (IMC), encontrando el 72.22% de los niños están en un valor de IMC normal, el 1.85% presenta obesidad tipo I, el 5.56% se encuentra en el rango de pre-obesidad, un 1.85% se encuentra con delgadez baja, el 1.85% delgadez moderada, y finalmente el 16.67% presenta delgadez severa.

Las condiciones socioeconómicas de la población en estudio en cuestión de vivienda coinciden con las detectadas en los índices que van de pobreza a extrema pobreza en un 50%, y el 59% presenta pobreza alimentaria.

Los índices entomológicos de colonización e infección natural son elevados con un 20% y un 33.33% respectivamente, lo que sugiere una transmisión principalmente de tipo vectorial al no haberse informado de transfusiones sanguíneas.

Se recolectaron especímenes vivos de *Meccus pallidipenis* en diferentes estadios tanto en el intradomicilio como en el peridomicilio.

Un habitante participante en las encuestas socioeconómicas y entomológicas, menciona haber ingerido al vector (*Meccus pallidipenis*) en una ocasión al haberlo confundido con otro insecto que se consume comúnmente en la zona, lo cual es un riesgo de contagio de acuerdo a informes recientes que aún no han sido publicados.

Existe presencia de anticuerpos IgG anti-*Trypanosoma cruzi* en el 7.4% de la población estudiada, determinándose mediante los estudios serológicos ELISA y Western blot en los niños de los internados de primaria.

Existe concordancia moderada (0.56) entre las pruebas serológicas y el Western blot de acuerdo a los criterios de Landis y Koch.

13. **Bibliografía**

Chagas C. Neue Trypanosomen Vorläufige mitteilung. Archiv für Schiffs- und Tropen-Hygiene 1909; 13: 120-2

Paz M. Haro I., Bravo M. Tres especies de Triatomíneos y su importancia como vectores de *Trypanosoma cruzi* en México. Laboratorio de Biología de Parásitos. UNAM. MEDICINA (Buenos Aires) 2005; 65: 63-69.

Voelker R., A century after Chagas disease discovery, hurdles to tackling the infection remain. *JAMA* 302 (2009) 1045-1047.

Jackson Y., Getaz L., Wolff H., Holst M. Mauris A., Tardin A., Sztajzel J., Besse V., Loutan L., Gaspoz J. M., Jannin M., Albajar P., Luquetti A., Chappuis F., Prevalence, clinical staging and risk for bloodborne transmission of Chagas disease among Latin American migrants in Geneva. Switzerland. *PLoS Negl Trop Dis* 4 (2010) e592.

Tanowitz H. B., Weiss L M., Montgomery S.P. (2011). Chagas Disease Has Now Gone Global. *PLoS Negl Trop Dis* 5 (4) e1136. Doi.10 i371/journal.pnld.0001136

Machado C. M., Chagas Disease in Transplantation: Time to Enter an Era of Better Diagnosis and Better Outcomes, *American Journal of Transplantation* 2013; 13:3065-3066.

Herrera H.M., Rocha F.L., Lisboa C.V., Rademaker V., Mourão G.M., Jansen A.M., Food web connections and the transmission cycles of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in the Pantanal Region, Brazil. Volume 105, Issue 7, July 2011, Pages 380-387. [Citado 15 Die 2013]. URL disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0035920311000836>

Pinto-Dias J.C., Wendel S., Brener Z., Camargo M. E., Rassi A. Epidemiology of Chagas disease. Sao Paulo: Ed ISBT; 1992:1-5

Pinto-Dias J.C. Human Chagas Disease and Migration in the Context of Globalization: Some Particular Aspects. *Journal of Tropical Medicine* Volume 2013, Article ID 789758.

Rodríguez C.S., Liliana B., Nattero J. Competencia vectorial de *Triatoma guasayana* (Hemiptera: Reduviidae): patrón de alimentación y excreción ISSN 0373-5680 Rev. Soc. Entomol. Argent. 63 (1-2): 11-16. 2004 11

Carabarin A., González M A., Baylon L., Rosales J.L. Enfermedad de Chagas: una enfermedad olvidada. *Elementos* 84 (2011) 5-11

Segura E., González S.M. Relación Huésped-Parasito en *T. cruzi*. Capitulo XX, 1985. [Citado 26 Dic 2013]. URL disponible en <http://bvsde.paho.org/bvsacd/eco/018882-II/018882-20.pdf>



Reyes M., Angulo V. M. Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera, Reduviidae) en condiciones de laboratorio para ensayos biológicos. *Biomédica* 2009; 29:119-26

Rodrigues J., Pinto J. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease -100 years after its discovery *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 104(Suppl. I): 31-40, 2009*

Cruz-Reyes A., Pickering-López J. M., Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years-a review *Memories Institute Oswaldo Cruz* 2006; 101:345-54

Vidal-Acosta V., Ibáñez-Bernal S., Martínez-Campos C. Infección natural de chinches Triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud Publica Mex.* 2000; 42:496-503.

Zárate L.G., Zárate R.J. A checklist of the triatominae (Hemiptera. Reduviidae) of México. *Int J Entomol* 1985; 27: 103-27

Quintal R.E., Zavala J., Rodríguez M., La enfermedad de Chagas en el estado de Yucatán, México. *Rev Invest Clin.* 1975: 27 255-8

Galvão C., Carcavallo R.U., Rocha D.S., Jurberg J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel 1919 (Hemiptera. Reduviidae) and their geographical distribution with nomenclatural and taxonomic notes. 2003. *Zootaxa* 202: 1-36

Galvão C., Ángulo V. M., *Belminus corredori*, a new species of Bolboderini (Hemiptera: Reduviidae Triatominae) from Santander, Colombia. 2006 *Zootaxa* 1241: 61-68.

Costa J., Felix M., *Triatoma juazeirensis* sp. nov. from the state of Bahia, Northeastern Brazil (Hemiptera: Reduviidae Triatominae) *Mem. Inst Oswaldo Cruz* 2007, vol. 102, n.1.

Martínez E., Sossa D., Aranda R., Vargas B., Vidaurre P., *Triatoma boliviana* sp. n. de los valles subandinos de La Paz. Bolivia (Hemiptera Reduviidae: Triatominae). similar a *Triatoma nigromaculata*. 2007. *Bol Inst Invest Salud Desar* 3: 1-11

Bérenger J. M., Pluot-Sigwalt D., Pagès F., Blanchet D., Aznar C., The triatominae species of French Guiana (Heteroptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 104(8): 1111-1116. December 2009.*

Sandoval C M., Pabón E., Jurberg J., Galvão C. *Belminus ferroae* n. sp. from the Colombian north-east, with a key to the species of the genus (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). 2007. *Zootaxa* 1443: 55-64.

Gloss G., Barrera M R., Monteón V. M., Reyes P.A., American Trypanosomiasis and chronic Chagas cardiopathy at the "Ignacio Chávez"

Salazar-Schettino P. M., Barrera M., Bucio M. I., Transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión sanguínea Primer caso humano en México Rev Mex Patol Clin 1989; 36:57-59

Secretaría de Salud NOM-003-SSA2-1993. Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos México, DF. Diario Oficial de la Federación, 8 de diciembre de 1993

Ramos-Echeverría A., Monteón-Padilla V.M., Reyes-López P.A Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre. Salud Publica Mex. 1993;35 (I):56-64.

Monteón-Padilla V.M., Hernández-Becerril N., Guzmán-Bracho C., Rosales-Encinas J.I., Reyes-López P. A., American tripanosomiasis (Chagas' Disease) and blood banking in Mexico City. Seroprevalence and its potential transfusional transmission risk. Arch Med Res 1999;30.393398.

Guzmán-Bracho C., García-García L., Floriani-Verdugo J., Guerrero-Martínez S., Torres-Cosme M. Ramírez-Melgareja. Riesgos de transmisión de *T. cruzi* por transfusión de sangre. Rev Panam Salud Pública 1998, 4(2):590-60 I

Martínez-Martínez I., Espinoza-Gutiérrez B. Enfermedad de Chagas un riesgo latente de transmisión en bancos de sangre AAPAUNAM Academia. Ciencia y Cultura vol. 3 Num.2 2011

Magallón-Gastélum E., Lozano-Kasten F., Gutiérrez M.S., Flores-Pérez A. Sánchez B., Espinoza B., Bosseno M. F., Bremére S.F., Epidemiological risk for *Trypanosoma cruzi* transmission by species of *Phyllosoma* complex in the occidental part of México Acta Trop 2006;97:331-338.

Solórzano-Santos F., Enfermedad de Chagas en el siglo XXI, un panorama histórico. UMAE, Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D. F., México 2008, 5:5

Epidemiología. Secretaria de Salud 2009. Programas preventivos del CENA VECE logros y retos 2008. Boletín del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica 9. 1-4.

Sánchez-Guillén M. C., Barnabé C., Guégan J.F., Tibayrenc M., Velásquez-Rojas M., Martínez-Munguía J., Salgado-Rosas H., Torres-Rasgado E., Rosas-Ramírez M. I., Pérez-Fuentes R. High prevalence anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies, among blood donors in the State of Puebla, a non-endemic area of Mexico. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2002, vol.97, n.7, pp. 947-952.

Sosa-Jurado F., Zumaquero-Ríos J.L., Reyes P.A., Cruz-García A., Guzmán-Bracho C., Monteón V.M. Factores bióticos y abióticos que determinan la Seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en el municipio de Palmar de Bravo. Puebla, México Salud Pública Mex. 2004;46:39-48.

Tay J., Pedrosa J.H., Cruz A., Ramírez A.D., Sánchez J.T., Ruiz D., Calderón L., Romero R. Enfermedad de Chagas en el estado de Puebla. Reporte de nuevas localidades Infectadas, UNAM, Vol. 49, No 005 (2006).

Sandoval-Ruiz C A., Zumaquero-Rios J.L., Rojas-Soto O. R., Predicting Geographic and Ecological Distributions of Triatomine Species in the Southern Mexican State of Puebla Using Ecological Niche Modeling. Journal of Medical Entomology May 2008 Vol. 45, Issue 3. Pag. 540-546 doi: 10.1603/0022-2585(2008) 45[540: PGAEDO] 2.0.c0;2

Zumaquero-Rios J.L., Cruz L. A., Balerdi M.G., Cid Y. Triatomines en la mixteca poblana de Xayacatlán de Bravo Puebla. Memorias del XXXVI congreso nacional de entomología y fitopatología ITEMS Querétaro, Querétaro 2001, pág. E-127.

Carrada-Bravo T. *Trypanosoma cruzi*; Historia natural y diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Rev Méx Pátol. Clin. Vol. -1, Núm. 4, pp 206-219 • Octubre - diciembre, 2004

Solórzano-Santos F. Enfermedad de Chagas en el siglo XXI, un panorama histórico. UMAE, Hospital de Pediatría, Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D F, México 2008; 5:5

Lane J., Ribeiro-Rodrigues R., Olivares-Villagómez D., Vnencak-Jones C. L., McCurley T. L., Carter C. E. (2003). Detection of *Trypanosoma cruzi* DNA within murine cardiac tissue sections by in situ polymerase chain reaction. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 98(3), 373-376

Reiche E.M., Cavazzana M. J., Okamura H., Tagata E. C., Jankevicius S.I., Jankevicius J.V. Evaluation of the Western blot in the confirmatory serologic diagnosis of Chagas' disease The American Society of Tropical Medicine and Hygiene Am J Trop Med Hyg, 59(5), 1998, pp 750-756

Fernández-Kirchner., Guías para la atención al paciente infectado con *Trypanosoma cruzi* (Enfermedad de Chagas) Argentina, agosto 2012. [Citado en 04 Ene 2014). URL disponible en: <http://www.anlis.gov.ar/inst/INP/GuiaAtencionChagas.pdf>

CONEVAL. Medición de la pobreza, 2010 Indicadores de pobreza por municipio.

Estimaciones con base en el MCS-ENIGH 2010 y la muestra del Censo de Población y Vivienda 2010 [Citado en 04 Ene 2014]. URL disponible en:

INAFED Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México [Citado en 04 Ene 2014]. URL disponible en <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla/municipios/21196a.html>

Silveira A. C., Sánchez O., (2003). Guía para muestreo de actividades de vigilancia y control vectorial de la enfermedad de Chagas. Organización Panamericana de Salud. OPS\ DPC\ CD, 2003.276

García de la Torre G. Tripanosomiasis americana en el estado de Morelos [tesis de maestría] México D.F Universidad Nacional Autónoma de México; 1998.

Rodríguez E., Pautas éticas internacionales para la investigación biomédica en seres humanos. Ginebra 2001

Gil C., Utilización de muestras biológicas de origen humano con fines de investigación Revista de Bioética y Derecho, num 25. mayo 2012, p. 19-32.

Monteón V.M., Guzmán-Rojas L., Negrete-García C., Rosales-Encina J.L., Lopez P.A. Serodiagnosis of American Trypanosomiasis by Using Nonpathogenic Trypanosomatid Antigen Journal of Clinical Microbiology. Dec 1997, p. 3316-3319.

Iniesta, L., Fernández-Barredo, S., Bulle, B., Gómez, M. T., Piarroux, R., Gállego, M., Portús, M. (2002). Diagnostic Techniques to Detect Cryptic Leishmaniasis in Dogs. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 9(5), 1137–1141. <http://doi.org/10.1128/CDLI.9.5.1137-1141.2002>

Solórzano-Santos F. Enfermedad de Chagas en el siglo XXI. un panorama histórico. Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D. F., México 2008, 5.5

Contreras F. T., Yerenas L., Gutiérrez M. S., Anaya M. R., Corder A. J. Serological follow-up of Trypanosoma cruzi infection from 1987 to 1994 in individuals studies in 50 counties of the State of Jalisco. Mexico Rev Soc Bras Med Trop 2000.33 591-596

Organización Panamericana de la Salud (OPS). Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas. 2006. Document OPS/HDM/CD/ 425-06. Organización Panamericana de la Salud, Montevideo, Uruguay. (In Spanish.)

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

de Andrade A. L., Zicker F. Chronic malnutrition and *Trypanosoma cruzi* infection in children, J Trop Pediatr. 1995 Apr;41(2):112-5.

Segura EL, Escobar-Mesa A. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz. Salud Publica Mex 2005;47:201-208.

Mazzotti L. Triatomíneos de México y su infección natural por *T. cruzi*. Chagas Med (Mex). 1940; 20: 95.

Cuartero C.M, Ponce C., Recio R. Cinco nuevos casos de enfermedad de Chagas en Zacatecas y Jalisco, en la República Mexicana. Rev Inves Salud Publica 1967;27:29-36.

Goldsmith R. S., Kagan I. G., Zarate R., Reyes-González M. A., Cedeño-Ferreira J. Epidemiologic studies of Chagas' disease in Oaxaca, Mexico. Bull Pan Am Health Organ. 1978;12(3):236-50.

Trujillo Contreras, Francisco, Villanueva Yerenas, Maria de los Angeles, Soto Gutiérrez, Margarita, Raygoza Anaya, Miguel, & Jiménez Corder, Alberto. (2000). Seguimiento serológico de infección por *Trypanosoma cruzi* en individuos estudiados de 50 municipios del Estado de Jalisco, México de 1987 a 1994. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 33(6), 591-596. Retrieved November 22, 2015

Rangel H, Gatica R, Ramos C. Detection of antibodies against *Trypanosoma cruzi* in donors from a blood bank in Cuernavaca Morelos, Mexico. Arch Med Res 1998; 29:79-82.

Balan, L.U., Yerbes, I.M., Pí ña, M.A.N., Balmes, J., Pascual, A., Hernández, O., López,R., Monteón, V., 2011. Higher seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs than in humans in an urban area of Campeche, Mexico. Vector Borne Zoonotic Dis. (Larchmont N.Y.) 11, 843–844.

Hermes et al. Pacientes neurológicos del noroeste del Perú con serología positiva por Western Blot a la larva de *Taenia solium*. Rev. perú. med. exp. salud publica [online]. 2004, vol.21, n.2

Di Noia J.M., Buscaglia C.A., De Marchi C. R., Almeida I. C., Frasch A. C. A *Trypanosoma cruzi* small surface molecule provides the first immunological evidence that Chagas' disease is due to a single parasite lineage. J Exp Med. 2002 Feb 18;195(4):401-13.

14. Anexos

14.1. Encuesta aplicada a los tutores de los infantes

FECHA:

Nº. DE CASO

NOMBRE:

EDAD DEL ENTREVISTADO:

DIRECCIÓN:

Nº DE HIJOS

ESCOLARIDAD:

VIVIENDA

Material de las paredes:

Material del piso:

Material del techo:

Uso de leña: ()INTERIOR ()EXTERIOR

Nº de personas en la vivienda:

Nº de habitaciones:

Nº de camas:

Nº de ventanas:

Nº de personas por habitación:

Nº de sanitarios:

Tipo de estufa:

Tipo de agua de consumo general:

Tipo de agua que se ingiere:

Se desinfecta: ()si ()no

INGRESOS

Ingresos por mes:

Fuente de ingresos:

ANIMALES EN LA VIVIENDA

Aves:

Ganado:

Perros:

Gatos:

Roedores:

Intromisión en la vivienda:

Duermen en interior:

PREVENCIÓN

Mosquiteros: ()si ()no

Duerme con Mosquitero: ()si ()no

Fumigación periódica: ()si ()no

CONTACTO CON EL VECTOR

Avistamiento: ()si ()no

Fecha del avistamiento:

Lugar:

Hematófago: ()si ()no

Huevos

Estados ninfales

Estados adultos



14.2. Valoración del coeficiente kappa (Landis y Koch, 1977)

Coeficiente kappa	Fuerza de la concordancia
0.00	Pobre (<i>Poor</i>)
0.01 - 0.20	Leve (<i>Slight</i>)
0.21 - 0.40	Aceptable (<i>Fair</i>)
0.41 - 0.60	Moderada (<i>Moderate</i>)
0.61 - 0.80	Considerable (<i>Substantial</i>)
0.81 - 1.00	Casi perfecta (<i>Almost perfect</i>)