



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS IgG CONTRA *Trypanosoma cruzi* ENTRE MUJERES EMBARAZADAS DE DOS CENTROS DE SALUD COMUNITARIOS DEL ESTADO DE MORELOS

TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**B I O L O G O**

P R E S E N T A:

Graciela Jailyne Temahuay Hernández

**DIRECTOR**

M. en. C. Ma. Leonidez Olamendi Portugal

CUERNAVACA, MORELOS

DICIEMBRE, 2023

Nuestra recompensa se encuentra en el  
ESFUERZO y no en el resultado.  
Un esfuerzo total es una VICTORIA completa.

***Mahatma Gandhi***

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A Dios**

Por darme la vida, por guiarme por el buen camino, por darme la oportunidad de cumplir una meta más en mi vida.

### **A mis padres**

Fernando Temahuay Verdayes y Eduviges Hernández Arce por apoyarme incondicionalmente en mis decisiones, por enseñarme que soy capaz de lograr cada una de las metas que me propongo. Mis padres me han dado mucho amor y cariño durante esta hermosa etapa. Cada consejo que me dieron me sirvió para no rendirme y seguir adelante, ellos me comprendieron y escucharon y sé que están muy orgullosos de mí por verme cumplir una meta más en mi vida. Los amo mucho.

### **A mis hermanos**

María Yolema Temahuay Hernández, Luis Fernando Temahuay Hernández y Jesús Emmanuel Temahuay Hernández gracias por estar siempre a mi lado, apoyándome y escuchándome, gracias por hacer de mis días difíciles, días tranquilos, llenos de amor, risas y diversión. Gracias hermanos por estar al pendiente de mí, este logro es parte también de ustedes. Los amo mucho.

### **A mi esposo**

Humberto Juárez Pedroza por ser mi confidente y compañero de vida. Gracias por apoyarme incondicionalmente, por estar conmigo siempre en los momentos más duros y hermosos de mi vida. Este sueño es parte de ti, gracias por darme tu amor, cariño, risas, comprensión, apoyo y cada uno de los consejos que me diste. Siempre recordare todo lo que hiciste por mí para que pudiera concluir esta hermosa etapa, sé que estas muy contento y orgulloso de mi por verme cumplir este sueño que tanto anhelaba. Te amo

### **A mi familia**

A mis abuelos gracias por ser el ejemplo de cada generación, por enseñarnos a no rendirnos y aprender a escuchar a los demás. A mis tíos gracias por enseñarme que todo se puede lograr si damos lo mejor de nosotros mismos. A mis primos gracias por compartir conmigo cada momento, sé que puedo contar con cada uno de ustedes. A mis cuñados gracias por aconsejarme y apoyarme en todo momento. A mis sobrinos gracias por darme todo su amor y cariño. Gracias familia por ser tan unidos y demostrar que podemos salir adelante con el apoyo de todos, gracias por darme el amor de una verdadera familia. Los quiero mucho a todos.

### **A mis amigas de toda la vida**

Monce Guzmán Figueroa y Angeles Arce Bustos gracias por aconsejarme y apoyarme, aunque no nos vemos muy seguido sé que puedo contar con ustedes, estoy muy feliz de verlas triunfar y sé que ustedes también lo están por mí. Gracias por cada etapa que hemos vivido juntas, tanto en lo académico como personal. Hemos estado juntas desde la primaria, secundaria, preparatoria y aunque en la etapa universitaria nos tocó tomar distintos caminos sé que podemos contar la una con la otra. Gracias por su amistad, las quiero mucho.

### **A mis amigos de carrera**

Perla Janeth Santibáñez Amador y Luis Alexis Cabrera Ayllón con quienes compartí el inicio y final de esta hermosa etapa de mi vida, les agradezco por ser excelentes amigos y compartir conmigo parte de su vida. Gracias por compartir conmigo increíbles momentos llenos de diversión, risas, peleas, regaños, aprendizajes y sobre todo por ser comprensibles y apoyarme incondicionalmente. Por apoyarnos el uno al otro en todo momento tanto en lo académico como en lo personal de cada uno. Con ellos aprendí cosas nuevas y el apasionarnos por nuestra hermosa carrera que es BIOLOGIA. Quiero agradecer a mis amigos Donald de la Rosa, Marbella Sánchez Trujillo y Dalia Karina Rojas Alvillar quienes también formaron parte de esta etapa, amigos que fue un gusto conocer a lo largo de mi carrera profesional, gracias por brindarme su amistad y apoyo académico.

### **A mi amiga de laboratorio**

Leslie Azucena Sámano Rodríguez gracias amiga por escucharme y apoyarme incondicionalmente. Gracias por brindarme tu amistad, contigo compartí momentos únicos dentro del laboratorio, el saber si estábamos bien, el poder ver el resultado final de cada prueba, si los resultados eran correctos. Fue un trabajo difícil, pero no imposible. Lo logramos amiga, estoy muy orgullosa de ti. Te quiero mucho.

### **A mi directora**

Ma. Leonidez Olamendi Portugal a quien agradezco por ser mi asesora, por brindarme de su valioso tiempo un espacio para dedicármelo a mí, por la confianza y paciencia que me tuvo. Gracias por su apoyo incondicional, por sus aprendizajes, consejos y por ser estricta. Gracias por el desempeño y responsabilidad que como una gran profesional le puso a mi formación académica, gracias por los conocimientos que me brindo para que fuera posible realizar esta investigación. Gracias por ser una excelente asesora, la aprecio mucho.

### **A mis sínodos**

Dra. María Luisa Castejón Godínez

M. En. C. Verónica Chávez López

M. En. C. Cruz Portugal García

M. En. C. Ana Luisa Ortíz Villaseñor

Agradezco por el tiempo que dedicaron no solo en mi investigación sino en mi preparación académica. Gracias por apoyarme, escucharme y darme la confianza, seguridad en cada presentación de mis seminarios. Cada uno de ustedes contribuyo para poder realizar esta investigación, gracias por sus comentarios, correcciones y sugerencias que me sirvieron en todo momento para mejorar mi tesis. Gracias por los conocimientos y aprendizajes nuevos que me brindaron cada uno, hoy en día son la base de mi formación profesional. Gracias por todo, los aprecio mucho.

### **A la Facultad de Ciencias Biológicas**

Agradezco a la Facultad que me formo como profesionista, gracias por los conocimientos, experiencias, consejos y sobre todo por enseñarme a apasionarme por mi hermosa carrera que es la BIOLOGIA.

### **Al Instituto Nacional de Salud Pública**

Agradezco al Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas (CISEI), por haberme permitido formar parte de su equipo de trabajo, sin ustedes no podía ser posible este logro. Gracias por recibirme con las manos abiertas y brindarme su apoyo. Gracias al personal por ser tan lindas personas conmigo, gracias por sus consejos y aprendizajes. Gracias por todo.

## INDICE

I.	RESUMEN.....	7
II.	INTRODUCCION.....	8
III.	MARCO TEÓRICO.....	9
3.1	Enfermedad de Chagas.....	9
3.2	Fases de la enfermedad.....	9
3.2.1	Fase Aguda.....	9
3.2.2	Fase Indeterminada.....	9
3.2.3	Fase Crónica.....	9
3.3	Etiología.....	10
3.3.1	Agente etiológico.....	10
3.3.2	Taxonomía de <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	11
3.3.3	Vector.....	11
3.3.4	Taxonomía de <i>Triatoma</i> .....	11
3.3.5	Especies de triatominos.....	12
3.3.6	Reservorio.....	12
3.3.7	Ciclo de vida de <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	12
3.3.8	Transmisión.....	15
3.4	Epidemiología.....	16
3.5	Diagnostico.....	17
3.6	Tratamiento.....	19
IV.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	21
V.	JUSTIFICACIÓN.....	21
VI.	OBJETIVOS.....	22
VII.	HIPÓTESIS.....	22
VIII.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
IX.	RESULTADOS.....	28
X.	DISCUSIÓN.....	35
XI.	CONCLUSIONES.....	39
XII.	PERSPECTIVAS.....	40
XIII.	LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	40
XIV.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
XV.	ANEXOS.....	45

## I. RESUMEN

La enfermedad de Chagas (EC) presenta un problema de salud pública en el estado de Morelos, debido a que, al ser considerado un país endémico de la enfermedad de Chagas aún se desconoce la prevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* y además de que las autoridades de salud aún no han implementado de manera rutinaria el diagnóstico de esta enfermedad en las mujeres embarazadas. Con el fin de demostrar que la enfermedad de Chagas está presente en este estado, se determinó la prevalencia de anticuerpos IgG anti-*Trypanosoma cruzi* en mujeres embarazadas adolescentes y jóvenes de dos centros de salud de Morelos (Cuernavaca y Yautepec), así como los factores sociodemográficos, clínicos y de salud asociados a la infección. Se analizaron muestras de suero de mujeres embarazadas adolescentes y jóvenes mediante un ELISA convencional (ELISAc) con antígeno crudo nativo de Morelos. Las muestras reactivas por ELISAc se analizaron posteriormente mediante Hemaglutinación Indirecta (HAI) de un estuche comercial y por inmunofluorescencia indirecta (IFI) donde se utilizó epimastigotes de la cepa de Morelos. Se evaluaron factores sociodemográficos y de salud asociados a la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* mediante razones de momios al 95%. De las 489 muestras de suero procesadas mediante ELISAc, se observó reactividad en 6 muestras, de estas, 2 resultaron reactivas por HAI y por IFI y 1 solo por IFI. Se calculó una prevalencia general de anticuerpos anti-*T. cruzi* de 0.61%. En cuanto a los factores sociodemográficos, clínicos y de salud de las mujeres embarazadas evaluados, no se encontró ninguna asociación con la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* reportada en este estudio. La prevalencia reportada en el presente estudio, nos indica que la enfermedad de Chagas (EC) está presente en el estado de Morelos y que los casos pueden aumentar, debido a que esta enfermedad puede propagarse de manera transgeneracional, por todo esto sería muy importante que los tomadores de decisión en salud pública implementen un diagnóstico de manera obligatoria de la EC en cada trimestre de las mujeres embarazadas.

## II. INTRODUCCION

La enfermedad de Chagas (EC), también llamada Tripanosomiasis Americana es considerada como la tercera infección más común en todo el mundo y tiene una gran importancia en América Latina, en donde alrededor de 21 países de este continente son considerados endémicos de la enfermedad y un aproximado 75 millones de personas están en riesgo de contraer la enfermedad (OPS, 2021).

Es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) y su principal mecanismo de transmisión es vectorial; sin embargo, existen otras formas como la transmisión congénita, siendo esta de particular preocupación, ya que las mujeres embarazadas con EC pueden transmitir a *T. cruzi* a sus fetos. Un recién nacido infectado puede enfermarse poco después del nacimiento y morir; sin embargo, la mayoría de los niños se convierten en portadores de la infección y corren el riesgo de desarrollar problemas de salud como, hepato-esplenomegalia, meningoencefalitis, miocarditis y anemia en el transcurso de sus vidas. Por todo lo anterior, la transmisión congénita es un problema de salud pública muy importante a nivel mundial debido a la migración de mujeres infectadas con *T. cruzi* (Zabala et al., 2019).

La mayoría de las personas infectadas son asintomáticas y pueden permanecer así durante toda su vida, lo cual dificulta el diagnóstico y el tratamiento de la EC. La transmisión de *T. cruzi* de madres infectadas a sus fetos puede ocurrir en cualquier etapa del embarazo, pero ocurre con mayor frecuencia durante el segundo y tercer trimestre de gestación (Cevallos & Hernández, 2014). La mayoría de las mujeres embarazadas con EC están infectadas de manera crónica y asintomática, por lo que pueden transmitir al parásito en cada una de sus gestaciones y repetirse de una generación a otra (Suescún-Carrero et al., 2017).

En América Latina, la prevalencia de esta enfermedad en mujeres embarazadas varía de 2 a 51% en zonas urbanas y de 23 a 81% en zonas rurales de regiones endémicas (Mendoza et al., 2005), la frecuencia puede variar según la región evaluada y las pruebas diagnósticas utilizadas. Considerando la prevalencia en áreas endémicas y dado que el estado de Morelos es endémico de la enfermedad de Chagas es necesario estudiar la población de mujeres embarazadas de este estado. Conocer la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en mujeres embarazadas del estado de Morelos será importante para poder demostrar que la enfermedad de Chagas si está presente. Además, dicha información contribuirá para alertar a las autoridades de salud para que implementen de manera

rutinaria el diagnóstico de Chagas en mujeres embarazadas, y así disminuir el número de casos por transmisión congénita y evitar que la infección se siga transmitiendo de madre a hijo en las futuras generaciones.

### **III. MARCO TEÓRICO**

#### **3.1 Enfermedad de Chagas**

En el 2005 la Organización Mundial de la Salud la reconoció como una enfermedad tropical desatendida. Su nombre se debe al doctor Carlos Justiniano Ribeiro Chagas (1879-1934), médico brasileño, quien en 1909 identificó por primera vez al parásito en la sangre de una niña de dos años quien presentaba fiebre, cara hinchada, alteraciones en los tejidos por la acumulación de líquido, además, presentaba aumento en el tamaño del hígado y el bazo (Ballesteros, 2019).

#### **3.2 Fases de la enfermedad**

##### **3.2.1 Fase Aguda**

Esta fase el periodo de incubación va de 15-25 días aproximadamente, después de esto empieza los síntomas en algunas personas y en otras pasan desapercibidas, luego de tener el primer contacto con el parásito, puede durar las primeras semanas de infección hasta que la parasitemia detectada microscópicamente sea negativa (Molina et al., 2016). En algunas ocasiones pueden aparecer síntomas inespecíficos o leves como fiebre, dolor muscular, dolor en las articulaciones, dolor abdominal, dolor de cabeza, náuseas, diarrea, vómito, lesión ocular (signo de la Romaña), roncha en la piel (chagoma) e inflamación alrededor del sitio donde el parásito inoculó (OPS, 2021). La muerte en esta fase aguda es extremadamente rara y ocurre principalmente por miocarditis o meningoencefalitis, siendo más frecuente en pacientes inmunodeprimidos o en etapas tempranas de la vida (Molina et al., 2016).

##### **3.2.2 Fase Indeterminada**

En esta fase de la enfermedad los pacientes son asintomáticos, pero con un diagnóstico positivo y pueden permanecer así durante muchos años, según la Organización Panamericana de la Salud un 70% de los casos no muestran síntomas adicionales en la evolución de la enfermedad (OPS, 2021).

##### **3.2.3 Fase Crónica**

La fase crónica se inicia cuando la parasitemia detectada microscópicamente es negativa y las pruebas serológicas son positivas, lo que ocurre aproximadamente entre 1-2 meses después de la

infección (Molina et al., 2016). Generalmente después de varios años de la infección el paciente puede presentar lesiones graves en diversos órganos diana y tener repercusiones que podrían causar la muerte. Se estima que el 30% de los pacientes infectados desarrollan complicaciones más graves como alteraciones cardíacas, digestivas o afectar al sistema nervioso. Alrededor del 30% de los pacientes desarrollan daño cardíaco y un menos del 10% sufren alteraciones digestivas (OPS, 2021).

### 3.3 Etiología

#### 3.3.1 Agente etiológico

*Trypanosoma cruzi* es un parásito intracelular caracterizado por presentar un orgánulo llamado kinetoplasto. Presenta un solo flagelo y una sola mitocondria. Su reproducción es asexual por fisión binaria, presenta tres estadios durante su ciclo de vida, amastigote, epimastigote y tripomastigote (metacíclico y sanguíneo). Su ciclo de vida se desarrolla en dos huéspedes diferentes, el insecto vector y el hospedero mamífero (Figura 1).

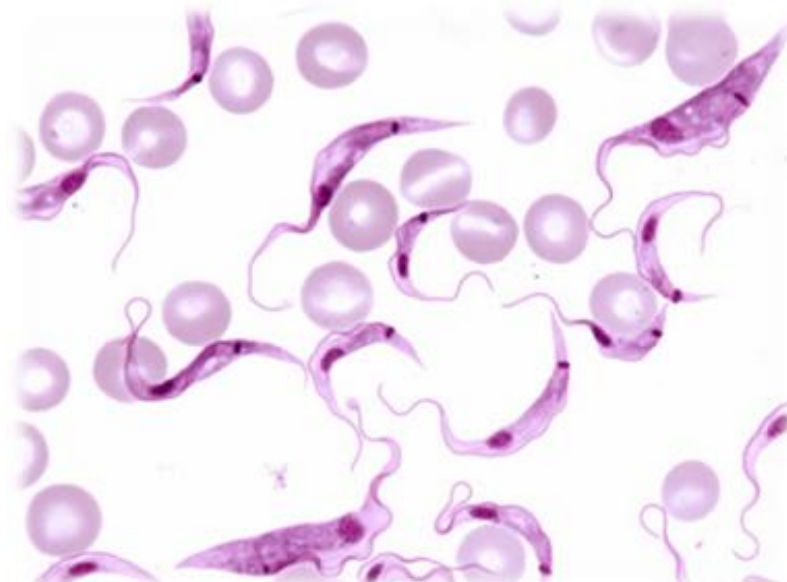


Figura 1: *Trypanosoma cruzi*. Imagen tomada del TDR: <https://sites.google.com/a/infofarmacia.com/info-farmacia/ultimas-publicaciones/tripanosomiasisaspectoshistoricos>

### **3.3.2 Taxonomía de *Trypanosoma cruzi***

Reino *Protista*

Subreino *Protozoa*

Phylum *Sarcomastigophora*

Clase *Zoomastigophora*

Orden *Kinetoplastida*

Familia *Trypanosomatidae*

Género *Trypanosoma*

Especie *T. cruzi*.

(Secretaría de Salud, 2015).

### **3.3.3 Vector**

Los vectores de *T. cruzi* son insectos hematófagos, mejor conocidos como “chinche besucona”, “vinchuca”, “chinche”, “chinche hocicona”. Estos triatóminos son considerados como los principales vectores más potenciales para transmitir el parásito, son hematófagos por lo que adquieren al parásito cuando se alimentan de la sangre de animales o de personas infectadas. Estos insectos por lo general habitan en las grietas y huecos de las paredes y los tejados de casas, así como en diferentes áreas, están presentes tanto en zonas rurales como urbanas. Son insectos nocturnos, por lo que permanecen ocultos durante el día y por la noche realizan sus actividades como alimentarse, pican en zonas expuestas de la piel y, mientras lo hacen defecan cerca de la picadura (Rojo-Medina et al., 2018).

### **3.3.4 Taxonomía de *Triatoma***

Reino *Animalia*

Filo *Arthropoda*

Clase *Insecta*

Orden *Hemiptera*

Familia *Reduviidae*

Subfamilia *Triatominae*

Genero *Triatoma*

Especie XXXX

(Secretaría de Salud, 2015)

### **3.3.5 Especies de triatominos**

En México se han reportado al menos 31 especies de triatóminos, de los cuales 19 especies pertenecen al género *Triatoma*, seis al género *Meccus*, dos especies al género *Panstrongylus* y una especie a cada uno de los siguientes géneros: *Belminus*, *Dipetalogaster*, *Eratyrus*, *Paratriatoma* y *Rhodnius*. Los géneros *Dipetalogaster*, *Meccus* y ocho especies del género *Triatoma* son endémicos de México (Menchaca-Armenta, 2019). En Morelos, el principal vector de *T. cruzi* en el estado de Morelos es *T. pallidipennis* (Ramsey et al., 2005) y en menor abundancia se encuentra a *T. Barberi* (Portugal-García et al., 2011).

### **3.3.6 Reservorio**

Se han descrito una gran variedad de vertebrados que son reservorios de *T. cruzi* como roedores, armadillos, perros, murciélagos, primates, mapaches, entre otros. Se han incluido tanto animales salvajes como domésticos, pero como reservorio principal el humano (Secretaría de Salud, 2015).

### **3.3.7 Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi***

*Trypanosoma cruzi* desarrolla un ciclo biológico heteroxeno que involucra a un hospedero invertebrado hematófago (vector) y a un vertebrado (diferentes especies de mamíferos, incluido el hombre) y en cada uno desarrolla dos morfologías distintas. Los estadios que desarrolla *T. cruzi* durante su ciclo biológico son: amastigote, epimastigote y tripomastigote (metacíclico y sanguíneo).

El amastigote es la forma replicativa no flagelada, se encuentra en el interior de las células del mamífero hospedador (intracelular). Presenta forma semiesférica, mide aproximadamente de 2 a 4 µm, se puede observar el núcleo, el kinetoplasto y el cuerpo basal (figura 2).

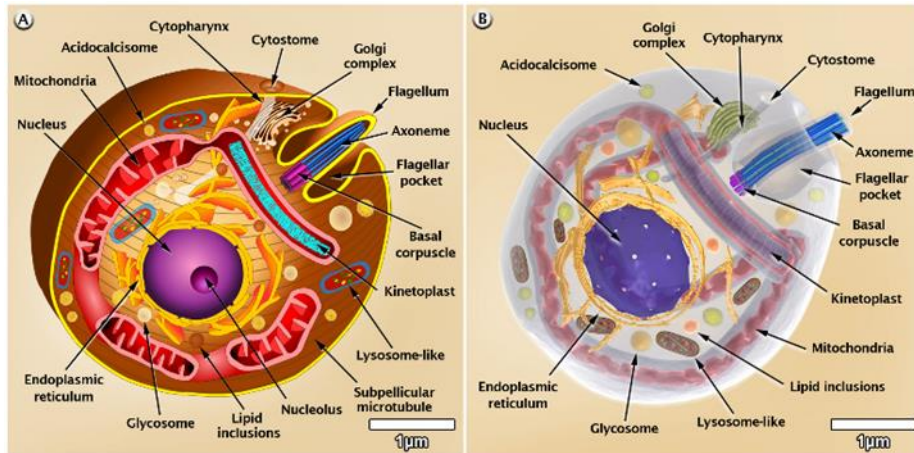


Figura 2: Esquema de la forma Amastigote (A modelo 2D y B modelo 3D). Representación de la estructura y los orgánulos que se encuentran en la forma amastigote de *T. cruzi*. Imagen tomada de Teixeira DE, Benchimol M, Crepaldi PH, de Souza W (2012). Interactive Multimedia to Teach the Life Cycle of *Trypanosoma cruzi*, the Causative Agent of Chagas Disease. PLoS Negl Trop Dis 6(8): e1749. doi: 10.1371/journal.pntd.0001749.

El epimastigote es la forma replicativa y se encuentra en el intestino del insecto vector, mide de 20 a 22  $\mu\text{m}$ , tiene una forma alargada, tiene un kinetoplasto de donde se forma un flagelo más largo (figura 3).

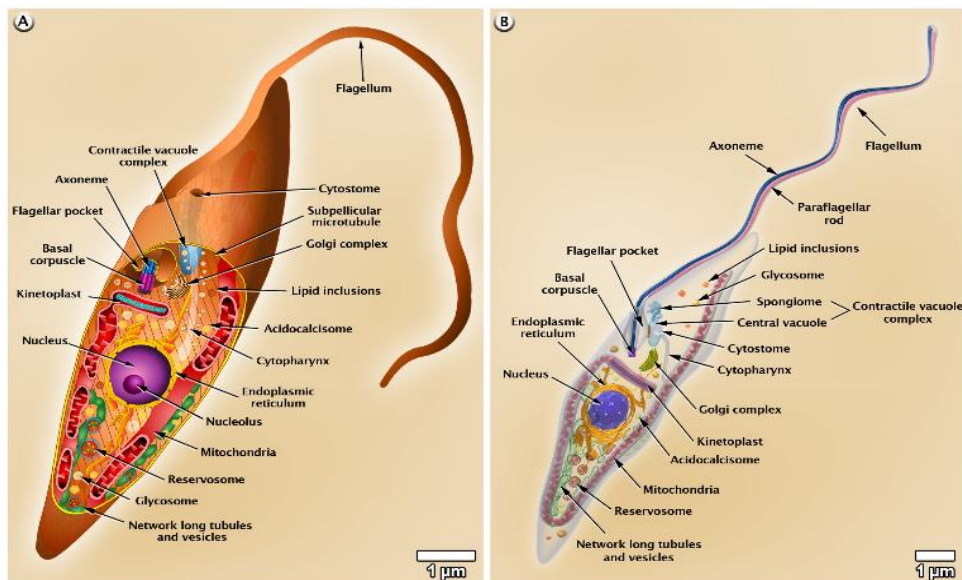


Figura 3: Esquema de la forma Epimastigote (A modelo 2D y B modelo 3D). Representación de la estructura y los orgánulos que se encuentran en la forma epimastigote de *T. cruzi*. Imagen tomada de Teixeira DE, Benchimol M, Crepaldi PH, de Souza W (2012). Interactive Multimedia to Teach the Life Cycle of *Trypanosoma cruzi*, the Causative Agent of Chagas Disease. PLoS Negl Trop Dis 6(8): e1749. doi: 10.1371/journal.pntd.0001749.

El tripomastigote es la forma flagelada no replicativa dentro de los dos hospederos, es más alargada (mide de 25 a 27  $\mu\text{m}$ ), con un flagelo más largo que le permite la movilidad. El tripomastigote metacíclico es la forma infectiva que se encuentra en las heces del insecto vector mientras que el tripomastigote sanguíneo es la forma infectante que se encuentra en la sangre del mamífero hospedador (figura 4).

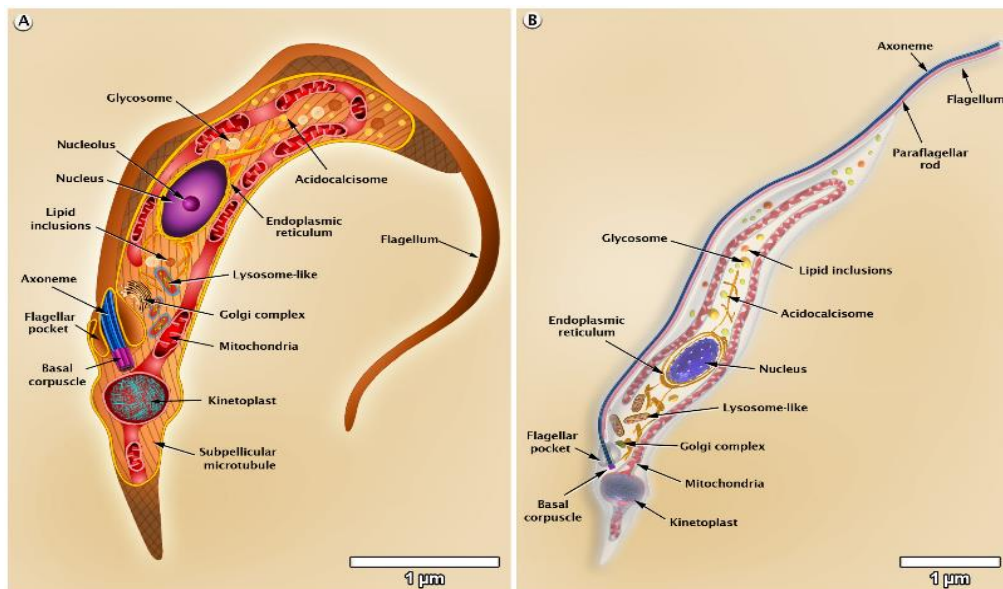


Figura 4: Esquema de la forma Tripomastigote (A modelo 2D y B modelo 3D). Representación de la estructura y los orgánulos que se encuentran en la forma Tripomastigote de *T. cruzi*. Imagen tomada de Teixeira DE, Benchimol M, Crepaldi PH, de Souza W (2012). Interactive Multimedia to Teach the Life Cycle of *Trypanosoma cruzi*, the Causative Agent of Chagas Disease. PLoS Negl Trop Dis 6(8): e1749. doi: 10.1371/journal.pntd.0001749.

El ciclo comienza cuando el insecto vector ingiere la sangre de mamíferos infectados con tripomastigotes sanguíneos, estos viajan al interior del insecto especialmente a su intestino, donde sufrirán una serie de transformaciones, primero a su forma replicativa (epimastigotes) y posteriormente a tripomastigotes metacíclicos (forma infectiva), que serán eliminados por el insecto en las heces. La defecación ocurre cuando el insecto se alimenta de la sangre del mamífero, eliminando por las heces a los tripomastigotes metacíclicos, estos pueden penetrar al mamífero por medio del sitio donde el insecto vector pica o por la mucosa ocular o al momento de rascarse provocar una herida. Cuando los tripomastigotes metacíclicos entran al organismo del mamífero invaden las células, una vez dentro de ellas tendrán que transformarse en amastigotes para poder replicarse. Los amastigotes se transforman en tripomastigotes sanguíneos, revientan la célula y entran al torrente sanguíneo. Los tripomastigotes sanguíneos pueden infectar a otras células y así formar nuevos sitios de infección, dentro de la célula

vuelven a transformarse en su forma replicativa (amastigotes). Los tripomastigotes sanguíneos permanecen en el torrente sanguíneo del mamífero por lo que cuando el insecto vector se alimenta de la sangre de él ingiere a las tripomastigotes sanguíneos, de esta forma el insecto vector se infecta con el parásito y es así cuando vuelve a iniciar el ciclo (Ballesteros, 2019) (figura 5).

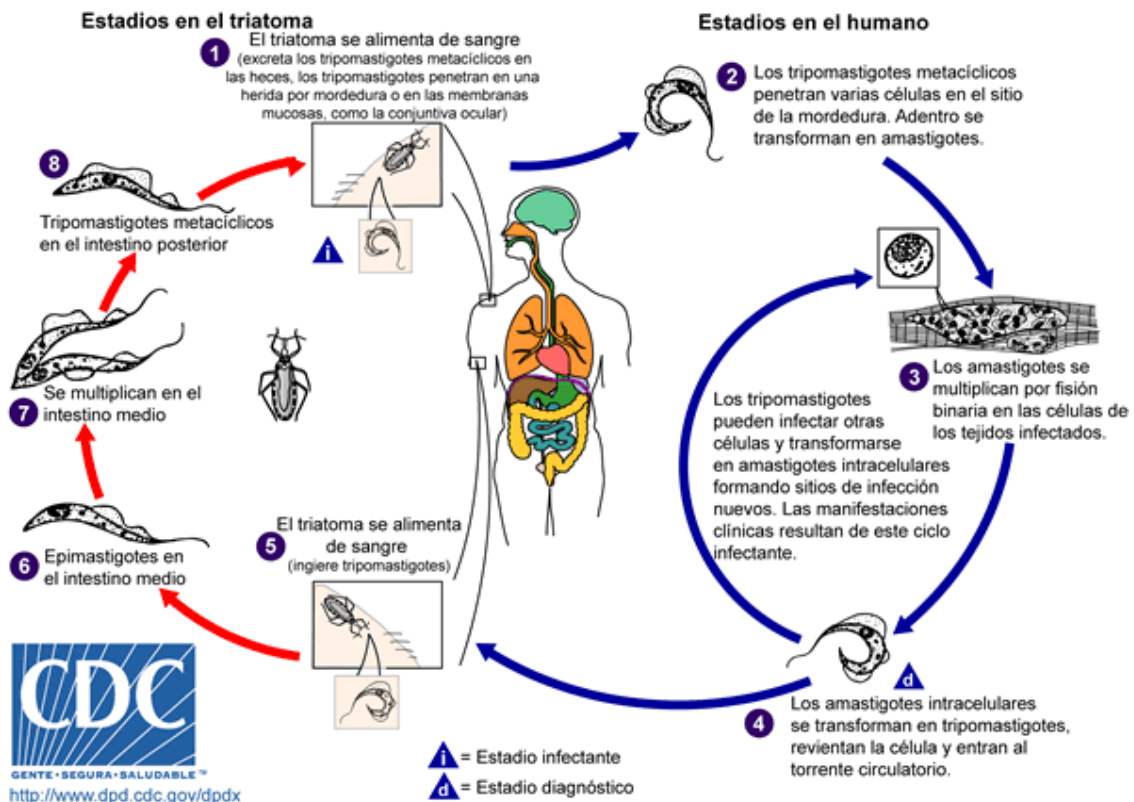


Figura 5. Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*. Imagen tomada de <https://www.mcdinternational.org/trainings/malaria/spanish/dpdx/HTML/TrypanosomosisAmericana>.

### 3.3.8 Transmisión

**Transmisión vectorial:** Es la forma de transmisión más frecuente en América Latina (Menchaca-Armenta, 2019). Es causada por el contacto con insectos triatominos pertenecientes a la familia *Reduviidae*, estos insectos son de hábito nocturno y excretan tripanosomas contenidos en las heces durante la succión de la sangre. Se han descrito tres formas de la transmisión vectorial: la intradomiciliaria, la peridomiciliaria y la silvestre. La transmisión vectorial ocurre cuando las personas tienen contacto de la piel o las mucosas con las heces la orina de triatominos infectados con *T. cruzi* (Mendoza et al., 2005).

**Transfusión sanguínea:** Es considerada como la segunda transmisión más importante seguida de la vectorial debido a las migraciones de poblaciones infectadas provenientes de zonas endémicas se ha logrado expandir al parásito, por lo que en países endémicos es obligatorio el tamizaje en los bancos de sangre. El donante pasa inadvertido por ausencia de signos y síntomas lo que contribuye a desconocer que padece la enfermedad (Álvarez-Hernández et al., 2018; Rubio-Ortiz et al., 2020).

**Transmisión congénita:** Ocurre cuando la madre infectada transmite al parásito *T. cruzi* al feto, puede observarse en cualquier etapa del embarazo, pero con mayor frecuencia durante el segundo y tercer trimestre de gestación. De acuerdo a Cevallos en 2014, la transmisión del parásito durante el primer trimestre (semanas 1 a 12) no es muy frecuente, debido a que el espacio intervilloso placentario no está abierto debido al taponamiento del trofoblasto endovascular de las arterias espirales. Después de la duodécima semana de gestación el riego sanguíneo materno se vuelve continuo y difuso en toda la placenta, es por ello que la transmisión de parásitos sanguíneos al feto ocurre con mayor frecuencia durante el segundo y tercer trimestre del embarazo (transmisión prenatal). Además, puede ocurrir cerca del parto y durante el trabajo de parto a través de rupturas / desgarros placentarios.

La frecuencia de transmisión congénita puede variar según la zona, en América Latina la tasa es del 2%, pero en países como Argentina, Bolivia y México varía entre el 5% y el 7% (Nobre et al., 2021). Se estima que el riesgo de transmisión de una madre infectada con el parásito al recién nacido es del 5%, pero las cifras pueden variar desde 0.7 hasta 18.2%, estas variaciones dependen del área geográfica y de otros factores (Menchaca-Armenta, 2019). La EC congénita si no es tratada puede ser multigeneracional.

### **3.4 Epidemiología**

La infección es considerada exclusiva del continente americano pero debido a los flujos migratorios la enfermedad se ha distribuido a nivel mundial. Se estima que en el mundo hay de 6 a 7 millones de personas infectadas por *T. cruzi*, la mayoría de ellas de América Latina en las que están incluidas dos millones de mujeres en edad reproductiva (OMS, 2021).

En América Latina la prevalencia en mujeres embarazadas varía. Suescún-Carrero et al., en su estudio en Boyacá, Colombia, reportaron una prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* de 2.5 %, los municipios con mayor prevalencia fueron Soata (3.3%) y Chitaraque (8.3%) (Suescún-Carrero et al., 2017). Sin embargo, en otro estudio realizado en el municipio de Socotá la prevalencia de anticuerpos

*anti- T. cruzi* en mujeres en edad fértil fue de 1.4% (Monroy et al., 2016). Castellanos-Domínguez et al., reportaron una seroprevalencia en Santander Colombia similar al municipio de Soata de 3.2% en mujeres embarazadas (Castellanos-Domínguez et al., 2016). Se han reportado prevalencias menores en Perú con 0.73% (Mendoza et al., 2005), en Medio Oeste de Brasil 0.19% (Nobre et al., 2021). En México, en el estado de Chiapas la prevalencia reportada en 2016 en el municipio de Palenque fue de 2.6%, y en Tapachula la prevalencia fue de 1.5% (Campos-Valdez et al., 2016).

### 3.5 Diagnostico

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas depende de las manifestaciones clínicas y en gran medida de la fase de la enfermedad en la que se encuentre la persona infectada. En la fase aguda la parasitemia en la sangre de la persona infectada es elevada por lo que el diagnóstico se basa en métodos directos, en esta fase de la enfermedad es posible observar a los parásitos mediante métodos parasitológicos. Los métodos parasitológicos detectan al parásito *T. cruzi* en la sangre de los pacientes infectados, algunas técnicas parasitológicas que se utilizan para el diagnóstico en fase aguda son: examen directo, gota gruesa, microhematocrito, hemocultivo, entre otras (Secretaría de Salud, 2015).

**Examen directo.** Es un método sencillo, rápido y sensible. Es utilizado cuando el paciente presenta una fase aguda de la infección, debido a su elevada parasitemia. Para realizar este examen se necesita una gota de sangre del paciente como muestra, esta será colocada en un portaobjetos y posteriormente se cubrirá con un cubreobjetos. Se llevará a microscopio para analizarla y buscar la presencia del parásito en forma de tripomastigote (Siqueira-Batista et al., 1994).

**Técnica de gota gruesa.** Consiste en colocar dos o tres gotas de sangre del paciente infectado sobre un portaobjetos, posteriormente será cubierta con un portaobjetos. La muestra se deja secar, se mete en agua destilada para que ocurra hemólisis, se obtiene la coloración por GIEMSA. Después se examina al microscopio, y se observa si hay presencia del parásito (Siqueira-Batista et al., 1994).

**PCR (reacción en cadena de la polimerasa).** Esta técnica nos permite amplificar secuencias específicas del ADN del parásito *T. cruzi*, tiene alta especificidad y sensibilidad para detectarlo (Ballesteros, 2019). Esta técnica puede ser utilizada en ambas fases de la enfermedad (crónica y aguda), cuando la carga parasitaria o los anticuerpos son muy bajos y estos no pueden ser detectados por otros métodos. Además, pueden ser usados cuando se requiere de una prueba confirmatoria (Rubio-Ortiz et al., 2020).

Cuando el paciente entra a una fase crónica la presencia del parásito *T. cruzi* en la sangre disminuye, por lo que el diagnóstico se hace mediante métodos indirectos. Los métodos serológicos son métodos basados en la detección de anticuerpos específicos contra *T. cruzi*. Las técnicas más empleadas son la inmunofluorescencia indirecta (IFI), la Hemoaglutinación Indirecta (HAI) y el enzoinmunoanálisis (ELISA). Debido a que ninguna de las pruebas serológicas presenta alta especificidad y sensibilidad es necesario que el diagnóstico en personas infectadas en fase crónica, se realice con dos pruebas serológicas con diferente principio, en caso de que haya discordancia se deberá realizar una tercera prueba para poder confirmar un caso de Chagas positivo o descartar que la persona está infectada con el parásito (Molina et al., 2016).

**Inmunofluorescencia Indirecta (IFI):** es una técnica basada en la reacción antígeno-anticuerpo. En esta técnica se fija el parásito completo (epimastigote) en un portaobjetos. Si el suero del paciente contiene los anticuerpos, se produce una reacción antígeno-anticuerpo, al que posteriormente se le añade un conjugado que corresponde un anticuerpo marcado con una sustancia fluorescente. Si hay reconocimiento al anticuerpo se une el complejo y forman un complejo fluorescente, la reacción puede ser observada mediante un microscopio de fluorescencia UV (Florez & Caicedo, 2017).

**Hemaglutinación Indirecta (HAI):** permite la detección de anticuerpos *anti-T. cruzi*, esta técnica está basada en la propiedad que tienen los anticuerpos *anti-T. cruzi* de producir una reacción de aglutinación específica en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con fracciones antigénicas solubles del parásito *T. cruzi*. Algunos de estos anticuerpos llamados heterófilos pueden dar lugar a casos falsos positivos, para evitar estos resultados los anticuerpos heterófilos pueden ser bloqueados mediante el uso de 2-Mercaptoetanol (Florez & Caicedo, 2017).

**Métodos inmunoenzimáticos.** Existen dos tipos de pruebas, en las que el antígeno puede ser el parásito completo o extractos solubles o purificados (pruebas convencionales) y las pruebas que utilizan antígenos recombinantes o péptidos sintéticos (no convencionales).

**ELISA indirecto:** es utilizada para detectar anticuerpos. Como primer paso se fija el antígeno en los pocillos de la placa, posteriormente la placa se incuba y después de la incubación se realizan lavados para eliminar aquellos antígenos que pudieron quedar libres, es decir que no pegaron. Posteriormente se agrega una sustancia bloqueante para rellenar aquellos sitios donde el antígeno no logró fijarse, la placa se incubará el tiempo necesario, se realizarán una serie de lavados para eliminar el material no

unido. Después se añade el suero del paciente, la placa es incubada el tiempo necesario y si los anticuerpos buscados se encuentran en la muestra estos se unirán al antígeno, formando un complejo antígeno-anticuerpo. Se realiza una serie de lavados para eliminar el material no unido. A continuación, se añade un conjugado IgG anti-humano unido a una enzima (peroxidasa o fosfatasa alcalina), si el complejo antígeno/anticuerpo está presente, el conjugado se unirá a este complejo, se realizan nuevamente lavados. Se añade un sustrato de enzima que contienen un cromógeno, para posteriormente incubar la placa el tiempo necesario, si se desarrolla un producto coloreado la muestra es positiva. Para detener la reacción se añade ácido sulfúrico. La lectura de los resultados es mediante un equipo especializado (espectrofotómetro) que mide la densidad óptica (Florez & Caicedo, 2017; Madigan et al., 2015) (figura 6).

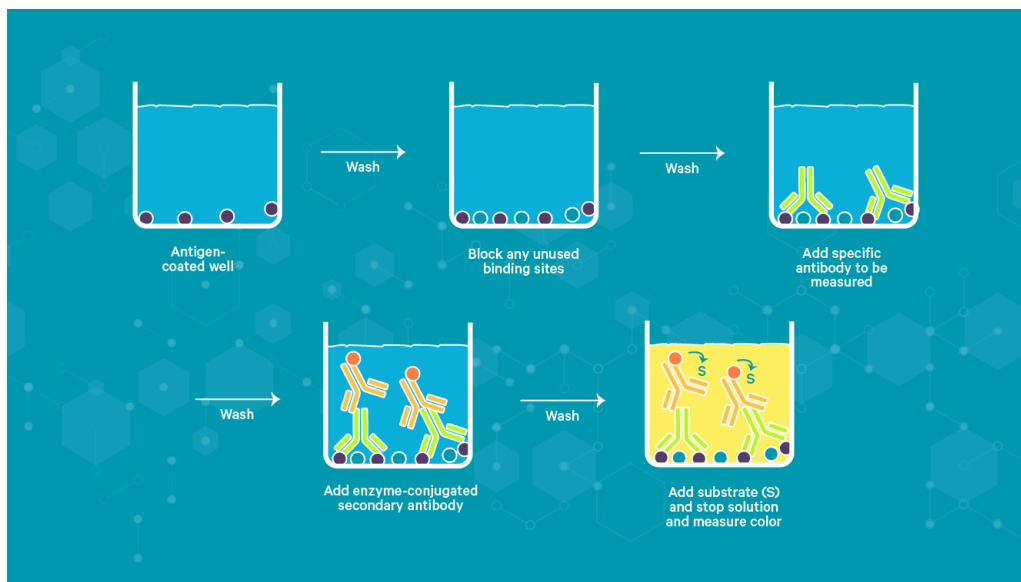


Figura 6. Procedimiento de la prueba de ELISA indirecto. Imagen tomada de <http://www.news-courier.com/analysis/articles/an-introduction-to-the-enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa-test-350024>

### 3.6 Tratamiento

Para el tratamiento de la enfermedad de Chagas existen dos fármacos principalmente: el benznidazol y el nifurtimox; sin embargo, otros fármacos menos empleados como el alopurinol y el itraconazol. En la fase aguda de la enfermedad, el benznidazol y el nifurtimox han demostrado ser efectivos con tasas de curación entre el 65 y el 80% de los pacientes, llegando a tasas por encima del 95% en casos de

transmisión congénita tratados de manera precoz. En los casos de infección crónica se consiguen tasas de curación mucho menores entre el 15 y el 40% de las personas infectadas (Molina et al., 2016).

Las mujeres embarazadas con EC no deben recibir tratamiento, debido a que todos los fármacos antes mencionados están contraindicados, debido a los efectos teratogénicos potenciales que pueden producir además no se recomienda ni durante la lactancia, debido a las posibles repercusiones que pueden generar los medicamentos, se sugiere el tratamiento después de completar la lactancia. El tratamiento en las mujeres en edad reproductiva podría disminuir el riesgo de la transmisión de la madre a los futuros hijos (Zamora et al., 2021).

El benznidazol es un nitroheterocíclico que actúa sobre la síntesis de ADN del parásito, principalmente en la forma tripomastigote (Rojo-Medina et al., 2018). Son comprimidos de 100mg, en adultos se recomienda una dosis de 5 a 7 mg/kg/día, repartida en dos dosis. Los niños tienen mejor tolerancia al medicamento por lo que pueden administrarse 10 mg/kg/día divididas en dos dosis, a los recién nacidos se les debe administrar 5mg/ kg/ día repartidos en dos dosis. El tiempo del tratamiento tiene que ser durante 60 días tanto en adultos, niños y recién nacidos (Álvarez-Hernández et al., 2018). Las reacciones secundarias más comunes de este medicamento son efectos dermatológicos, además pueden destacar alteraciones gastrointestinales como vómito, diarrea, náusea, anorexia. Otros efectos adversos son depresión medular, parestesia, leucopenia, entre otras (Álvarez-Hernández et al., 2018; Palmezano et al., 2014).

El nifurtimox es un compuesto de nitrofurano que inhibe la síntesis de ácidos nucleicos de los tripomastigotes mediante la formación de radicales libres de oxígeno (Rojo-Medina et al., 2018). Comprimidos de 30, 120, 250 mg. En adultos se debe administrar una dosis de 8 a 10 mg/kg/día repartidas en cuatro dosis, en los niños una dosis de 15 a 10 mg/kg/día divididos en cuatro dosis. En los recién nacidos se debe administrar 10 mg/kg/día divididos en tres dosis. La duración del tratamiento en recién nacidos es de 60 días, en cambio en adultos y niños es de 90 días. Las reacciones adversas más frecuentes son efectos gastrointestinales, anorexia, dolor abdominal, pérdida de peso, náuseas y vómitos. Además, pueden ocurrir anomalías neurológicas, los pacientes pueden tener desorientación, irritabilidad, insomnio y temblores (Álvarez-Hernández et al., 2018).

#### IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad de Chagas es considerada como la tercera infección parasitaria más común en todo el mundo y no ha sido atendida en la mayoría de los países donde la transmisión de la infección es más elevada. El estado de Morelos es considerado endémico de la enfermedad de Chagas, sin embargo, las autoridades de salud aún no han implementado de manera rutinaria el diagnóstico de esta enfermedad en las mujeres embarazadas.

Es por ello que se debe seguir insistiendo, dando a conocer la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en embarazadas, porque la transmisión congénita es una de las principales vías de transmisión y si se realizará este screening o tamizaje en esta población se reduciría la propagación del parásito de una generación a otra.

#### V. JUSTIFICACIÓN

La enfermedad de Chagas es una infección de gran importancia en América Latina, donde aproximadamente 21 países de este continente son considerados endémicos de la enfermedad, incluyendo México. Se estima que actualmente hay de 6-7 millones de personas infectadas a nivel mundial.

En México la enfermedad de Chagas no es reconocida como un problema prioritario de salud pública. Esta enfermedad afecta prácticamente a todos los grupos de edad, tanto a hombres como a mujeres; sin embargo, según lo reportado por los servicios estatales de salud de México, en 2021 se registraron cinco estados (Guanajuato, Jalisco, Nuevo León, Tamaulipas y Veracruz) con el mayor número de casos: 315 casos en fase crónica y 12 en etapa aguda, afectando a 11 mujeres embarazadas. Por lo que el presente estudio pretende contribuir en el estado de Morelos estudiando y dando a conocer la prevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en mujeres embarazadas, esto evitará que las futuras generaciones estén en riesgo de infectarse. Además, será de suma importancia dar a conocer los factores asociados a la infección por *T. cruzi* en las mujeres embarazadas jóvenes y adolescentes.

## VI. OBJETIVOS

### General

Determinar la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en mujeres embarazadas jóvenes y adolescentes en dos Centros de Salud Comunitarios del estado de Morelos.

### Particulares

1. Determinar la presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* con una prueba de ELISA convencional utilizando antígeno nativo en mujeres embarazadas jóvenes y adolescentes en el estado de Morelos, México.
2. Aplicar la prueba de hemaglutinación indirecta a todas las muestras de suero que resulten positivas por la prueba de ELISA.
3. Aplicar la prueba de inmunofluorescencia indirecta a todas las muestras con resultados discordantes entre la prueba de ELISA y hemaglutinación indirecta.
4. Determinar la asociación entre la prevalencia anti-*T. cruzi* obtenida y la edad, la procedencia y el trimestre de gestación de las participantes.

## VII. HIPÓTESIS

- Dado que la enfermedad de Chagas es endémica en el estado de Morelos es probable que la prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en mujeres embarazadas jóvenes y adolescentes de este estado sea entre 0.5%-5%, similar a lo reportado en otros estados endémicos de la República Mexicana.

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras biológicas:

Para la realización de este trabajo se tuvo acceso a un banco de sueros del Centro de Investigación Sobre Enfermedades Infecciosas (CISEI) del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP). Los sueros provenían de un estudio de tipo longitudinal titulado *“Participación de la microbiota vaginal para el riesgo de las infecciones de transmisión sexual durante el embarazo adolescente”*, en dos centros de salud comunitarios del estado de Morelos, durante los años octubre 2018 a marzo 2020. Dicho proyecto se realizó en colaboración con los Servicios de Salud del Estado de Morelos y fue aprobado por los comités de Ética, Investigación y Bioseguridad del Instituto Nacional de Salud Pública. En este proyecto fueron incluidos otros estudios para la detección de infecciones causadas por bacterias, virus, hongos y protozoarios. Los centros de salud que participaron en el proyecto fueron: Centro de Salud Comunitario de Cuernavaca y Centro de Salud Comunitario de Yauatepec (figura 7). La población de estudio consistió en mujeres embarazadas adolescentes de 10 a 24 años de edad que acudieron a consulta prenatal en los centros de salud antes mencionados y cumplieron con los criterios de inclusión establecidos en el proyecto original.

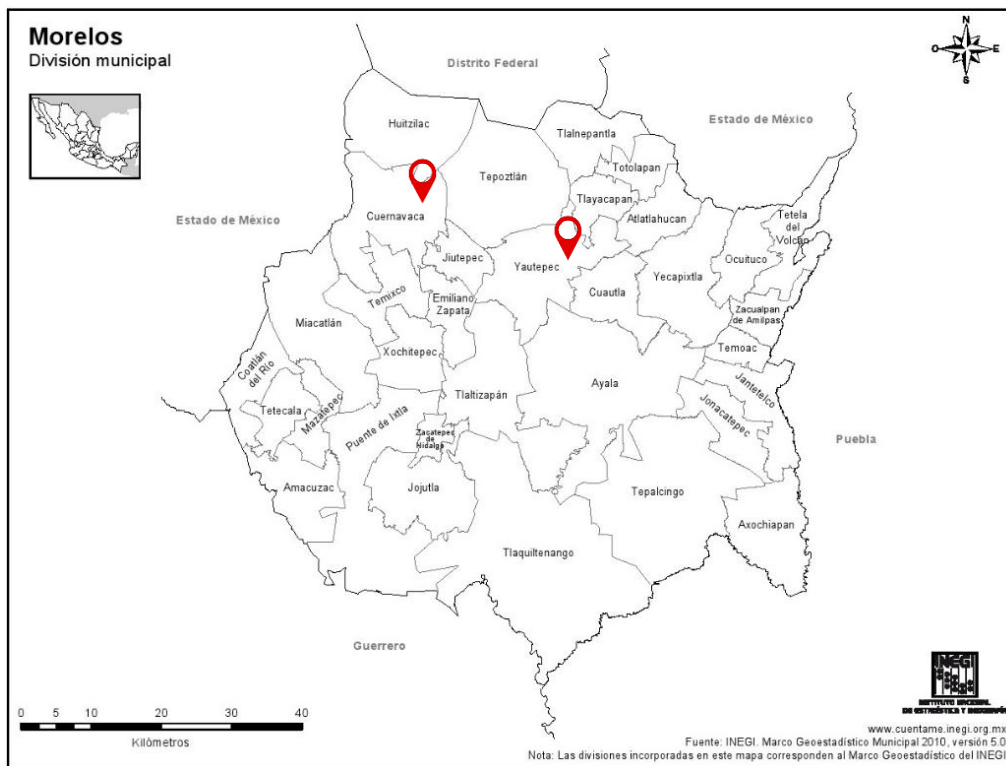


Figura 7: Ubicación de Centro de Salud Comunitario de Cuernavaca y Centro de Salud Comunitario de Yauatepec. Imagen tomada de <https://mapasinteractivos.didactalia.net/ca/comunitat/mapasflashinteractivos/recurs/mapa-de-municipios-de-morelos-inegi-de-mexico/32a3203a-60c6-4bf9-ad6b-a60a1d5eca4e>.

A cada participante se le aplicó un cuestionario donde se les preguntó datos sobre características sociodemográficas, clínicas y de salud reproductiva. Las participantes proporcionaron una muestra de sangre.

### **Toma de muestra de sangre**

Las muestras de sangre fueron obtenidas por personal de salud capacitado, utilizando el sistema Vacutainer. Dichas muestras fueron identificadas por una clave para cada embarazada para manejarlas de forma anónima, es decir que el manejo de las muestras biológicas no se hizo con el nombre de la embarazada. La toma de muestras se realizó en cada una de las visitas (visita trimestral) programadas para cada mujer embarazada, según fue el caso. Las muestras fueron enviadas semanalmente al laboratorio de "Infecciones de Transmisión Sexual" del Centro de Investigación sobre Enfermedades Infecciosas (CISEI) del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP).

Una vez recibidas en el laboratorio, las muestras de sangre fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 10 minutos y se realizaron dos alícuotas de aproximadamente 1.5 ml. Una alícuota fue guardada a -20 °C y la otra se mantuvo en refrigeración (4 °C) hasta su uso.

### **Detección serológica.**

La detección serológica se realizó utilizando un ELISA convencional (ELISAc) con antígeno nativo, una prueba de Hemaglutinación Indirecta con antígenos citoplasmáticos de *T. cruzi* y una prueba de Inmunofluorescencia Indirecta con antígeno nativo.

La ELISAc ha sido previamente estandarizada y utilizada en el laboratorio de serología del CISEI (INSP). En la prueba de ELISAc e IFI se utilizó una mezcla de cuatro cepas de epimastigotes de *T. cruzi* (TL/MOR/MEX/2013, JP/MOR/MEX/2013, YT/MOR/MEX/2013 y PI/MOR/MEX/2013), del estado de Morelos, México.

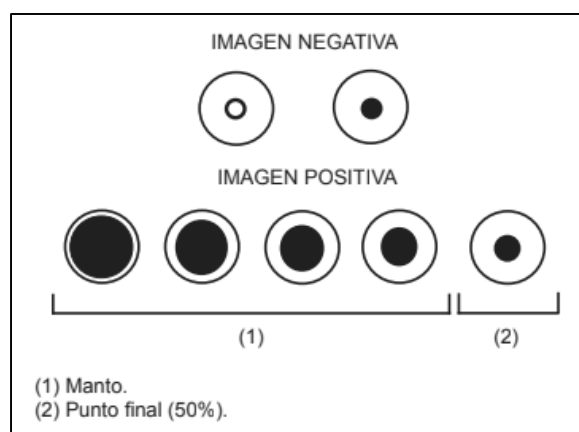
**ELISAc.** La solución antigénica se preparó a una concentración de 2 µg/ml diluido en amortiguador de carbonatos 0.15 M (pH 9,6). Los pocillos de las placas de fondo plano se sensibilizaron con 50 µl de la preparación antigénica y se incubaron durante 17 h a 4 °C. Al día siguiente, las placas sensibilizadas se lavaron cuatro veces con PBS 0,01M con Tween 20 al 0,05% (pH 7.2). Posteriormente, se adicionaron 200 µl de leche completa al 10% y la placa se incubó a 37 °C durante 1 h, finalmente se realizaron cuatro lavados. 75 µl de cada muestra y de los controles diluidos 1:1000 fueron agregados en los pocillos correspondientes. La placa se incubó a 37 °C durante 2 h y se

realizaron cuatro lavados. Se agregaron a cada pocillo 75 µl/pozo de conjugado anti-IgG humano marcado con peroxidasa, la placa se incubó a 37 °C durante 1 h y se realizaron cuatro lavados y un último lavado con PBS pH 7,2 (sin Tween 20). Se agregó a cada pocillo 75 µl de sustrato (TMB Peroxidase Microwell, KPL) y después de 5 min de incubación en obscuridad a temperatura ambiente (22-25 °C), se adicionaron 75 µl de ácido sulfúrico 1N para detener la reacción enzimática. En cada ensayo se incluyeron controles negativos, positivos y blancos en duplicado. Los valores de absorbancia fueron leídos a 450 nm en un espectrofotómetro. Las mediciones se normalizaron en base al control positivo de cada placa, el cual fue el mismo durante todo el estudio. Los criterios de positividad de ELISAc fueron determinados de acuerdo a un panel de muestras positivas y negativas, considerando la media y una desviación estándar, se determinaron los puntos de corte, muestras positivas, negativas e indeterminadas (ver anexo II).

**Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI) (Chagatest Wiener Lab., Rosario Argentina).** Es un inmunoensayo comercial, se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos (*anti-T. cruzi*) de producir aglutinación específica en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con los correspondientes antígenos (*T. cruzi*). El procedimiento para realizar la prueba de hemaglutinación indirecta (HAI) (tabla 1), así como la interpretación de los resultados se realizaron siguiendo las instrucciones del fabricante, se colocaron 25 µl o 1 gota del diluyente de suero HAI desde el pozo 1 hasta el 4, posteriormente se adicionaron 25 µl o 1 gota de la muestra al pozo No. 1 y se mezcló varias veces (10 veces). Después se transfirieron 25 µl del pozo No.1 al pozo No.2 y así sucesivamente hasta la dilución deseada (dilución 1:16) y se desecharon 25 µl de la última dilución. Posteriormente se colocaron en los pocillos 1 y 2 (diluciones 1:2 y 1:4) 25 µl o 1 gota de glóbulos rojos no sensibilizados (para control de la heterofilia). En el resto de los pocillos (3 y 4), se agregaron 25µl de Antígeno HAI como se muestra en la tabla 1. Se mezcló el contenido de los pozos aplicando suaves golpes en los laterales de la placa, se cubrió la placa y se dejó en reposo a resguardo de vibraciones a temperatura ambiente (15-30°C) durante 90 minutos. Los resultados se leyeron a partir de los 90 minutos (ver anexo I).

Pozo No.	1	2	3	4
Diluyente de suero				
HAI (µl)	25	25	25	25
Muestra (µl)	25	25	25	25
Diluciones de la muestra	1:2	1:4	1:8	1:16
Desechar (µl)				25
Glóbulos rojos (µl)	25	25		
Antígeno HAI (µl)			25	25

Un resultado no reactivo se consideró cuando un sedimento en forma de botón o pequeño anillo de bordes regulares estuvo presente, y un resultado reactivo se consideró cuando se observó la formación de una película o manto que cubrió el 50% o más del fondo de los pocillos.



**Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).** Se usaron portaobjetos horadados congelados a -20 °C previamente preparados con epimastigotes de *T. cruzi* adheridos (la preparación o antigenación de los portaobjetos consistió en agregar 15 µl de una solución con epimastigotes a una concentración de  $1 \times 10^6$  parásitos/ml). 24 horas antes del ensayo los portaobjetos antigenados se pasaron a 4 °C para su uso. Al día siguiente, los portaobjetos se colocaron en un vaso de Coplin con PBS 1X para hidratarlos durante 30 min. Posteriormente, se adicionaron 15 µl de cada muestra y de los controles diluidos 1:32 en los pozos correspondientes. El portaobjetos se incubó a 37 °C en una cámara húmeda durante 30 min. Concluida la incubación se realizaron 4 lavados con PBS- T 1X, previamente preparado, dejando reposar por 3 min entre cada lavado. Se agregaron a cada pocillo del portaobjetos 15 µl de conjugado anti-IgG humano marcado con FITC (Isotiocianato de fluoresceína; SIGMA) a una

dilución 1:32, el portaobjetos se incubo a 37 °C durante 30 min en una cámara húmeda. Posteriormente se realizaron cuatro lavados y un último lavado con H<sub>2</sub>O destilada. Después se dejó secar el portaobjetos y se agregaron 5 µl/pozo de glicerol al 80% y se cubrió con un cubreobjetos. Las muestras se observaron en el microscopio de epifluorescencia a 100X.

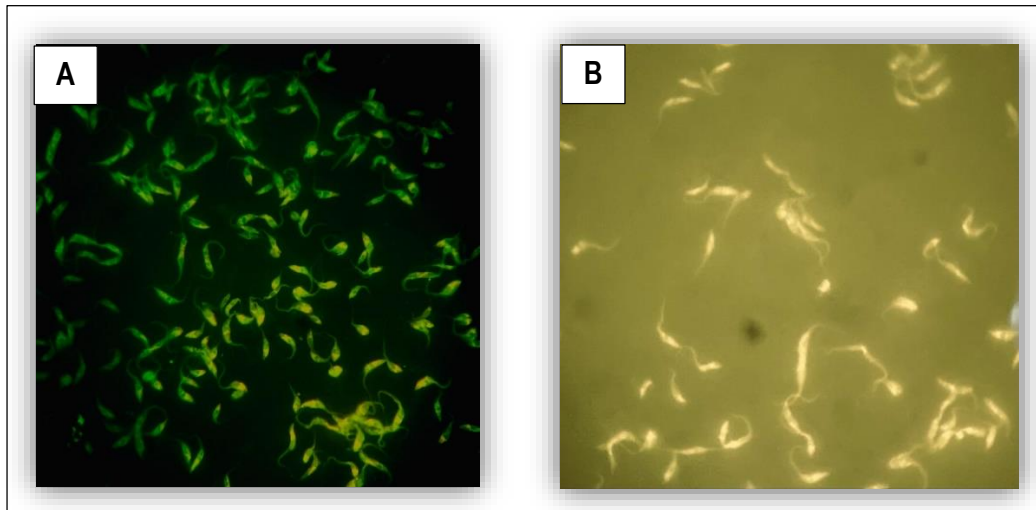


Figura 8. Resultados de la prueba de inmunofluorescencia indirecta: A) muestra reactiva, B) muestra no reactiva.

### **Análisis estadístico.**

Los datos sociodemográficos, clínicos y de salud obtenidos de las embarazadas adolescentes fueron capturados y analizados mediante el programa de Excel y el programa SPSS. Se evaluó la asociación entre prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* y factores sociodemográficos y de salud.

## IX. RESULTADOS

### Descripción de la población de estudio

En el estudio se incluyeron un total de 489 mujeres embarazadas. Las mujeres tenían entre 13 y 24 años, el 53.4% de la población era joven (20- 24 años) y el 46.6% de la población era adolescente (13- 19 años), la edad promedio fue 19.71 años  $\pm$  2.87. Según la procedencia del hospital donde fueron atendidas durante el control de su embarazo, el 65.4% fueron del Centro de Salud de Yautepec, y el 34.6% del Centro de Salud de Cuernavaca, (cabe aclarar que en el centro de salud de Cuernavaca existe una concentración de población de embarazadas de varios municipios del estado de Morelos).

Con respecto a los datos sociodemográficos, el 72.6% de las mujeres participantes eran amas de casa, y solo el 18.4% tenían un trabajo. El mayor número de las mujeres embarazadas (67.9%) vivían en unión libre, seguido de las solteras (18.6%) y solo una mujer estaba separada (0.20%). El 49.7% tenía estudios de secundaria, seguido de las que tenían preparatoria o bachillerato (32.1%) y solo el 5.1% tenía estudios de licenciatura (Tabla 2).

<b>Tabla 2. Datos sociodemográficos de mujeres embarazadas participantes en el estudio.</b>		
Variable	n	%
<b>Edad</b>		
Jóvenes (20 a 24 años)	261	53.4
Adolescentes (13 a 19 años)	228	46.6
<b>Ocupación</b>		
Ama de casa	355	72.6
Trabajo	90	18.4
Estudios	44	9.0
<b>Estado civil</b>		
Unión libre	332	67.9
Casada	65	13.3
Soltera	91	18.6
Separada	1	0.2
<b>Nivel de estudios</b>		
Licenciatura	25	5.1
Preparatoria o bachillerato	157	32.1
Secundaria	243	49.7
Primaria	64	13.1

En cuanto a los datos clínicos y de salud, el 36.8% de las mujeres embarazadas estaban cursando el primer trimestre de gestación, el 36.6% el segundo y el 26.6% el tercero. El 61.3% de las embarazadas era su primer embarazo, el 27.8% era su segundo embarazo y el 10.8% de las mujeres ya habían tenido tres o más de tres embarazos. La mayoría de las mujeres (73.6%) no fumaban, el 22.5% fumaban en la actualidad y el 3.9% fumaron alguna vez. En cuanto a los hábitos de tomar alcohol, el mayor porcentaje de las mujeres nunca habían ingerido alcohol (38.7%), seguida de las que ocasionalmente lo ingirieron (29.7%) y solo seis mujeres ingerían diario (1.2%). El 74.0% de las mujeres no consumía alguna droga, mientras que el 26.0% respondieron que si consumían droga ilegal alguna vez en la vida (tabla 3).

<b>Tabla 3. Datos clínicos y de salud de las mujeres embarazadas participantes en el estudio.</b>		
Historia clínica	n	%
<b>Trimestre de embarazo</b>		
Primer trimestre	180	36.8
Segundo trimestre	179	36.6
Tercer trimestre	130	26.6
<b>Número de embarazos</b>		
1	300	61.3
2	136	27.8
3 o mas	53	10.8
<b>Abortos</b>		
Si	51	10.4
No	438	89.6
<b>Hábitos</b>		
<b>Fuma</b>		
Si	129	26.4
No	360	73.6
<b>Toma alcohol</b>		
Si	300	61.3
No	189	38.7
<b>Consume drogas</b>		
Si	127	26.0
No	362	74.0

## Detección de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi*

### Determinación del punto de corte

El primero paso fue determinar el valor del punto de corte reactivo/no reactivo, para determinarlo fue necesario el valor de la densidad óptica (OD) de las muestras de suero, para poder diferenciar las muestras reactivas de las no reactivas. Los puntos de corte se obtuvieron calculando el promedio más/menos dos desviaciones estándar de los valores de densidad óptica de las muestras de suero que sirvieron como control positivo y negativo (tabla 4).

<b>Tabla 4.</b> Determinación de los puntos de corte.		
Muestra de suero	Control Negativo	Control Positivo
Densidad óptica (OD)	0.153	1.538
Densidad óptica (OD)	0.144	1.524
Densidad óptica (OD)	0.088	1.826
Promedio	0.128	1.629
Desviación estándar	0.0352	0.1705
Punto de corte	0.199	1.288
Zona gris	> 0.199	< 1.288

Sueros con valores de densidad óptica mayores o iguales a 1.288 se consideraron reactivas y sueros con densidades ópticas menores o iguales a 0.199 se consideraron no reactivas. Sueros con valores de densidad óptica entre 0.199 y 1.288 se consideraban en zona gris.

Las muestras de suero que fueron procesadas, se consideraron no reactivas si la densidad óptica era igual o menor al promedio más dos desviaciones estándar de los valores de OD de los controles negativos. En el caso de las muestras reactivas, si la densidad óptica era igual o mayor al promedio menos dos desviaciones estándar de los valores de OD de los controles positivos, las muestras fueron consideradas reactivas. Por otra parte, las muestras con valores de densidad óptica entre los puntos de corte reactivo/no reactivo se consideraban muestras en zona gris. Las muestras consideradas en zona gris se les aplicó el siguiente algoritmo para saber el resultado final (figura 9).

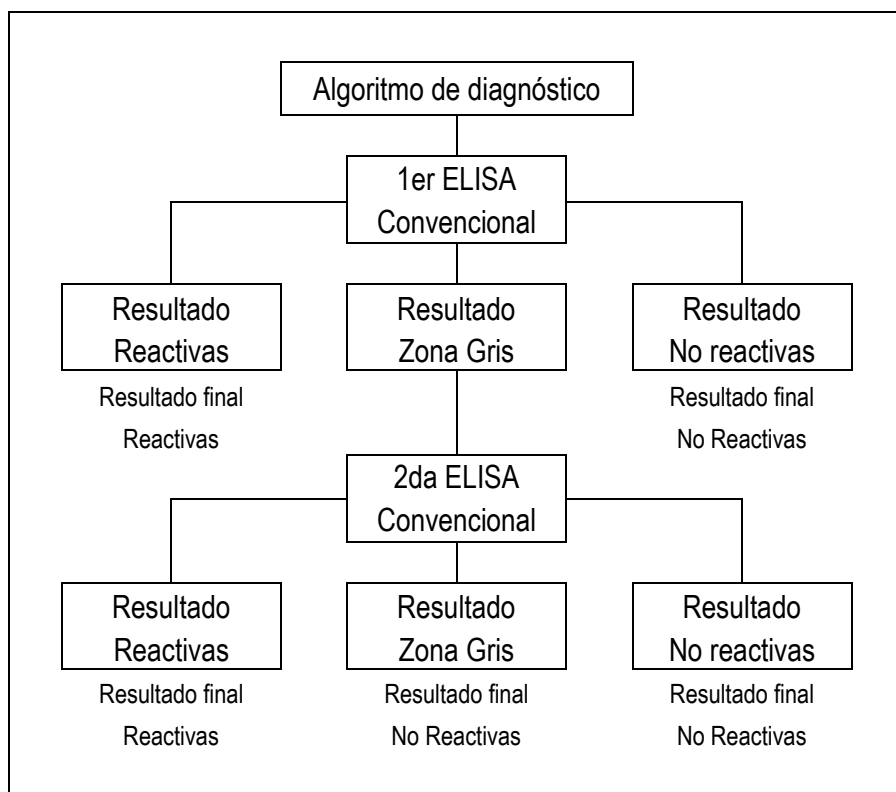


Figura 9. Algoritmo de detección de anticuerpos contra *T. cruzi* en mujeres embarazadas en el estado de Morelos, México.

El total de las muestras reactivas por ELISAc fueron 6 (1.2%): M034-1, M039-1, M0161-1, M326-1, M0413-1 y M499-1. Al aplicar la prueba HAI a estas seis muestras, se obtuvieron dos muestras reactivas (M413-1 y M499-1) y al aplicar la prueba IFI se obtuvieron tres muestras reactivas (M161-1, M413-1 y M499-1) (Tabla 5). Se calculó una seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* de 0.61% (IC95 %: 0.12- 1.88).

**Tabla 5.** Resultados obtenidos entre la ELISAc, la prueba de hemaglutinación indirecta e inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*.

Prueba de diagnóstico	Positivos	Negativos
	n	N
ELISAc	6	483
HAI	2	4
IFI	3	3

## Sensibilidad y especificidad

Según recomendaciones de la OMS la mejor estrategia para el diagnóstico de la EC en estudios poblacionales es usar la combinación de dos pruebas serológicas con diferente principio (ELISA, HAI o IFI) y una tercera prueba si los resultados son discordantes. En este estudio la prueba de ELISAc fue utilizada como prueba de tamizaje, HAI como la segunda e IFI como la tercera prueba con principio diferente.

Es importante mencionar que hasta la actualidad no hay una prueba considerada como estándar de oro como referencia para los cálculos de sensibilidad y especificidad de una prueba. En este estudio, se realizó el ejercicio de obtener los cálculos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), y valor predictivo negativo (VPN) considerando primero como estándar de oro la HAI.

La sensibilidad de la ELISAc fue de 100%, la especificidad de 99.1%, el VPP de 33.3% y el VPN de 100% (Tabla 6 y 7).

**Tabla 6.** Resultados de la prueba HAI para la detección de anticuerpos IgG contra *Trypanosoma cruzi*.

Como estándar de oro la prueba HAI			
ELISAc	Positivas	Negativas	Total
Positivos	2	4	6
Negativos	0	483	483
Total	2	487	489

**Tabla 7.** Cálculos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo considerando como estándar de oro la HAI.

$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos negativos}} \times 100$					
$\text{Sensibilidad} = \frac{2}{2 + 0} = \frac{2}{2} = 1 \times 100 = 100\%$					
$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos positivos}} \times 100$					
$\text{Especificidad} = \frac{483}{483 + 4} = \frac{483}{487} = 0.991 \times 100 = 99.1\%$					

$\text{VPP} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos positivos}} \times 100$ $\text{VPP} = \frac{2}{2 + 4} = \frac{2}{6} = 0.333 \times 100 = 33.3\%$
$\text{VPN} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos negativos}} \times 100$ $\text{VPN} = \frac{483}{483 + 0} = \frac{483}{483} = 1 \times 100 = 100\%$

Además, también se realizó el ejercicio de obtener los cálculos considerando como estándar de oro a IFI. La sensibilidad de la ELISAc fue de 100%, la especificidad de 99.3%, el VPP de 50% y el VPN de 100% (Tabla 8 y 9).

<b>Tabla 8.</b> Resultados de la prueba IFI para la detección de anticuerpos IgG contra <i>Trypanosoma cruzi</i> .			
<i>Como estándar de oro la prueba IFI</i>			
ELISAc	Positivas	Negativas	Total
Positivos	3	3	6
Negativos	0	483	483
Total	3	486	489

<b>Tabla 9.</b> Cálculos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo considerando como estándar de oro la IFI.			
$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos negativos}} \times 100$ $\text{Sensibilidad} = \frac{3}{3 + 0} = \frac{3}{3} = 1 \times 100 = 100\%$			
$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos positivos}} \times 100$ $\text{Especificidad} = \frac{483}{483 + 3} = \frac{483}{486} = 0.993 \times 100 = 99.3\%$			

$VPP = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos positivos}} \times 100$ $VPP = \frac{3}{3 + 3} = \frac{3}{6} = 0.5 \times 100 = 50\%$
$VPN = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos negativos}} \times 100$ $VPN = \frac{483}{483 + 0} = \frac{483}{483} = 1 \times 100 = 100\%$

### Factores asociados a la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi*

Al analizar los grupos de edad y la prevalencia de anticuerpos IgG contra *T. cruzi*, se encontró que uno de los casos reactivos era una mujer adolescente (13 a 19 años) y estaba cursando el primer trimestre de gestación. Los otros casos eran dos mujeres jóvenes (20 a 24 años) y se encontraban cursando el segundo trimestre de gestación (tabla 10 y 11).

**Tabla 10.** Prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* por grupo de edad en mujeres embarazadas.

Grupo de edad	Positivo		Negativo	
	n	%	n	%
13 a 19	1/228	0.44	227	99.56
20 a 24	2/261	0.77	259	99.23
Total	3/489	0.61	486	99.39

De acuerdo a la prueba exacta de Fisher, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre la edad y la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* (p= 0.999).

**Tabla 11.** Porcentaje de positividad de anticuerpos IgG contra *Trypanosoma cruzi* Vs. Trimestre de embarazo

Trimestre de embarazo	n	Positividad de IgG	%
Primer trimestre	180	1	0.56
Segundo trimestre	179	2	1.12
Tercer trimestre	130	0	0

De acuerdo a la prueba exacta de Fisher, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre el trimestre de embarazo y la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* (p= 0.965).

Con respecto a la procedencia de los tres casos reactivos a anticuerpos anti-*T. cruzi*, dos fueron del municipio de Yauatepec y el otro de Cuernavaca, con una prevalencia en la población de 0.63% y 0.68% respectivamente (tabla 12).

<b>Tabla 12.</b> Positividad de anticuerpos IgG contra <i>Trypanosoma cruzi</i> según la procedencia de las mujeres embarazadas participantes en el estudio.				
Municipio	Mujeres embarazadas incluidas		Positividad para anticuerpos IgG contra <i>Trypanosoma cruzi</i>	
	n	%	n	%
Yauatepec	320	65.4	2	0.63
Cuernavaca	148	30.3	1	0.68
Otros	21	4.3	0	0
Total	489		2	

De acuerdo a la prueba exacta de Fisher, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre la procedencia y la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* ( $p= 0.999$ ).

## X. DISCUSIÓN

La enfermedad de Chagas es una enfermedad parasitaria con una gran importancia en América latina, en donde aproximadamente 21 países de este continente se consideran endémicos de la enfermedad. Generalmente se trasmite de manera vectorial sin embargo las transfusiones de sangre y la transmisión congénita son mecanismo que están adquiriendo importancia especial en la transmisión de esta enfermedad en los últimos años. Según recomendaciones de la OMS en 2018, señaló que la mejor estrategia para el diagnóstico de la EC en estudios poblacionales es usar la combinación de dos pruebas serológicas con diferente principio y una tercera prueba si los resultados son discordantes (ELISA, HAI o IFI), similar a lo que se realizó en este estudio.

Los resultados del presente estudio mostraron una prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* de 0.61%, a pesar de que tal prevalencia es relativamente baja, los resultados concuerdan con otros estudios. En Morelos, México se reportó una seroprevalencia de 0.43% (Sánchez-Alemán et al., 2021); en Perú reportaron una seroprevalencia de 0.73% (Mendoza et al., 2005), en Medio Oeste de Brasil reportaron una seroprevalencia de 0.19% (Nobre et al., 2021). En los últimos años se han realizado estudios serológicos en diferentes regiones del mundo con la finalidad de conocer la prevalencia de la EC, en la mayoría de estos estudios se han utilizado diversos estuches comerciales para la detección de anticuerpos contra *T. cruzi*; sin embargo, algunos autores recomiendan el uso de antígenos de la

región de estudio para el diagnóstico serológico de la EC. Guzmán-Gómez et al., 2015, en su estudio evaluaron el tipo de antígeno utilizando en tres pruebas de ELISA de distintos estuches comerciales y dos pruebas de ELISA convencionales. Los autores concluyeron que la diferencia de rendimiento obtenido entre las pruebas comerciales podría deberse al número y a la naturaleza del antígeno utilizado, pues una mezcla más grande de antígenos puede ser más confiable que unos cuantos antígenos recombinantes. Sánchez-Alemán et al., en 2021 analizaron un total de 1,620 muestras de suero de mujeres embarazadas mediante dos pruebas serológicas: ELISAc (antígeno crudo nativo) y ELISAr (antígeno recombinante, no nativo). Posteriormente las muestras reactivas las analizaron mediante hemaglutinación indirecta (HAI) (esta prueba utiliza antígeno de origen argentino). Los autores concluyeron que las pruebas utilizadas mostraron una alta discordancia y que podría deberse al antígeno y el abordaje utilizado, pues el rendimiento mayor de la ELISAc se favoreció por el uso de antígenos de la misma región de donde se realizó el estudio (Morelos), la cual detectó una mayor cantidad de muestras positivas en comparación con la ELISAr (de origen español) y con la prueba HAI (de origen argentino) que detectaron pocos casos.

Se han reportado variaciones en la sensibilidad y especificidad entre las pruebas de diagnóstico comerciales y caseras. Como fue el caso de este estudio, en el que se detectó una discordancia entre las pruebas utilizadas. El rendimiento de la ELISAc se favoreció por el uso de una mezcla de cuatro cepas de epimastigotes de *T. cruzi* aisladas en diferentes localidades del Estado de Morelos (TL/MOR/MEX/2013, JP/MOR/MEX/2013, YT/MOR/MEX/2013 y PI/MOR/MEX/2013). La discordancia entre las pruebas aplicadas fue alta, se obtuvieron seis muestras reactivas, pero solo dos de estas fueron reactivas por HAI con antígeno de origen argentino y cuatro negativas. Por tal motivo, se aplicó otra prueba (IFI) a las muestras reactivas por ELISAc, en esta última prueba se utilizó el mismo antígeno nativo que se utilizó en la ELISAc. Finalmente se diagnosticaron tres muestras reactivas por IFI, el resultado de dos de estas muestras coincide con el resultado reactivo por HAI. La diferencia de rendimiento entre las pruebas utilizadas podría deberse al antígeno utilizado, pues como se dijo anteriormente las pruebas que utilizaron el mismo antígeno nativo son las que detectaron el mayor número de casos reactivos (ELISAc; 6 e IFI: 3).

En América Latina se desconoce la prevalencia exacta de la EC. La información sobre la infección por *T. cruzi* es limitada a pesar de ser un continente endémico de la EC según considerado por la OPS. Los estudios seroepidemiológicos reportados en diferentes zonas de América Latina difieren a este

estudio por el tipo de población estudiada. La mayoría de los estudios realizados por otros autores se han hecho en embarazadas mayores de 20 años de edad, en población general, (hombres y mujeres de todas las edades). Por esta razón no se dispusieron de estudios con poblaciones similares a la del presente estudio, donde el rango de edad de las mujeres embarazadas fue menor, pues la población consistió en mujeres embarazadas jóvenes y adolescentes con edades de 13 a 24 años. En cambio, en otros estudios realizados la edad de las mujeres embarazadas era de 14 a 50 años. En dichos estudios la seroprevalencia varía ampliamente: Suescún-Carrero y cols., en 2017 realizaron un estudio en 556 mujeres embarazadas procedentes de zonas endémicas del departamento de Boyacá, Colombia, la detección serológica la realizaron mediante una prueba de ELISA, a las muestras positivas les aplicaron una prueba complementaria (IFI) y si el resultado era reactivo por esta prueba consideraron el caso como positivo. En caso de un resultado no reactivo a esta prueba las muestras fueron procesadas por una tercera prueba (HAI), con antígenos diferentes a los de las dos primeras. Los autores reportaron una seroprevalencia global de 2.5%. En el mismo país, en el departamento de Casanare, Cucunubá y cols., en 2012 emplearon la prueba de ELISA como prueba de tamizaje en 982 sueros de mujeres embarazadas, las muestras reactivas posteriormente fueron procesadas mediante al ensayo inmunofluorescente (IFAT) y HAI. Los autores reportaron una seroprevalencia de 4.0%. Las seroprevalencias reportadas en este país son mayores al compararlas con la seroprevalencia del presente estudio, esto podría deberse al rango de edad más amplio (14 a 48 años) de las mujeres embarazadas participantes, pues en ambos estudios los rangos de edad son similares. Cucunubá y cols., reportan que la mayor prevalencia de infección fue encontrada en las mujeres mayores de edad. Castellanos-Domínguez y cols., en 2016 reportaron entre 1,518 gestantes de una zona endémica de Santander, Colombia, una seroprevalencia global de 3,2%, mediante dos pruebas serológicas; ELISA e IFAT. Los resultados discordantes los procesaron por HAI (Winner, Rosario, Argentina). La seroprevalencia reportada es mayor al compararla con la seroprevalencia del presente estudio, esto podría deberse a la edad que presentaban las mujeres participantes, pues el rango de edad fue más amplio de 13 a 46 años, los autores reportaron que la edad fue un factor importante para la seropositividad a *T. cruzi*.

Nobre y cols., en 2020 reportaron en el Medio Oeste de Brasil entre 98,895 mujeres embarazadas una seroprevalencia de 0.19%, mediante dos pruebas serológicas comerciales ELISA, Gold ELISA Chagas (REM, São Paulo, Brasil) y una prueba de HAI (Wiener, Rosario, Argentina). Campos- Valdez y cols.,

en 2016 determinaron la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* mediante dos pruebas serológicas: un estuche comercial Chagas Stat-Pak y una ELISA de tercera generación con antígeno recombinante, reportando entre 1,125 mujeres embarazadas de Tapachula y Palenque, Chiapas, una seroprevalencia de 2.04%.

Este estudio planteó como hipótesis la probabilidad que la seroprevalencia en mujeres embarazadas jóvenes y adolescentes de este estado sea entre 0.5-5%, dado que el estado de Morelos, México es endémico de la enfermedad, por lo tanto, la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* encontrada en este estudio está dentro de lo esperado (0.61%), a pesar que la población de estudio fueron personas muy jóvenes. Esto probablemente se debe a que el estudio se favoreció por el uso de una mezcla de antígenos de la misma región de donde se realizó el estudio (Morelos).

En cuanto a las variables evaluadas, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre los factores sociodemográficos, clínicos y de salud de las mujeres embarazadas con la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* reportada en este estudio. La limitante de no encontrar factores asociados con la seroprevalencia, se debe a que no se dispuso de más datos sociodemográficos relacionados a la EC debido a que este es un estudio secundario. El estudio principal estuvo enfocado a la *“Participación de la microbiota vaginal para el riesgo de las infecciones de transmisión sexual durante el embarazo adolescente”*.

Suescún-Carrero y cols., encontraron asociación estadísticamente significativa entre la edad y la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* ( $p=0.001$ ). Los autores encontraron una prevalencia de 0.9% en las mujeres embarazadas menores de 18 años, y la mayor prevalencia fue de 14.3% en las de 39-48 años de edad. Las prevalencias altas encontradas en las embarazadas con edades mayores de 30 años posiblemente este asociado con el tiempo de exposición con el vector para el desarrollo de la enfermedad al paso de los años. Asimismo, Castellanos-Domínguez y cols., en 2016 reportaron asociación estadísticamente significativa entre la edad y la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* ( $p=0.024$ ). En su estudio la edad fue un factor de riesgo para contraer la infección por *T. cruzi*, ser mayor de 32 años resultó en el doble de riesgo de tener serología positiva. Los autores mencionan que esto es debido a la exposición acumulada con la edad en áreas de transmisión domiciliaria. Sin embargo, en el presente estudio, aunque no se encontró asociación estadísticamente significativa entre la prevalencia de anticuerpos anti- *T. cruzi* y la edad si se observó un incremento de la prevalencia en el

rango de edad de 20-24 años de edad. Campos- Valdez y cols., en 2016 reportan que la prevalencia incrementa con la edad materna, y que el riesgo de contraer la infección con *T. cruzi* está directamente relacionado con las zonas de alta endemia.

No se encontró significancia estadística entre la prevalencia de anticuerpos anti- *T. cruzi* y la procedencia (Yautepec y Cuernavaca) de las mujeres embarazadas, pues se reportaron seroprevalencias similares en ambos municipios, con 0.63 y 0.68% respectivamente. En la mayoría de los estudios se ha reportado que vivir en una zona rural y endémica aumenta la probabilidad de contraer la EC, sin embargo, es importante mencionar que se han reportado casos tanto en zonas rurales y urbanas, así como en zonas no endémicas de la EC. Sánchez-Alemán y cols., en 2021 reportan que las mujeres embarazadas que fueron atendidas en los hospitales generales de Tetecala y Jojutla tuvieron un mayor riesgo de presentar dichos anticuerpos, debido a que las comunidades son tipo rural y su orografía es ideal para el hábitat del vector de la EC y el estado de Morelos es zona endémica.

En este estudio no se encontró asociación estadísticamente significativa entre la prevalencia de anticuerpos anti- *T. cruzi* con el trimestre de gestación, similar a lo reportado por Campos- Valdez y cols., en 2016. Pero si reportaron una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* con el número de gestaciones, abortos, óbitos y ruptura prematura de membranas.

## XI. CONCLUSIONES

- Dado la hipótesis planteada, la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* obtenida en este estudio (0.61%), se encontró dentro de lo esperado (0.5-2%). Sin embargo, en la población mayor de 20 años de estas comunidades, la prevalencia podría aumentar debido a la exposición acumulada con la edad, donde se estarían diagnosticando serológicamente casos agudos y crónicos.
- La prevalencia encontrada señala la importancia de establecer un programa de vigilancia de la EC en mujeres embarazadas, como una forma de controlar la infección por *T. cruzi* congénita, haciendo el diagnóstico y el posterior seguimiento tanto de la mujer infectada como de su producto (hijo). Todas estas acciones serían de suma importancia si se llevarán a cabo. Así como también será de suma importancia para poder disminuir el número de casos por

transmisión congénita y evitar que la infección se siga transmitiendo de madre a hijo en las futuras generaciones.

- El uso del antígeno de la región en dos de las pruebas utilizadas (ELISAc y IFI) favoreció al cálculo de la seroprevalencia real de la EC en el estado de Morelos.
- En relación a los factores sociodemográficos, clínicos y de salud relacionados con la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi*, no se encontró asociación significativa con la edad, la procedencia y el trimestre de gestación de las mujeres embarazadas participantes; sin embargo, con respecto a la edad si se observó un incremento de la prevalencia en el rango de edad de 20-24 años. Además, la limitante de no encontrar factores asociados con la seroprevalencia, podría deberse a que no se dispuso de más datos sociodemográficos relacionados a la EC debido a que este es un estudio secundario.

## **XII. PERSPECTIVAS**

- Se planea publicar los resultados obtenidos en este trabajo y se espera puedan servir de herramienta para que las autoridades del área de la salud implementen un diagnóstico de manera obligatoria a las embarazadas, así como se hace con otras infecciones que se transmiten de forma vertical.
- Estandarización de la técnica de Western Blot para el análisis de las muestras de suero de las mujeres reactivas a anticuerpos contra *T. cruzi*.
- Realizar un proyecto de seguimiento a los recién nacidos de las mujeres reactivas a anticuerpos contra *T. cruzi*.

## **XIII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO**

- Primero, no se dispusieron de más datos sociodemográficos relacionados a la EC ya que el proyecto original de donde derivan las muestras fue relacionado a la *microbiota vaginal para el riesgo de las infecciones de transmisión sexual durante el embarazo adolescente*.
- Segundo, no se pudo realizar el seguimiento a los recién nacidos de las mujeres reactivas a anticuerpos contra *T. cruzi* al ser este un estudio secundario.

#### XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez-Hernández, D.-A., Franyuti-Kelly, G.-A., Díaz-López-Silva, R., González-Chávez, A.-M., González-Hermosillo-Cornejo, D., & Vázquez-López, R. (2018). Chagas disease: Current perspectives on a forgotten disease. *Revista Médica Del Hospital General de México*, 81(3), 154–164. <https://doi.org/10.1016/j.hgmx.2016.09.010>
- Ballesteros, G. (2019). La enfermedad de Chagas en México. *Uaslp*. <http://www.uaslp.mx/Comunicacion-Social/Documents/Divulgacion/Revista/Dieciseis/239/239-01.pdf>
- Campos-Valdez, G., Canseco-Ávila, L. M., González-Noriega, F., Alfaro-Zebadua, O., Nava-Medecigo, I. Y., Jiménez-Cardoso, E., Campos-Valdez, G., Canseco-Ávila, L. M., González-Noriega, F., Alfaro-Zebadua, O., Nava-Medecigo, I. Y., & Jiménez-Cardoso, E. (2016). Transmisión materno-fetal de *Trypanosoma cruzi*, un problema de salud poco estudiado en México: caso Chiapas. *Salud Pública de México*, 58(3), 378–384. <https://doi.org/10.21149/SPM.V58I3.7898>
- Castellanos-Domínguez, Y. Z., Cucunubá, Z. M., Orozco, L. C., Valencia-Hernández, C. A., León, C. M., Florez, A. C., Muñoz, L., Pavía, P., Montilla, M., Uribe, L. M., García, C., Ardila, W., Nicholls, R. S., & Puerta, C. J. (2016). Risk factors associated with Chagas disease in pregnant women in Santander, a highly endemic Colombian area. *Tropical medicine & international health: TM & IH*, 21(1), 140–148. <https://doi.org/10.1111/tmi.12634>
- Cevallos, A. M., & Hernández, R. (2014). Chagas' disease: pregnancy and congenital transmission. *BioMed research international*, 2014, 401864. <https://doi.org/10.1155/2014/401864>
- Florez, A., & Caicedo, R. (2017). Guía para la vigilancia por laboratorio del *Trypanosoma cruzi* en Colombia. *Instituto Nacional de Salud*. [https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin de laboratorio/Guia para la Vigilancia por laboratorio de Trypanosoma cruzi.pdf](https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Guia%20para%20la%20Vigilancia%20por%20laboratorio%20de%20Trypanosoma%20cruzi.pdf)
- Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D., & Stahl, D. (2015). Microbiología diagnóstica. En M. Martín-Romo (Ed.), *Brock. Biología de los microorganismos* (p. 33). Pearson Educación; Edición 14.

- Menchaca-Armenta, I. (2019). Enfermedad de Chagas. *Gaceta Hidalguense de Investigación En Salud*, 7(1), 9–12. <https://doi.org/10.20453/rmh.v3i4.384>
- Mendoza Ticona, C. A., Córdova Benzaquen, E., Ancca Juárez, J., Saldaña Díaz, J., Torres Choque, A., Velásquez Talavera, R., de los Ríos Alvarez, J., Saldaña Díaz, J., Vega Chirinos, S., & Sánchez Pérez, R. (2005). Prevalencia de la enfermedad de Chagas en puérperas y transmisión congénita en una zona endémica del Perú [The prevalence of Chagas' disease in puerperal women and congenital transmission in an endemic area of Peru]. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*, 17(3), 147–153. <https://doi.org/10.1590/s1020-49892005000300001>
- Molina, I., Salvador, F., & Sánchez-Montalvá, A. (2016). Actualización en enfermedad de Chagas [Update Chagas disease]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 34(2), 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.12.008>
- Monroy, Á. L., Pedraza, A. M., & Prada, C. F. (2016). Prevalence of anti-Trypanosoma cruzi antibodies in women of childbearing age in Socotá, Boyacá, 2014. *Biomédica: revista del Instituto Nacional de Salud*, 36(0), 90–96. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i3.2923>
- Nobre, T., Fonseca, S., Medeiros, R., Hecht, M., Hagström, L., Fernandes, M. R., & Nitz, N. (2021). Seroprevalence of Trypanosoma cruzi in pregnant women in Midwest Brazil: an evaluation of congenital transmission. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 63, e8. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202163008>
- OPS. (2021). *Enfermedad de Chagas*. OPS/OMS | Organización Panamericana de La Salud. <https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>
- Palmezano, J. M., Plazas, L. K., Rivera, K. E., & Rueda, V. P. (2014). Enfermedad de chagas: realidad de una patología frecuente en Santander, Colombia. *Carrera Ed. Monviso. Portón Del Tejar. Bucaramanga. Santander*, 33(1), 91–52. <http://www.scielo.org.co/pdf/muis/v28n1/v28n1a08.pdf>
- Portugal-García, C., García-Vázquez, Z., Monteón-Padilla, V., Chávez-López, V., Olamendi-Portugal, M., & Ramos, C. (2011). Anticuerpos contra Trypanosoma cruzi en humanos y perros y presencia del parásito en Meccus pallidipennis en la localidad de Puente Pantitlán, Morelos, México. *Revista Biomédica*. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v22i3.102>

- Ramsey, J. M., Alvear, A. L., Ordoñez, R., Muñoz, G., Garcia, A., Lopez, R., & Leyva, R. (2005). Risk factors associated with house infestation by the Chagas disease vector *Triatoma pallidipennis* in Cuernavaca metropolitan area, Mexico. *Medical and veterinary entomology*, 19(2), 219–228. <https://doi.org/10.1111/j.0269-283X.2005.00563.x>
- Rojo-Medina, J., Ruiz-Matus, C., Salazar-Schettino, P. M., & González-Roldán, J. F. (2018). Enfermedad de Chagas en México. *Gaceta Médica de México*. <https://doi.org/10.24875/GMM.18004515>
- Rubio-Ortiz, M., Hernández-López, L., Pérez-Galicia, A., Guzmán-Bracho, C., Martínez-Calvillo, S., & Manning-Cela, R. (2020). Diagnóstico de la infección con *Trypanosoma cruzi* : Avances y retos. *Revista Médica de La Universidad Veracruzana*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2020/muv201b.pdf>
- Sánchez-Alemán, M. A., Matías-Guzmán, K. P., Chávez-López, V., Portugal-García, C., Ramos-García, C., Herrera-Ortiz, A., García-Cisneros, S., & Olamendi-Portugal, M. (2021). Antígeno nativo y no nativo para determinar la seroprevalencia de *Trypanosoma cruzi* en mujeres embarazadas en el estado de Morelos, México. *Revista Chilena de Infectología*, 39(1), 45–52. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182022000100045>
- Secretaría de Salud. (2015). *Manual de Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad de Chagas*. Gobierno de Mexico. <https://www.gob.mx/salud/documentos/manual-de-diagnostico-y-tratamiento-de-la-enfermedad-de-chagas>
- Siqueira-Batista, R., Eduardo Meneses Quintas, L., & Alberto Storino, R. (1994). Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica XLI*. <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/rmedica/527/art7.pdf>
- Suescún-Carrero, S. H., García-Artunduaga, C., & Valdivieso-Bohórquez, S. (2017). Prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en mujeres embarazadas de zonas endémicas del departamento de Boyacá, Colombia. *Iatreia*. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.v30n4a01>
- Zabala, N. del C., Berrizbeitia, M., Jorquera, A., Rodríguez, J., & Romero, L. (2019). Infección por *Trypanosoma cruzi* en mujeres puérperas y sus neonatos en Barcelona, estado Anzoátegui, Venezuela. *Biomédica*. <https://doi.org/10.7705/BIOMEDICA.4606>

Zamora, L. E., Palacio, F., Kozlowski, D. S., Doraivelu, K., Dude, C. M., Jamieson, D. J., & Haddad, L. B. (2020). Chagas Disease Screening Using Point-of-Care Testing in an At-Risk Obstetric Population. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 104(3), 959–963. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-0517>

## XV. ANEXOS

### I. Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI) (Chagatest Wiener Lab., Rosario Argentina).

**Significancia clínica:** La enfermedad de Chagas es una enfermedad parasitaria producida por el *Trypanosoma cruzi*. El diagnóstico de laboratorio depende del estadio en el cual se encuentra la enfermedad. Durante la fase aguda, el diagnóstico se efectúa directamente mediante la comprobación de los parásitos en sangre, o por métodos inmunológicos que detectan anticuerpos específicos.

Durante la fase crónica, se pueden utilizar métodos inmunológicos como la reacción de aglutinación de látex, hemaglutinación, aglutinación directa, inmunofluorescencia y ELISA.

**Fundamentos del método:** La hemaglutinación indirecta (HAI) también llamada hemaglutinación reversa pasiva, se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos (que en este caso son anti-*T. cruzi*) de producir aglutinación específica en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con los correspondientes antígenos.

En el suero existen anticuerpos específicos (heterófilos) que son capaces de aglutinar glóbulos rojos de distintas especies.

#### **Reactivos provistos:**

1. Reconstituyente HAI: solución fisiológica tamponada a pH 7.
2. Antígeno HAI: liofilizado de glóbulos rojos de carnero sensibilizados con antígenos citoplasmáticos de *T. cruzi*.
3. GR no sensibilizados: suspensión al 1% de eritrocitos de carnero no sensibilizados para control de la heterofilia.
4. Buffer HAI: solución fisiológica tamponada con fosfatos a pH 7.5 con colorante inerte.
5. Solución Proteica: solución de albúmina bovina al 10%
6. 2- Mercaptoetanol: ampolla con 2-mercaptoetanol (2-ME)
7. Control positivo: suero inactivado conteniendo anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*.
8. Control Negativo: suero no reactivo, inactivado.

### **Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:**

- Reactivos provistos: son estables en refrigeración (2-10 °C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.
- No congelar
- Diluyente de sueros HAI: es estable en refrigeración (2-10 °C) 5 días a partir de su preparación.
- 2-Mercaptoetanol al 1%: usar inmediatamente después de preparado.
- Antígeno HAI: una vez reconstituido es estable durante 2 meses conservado en refrigeración (2-10 °C). No congelar.

### **Indicios de inestabilidad o deterioro de los reactivos**

- Cuando todas las diluciones de suero son reactivas, puede ser indicio de autoaglutinación del antígeno HAI. Verificar destinando un pocillo de la placa para mezclar Antígeno HAI y Diluyente de sueros HAI, sin la muestra. Si aún en este caso se observa aglutinación, el reactivo estará deteriorado. Desechar.

La ausencia de reactividad en todas las diluciones de sueros, puede ser indicio de deterioro de los reactivos, procesar muestras con reactividad conocida.

### **Reactivos no provistos:**

Solución fisiológica (**PREPARAR**)

### **Preparación de solución fisiológica**

Fecha de proceso: \_\_\_\_\_ Preparo: \_\_\_\_\_

1. Preparar 500 ml \_\_\_\_\_ de solución fisiológica al 0.9%. Agregar 4.5 gr \_\_\_\_\_ de Cloruro de Sodio (NaCl) a un vaso precipitados.
2. Añadir el 80% del volumen de H<sub>2</sub>O requerido y mezclar en agitador magnético hasta diluir totalmente la sal.
3. Aforar la solución con H<sub>2</sub>O al volumen final requerido \_\_\_\_\_.
4. Esterilizar en autoclave. SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_.
5. Generar no. de lote de la solución fisiológica preparada: NaCl (año, mes, día- número; es decir primero, segundo, tercer, etc., y finalmente iniciales de quien lo preparo ejemplo: NaCl2102231DNV. Lote no: \_\_\_\_\_.

## **Muestra**

El suero debe ser preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento, pueden conservarse en refrigeración (2-10 °C) durante no más de 72 horas, contadas a partir del momento de la toma de muestra. Para periodos más prolongados de conservación congelar (-20 °C), evitando reiterar tal procedimiento.

Los sueros envejecidos tienden a gelificarse al contacto con el 2-ME, provocando resultados falsos positivos.

## **Procedimiento**

- Antígeno HAI: Preparar con 6.1 ml de Reconstituyente HAI. Esperar 1 hora antes de usar mezclando cada 20 minutos para permitir una correcta rehidratación del reactivo. Cada vez que se emplee, homogeneizar mediante agitación evitando la formación de burbujas.
- GR no sensibilizados: homogeneizar mediante agitación antes de usar, evitando la formación de espuma.
- Diluyente de suero HAI: agregar 0.2 ml. de solución proteica cada 10 ml de Buffer HAI. Mezclar, rotular y fechar.
- 2-Mercaptoetanol: una vez abierta la ampolla, transvasar el contenido al frasco vacío provisto, el cual se deberá tapar inmediatamente después de usar.
- 2-Mercaptoetanol al 1%: con el 2-ME provisto, preparar una dilución 1/100 con solución fisiológica en cantidad suficiente de acuerdo al número de pocillos que se utilicen.  
Ejemplo: para 96 pocillos: 25ul de 2-ME en 2.5 ml de solución fisiológica, para 48 pocillos: 12.5 ul en 1.25 ml, para 24 pocillos 6.2 ul en 625 ul.
- Controles positivo y negativo: listos para usar.

## **Seleccionar una placa de 96 pocillos de fondo en U.**

### **a) Titulación sin 2-Mercaptoetanol:**

1. Colocar 25µl o 1 gota del diluyente de suero HAI en todos los pocillos a usar de la placa.
2. Adicionar 25 µl o 1 gota de cada muestra a analizar en el pozo No. 1 y mezclar varias veces (10 veces) para asegurar una correcta dilución.

3. Realizar diluciones seriadas a partir del primer pocillo (dilución 1:2). Transferir de esta mezcla del primer pozo 25 µl al pozo no. 2 mezclar bien (10 veces) y continuar hasta la dilución que se desea investigar (1:8, 1:16, 1:32) y de la última dilución desechar 25µl.
4. Colocar en los pocillos 1 y 2 (diluciones 1:2 y 1:4) 25 µl o 1 gota de glóbulos rojos no sensibilizados para control de la heterofilia.
5. En el resto de los pocillos (3 y 4), agregar 25µl de Antígeno HAI
6. Mezclar aplicando suaves golpes en los laterales de la placa
7. Dejar en reposo, a resguardo de vibraciones, durante 90 minutos.
8. Leer a partir de los 90 minutos. Se puede aumentar la nitidez de la apreciación, leyendo sobre un espejo, iluminando la placa desde arriba, e interponiendo un papel blanco y translúcido entre la placa y la fuente de luz.

**Tabla 1. Procedimiento de prueba cualitativa**

POZO NO.	1	2	3	4
Diluyente de suero HAI (µL)	25	25	25	25
Muestra (µL)	25	25	25	25
Diluciones de la muestra	1:2	1:4	1:8	1:16
Desechar (µL)				25
Glóbulos rojos (µL)	25	25		
Antígeno HAI (µL)			25	25
Mezcle, cubra la placa e incube por 90 minutos				

**b) Titulación con 2-ME**

1. Colocar 25 µl de cada suero a analizar en el primer pocillo.
2. Diluir 1:2 agregando 25 µl de 2-ME al 1% a los mismos pocillos donde se depositó la muestra
3. Sellar estos pocillos con cinta adhesiva y mezclar aplicando suaves golpes en los laterales de la placa.
4. Incubar 30-60 minutos a 37 °C o 90 minutos a temperatura ambiente.

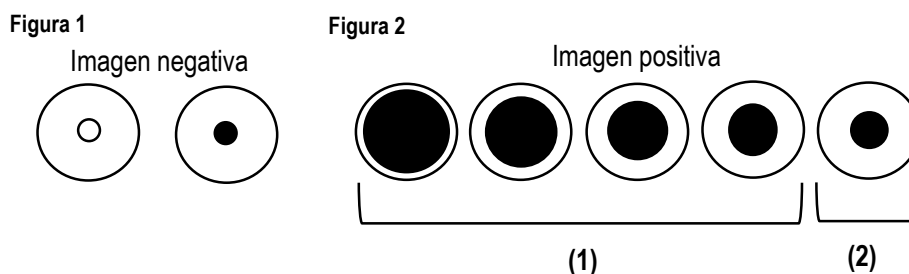
5. Retirar la cinta adhesiva, pasar un trapo húmedo por la base de la placa y agregar 25  $\mu$ l de Diluyente de suero HAI en los pocillos restantes a utilizar hasta la dilución deseada.
6. Realizar los pasos 3-8 descritos en la titulación I.

### c) Absorción con glóbulos rojos no sensibilizados

En sueros que presenten heterofilia los anticuerpos heterófilos pueden adsorberse sobre GR no sensibilizados de la siguiente forma, en un tubo con hemolisis colocar 50  $\mu$ l de GR no sensibilizados provistos + 50  $\mu$ l de la muestra en ensayo. Tapar para evitar la evaporación. Dejar la suspensión durante 30 minutos a 37 °C, agitando extemporáneamente. Luego centrifugar a 2000 rpm durante 5 minutos. Del sobrenadante se toman 50  $\mu$ l y se emplea como dilución 1:2, colocándola en el primer pocillo. Si se emplea en titulación con 2-ME este pocillo corresponde a dilución 1:4.

#### Interpretación de los resultados:

- No reactivo: Presencia de un sedimento en forma de botón o pequeño anillo de bordes regulares (figura 1).
- Reactivo: Formación de una película o manto que cubre el 50% o más del fondo de los pocillos (figura 2).



- (1) Manto.  
 (2) Punto final (50%)

#### Screening o descarte por 1 título

1. Agregar 25  $\mu$ l de diluyente de sueros HAI en todos los pocillos a usar de la placa.
2. Agregar 25  $\mu$ l de cada muestra a procesar en cada pocillo correspondiente, homogeneizando la mezcla al final.
3. Depositar 25  $\mu$ l del antígeno HAI reconstituido y homogeneizado a cada pocillo.

4. Agitar la placa, dando pequeños golpecitos con los dedos en las paredes laterales, durante 30 segundos por lo menos, para asegurar un buen mezclado.
5. Dejar reposar, al resguardo de vibraciones, durante 2 horas.
6. Efectuar la lectura. En caso de que la lectura se realice después de las 2 horas, la placa deberá taparse con una cinta adhesiva transparente para evitar evaporaciones.

### **Interpretación de los resultados:**

No reactivo: Presencia de un sedimento en forma de botón.

Reactivo: Formación de una película o manto en el fondo de los pocillos.

En caso de observar la presencia de un pequeño anillo de bordes irregulares, la muestra se considerará dudosa y deberá ser ensayada por otro método.

Imagen negativa

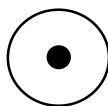


Imagen positiva

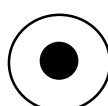
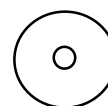


Imagen dudosa



### **Valores de referencia**

Dentro de las técnicas inmunológicas, la HAI es considerada un método confiable para la determinación de anticuerpos específicos. No obstante, sus resultados, al igual que cualquier método serológico, solo constituye un método auxiliar para el diagnóstico. Es por esta razón que los informes deben ser considerados en términos de probabilidad de parasitosis por *T. cruzi*. Cualquier resultado reactivo, debe ser verificado por otra técnica. Recordar el criterio recomendado por el Instituto Fátala Chaben, según el cual el inmunodiagnóstico de la infección deberá hacerse con un mínimo de dos de los siguientes métodos: inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta, ELISA, aglutinación de partículas (látex) debidamente validados por el Centro Nacional de Referencia.

### **Procedimiento de titulación**

Sueros con títulos mayores o iguales a 1:16, se consideran reactivos para anticuerpos anti-*T. cruzi*. Cuando se observan resultados positivos (sueros reactivos) y además se presenta manto en los pocillos destinados a control de heterofilia (diluciones 1:2 y 1:4), debe realizarse otra titulación con los sueros correspondientes, pero previamente tratados con 2-ME adsorbidos con GR no sensibilizados.

El propósito de estos tratamientos es eliminar la reacción inespecífica. En el primer caso el agente reductor (2-ME) elimina la capacidad aglutinante de los anticuerpos heterófilos, mientras que los GR no sensibilizados los elimina por adsorción.

### **Control de calidad**

Como punto de referencia de la reacción, pueden procesarse simultáneamente un control positivo y un control negativo utilizándolos de la misma manera que la muestra.

### **Limitaciones del procedimiento**

1. Ver sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.
2. Otras causas de resultados erróneos son:
  - Pocillos rayados por uso reiterado: no se aconseja reutilizar los pocillos, falta de homogeneización de los reactivos antes de su uso, deficiencia del mezclado, vibraciones accidentales durante el reposo necesario para el desarrollo de la reacción, sueros envejecidos o congelados y descongelados repetidamente, contaminaciones accidentales de los reactivos o del material empleado en el ensayo, exceso o defecto del diluyente de sueros HAI en los pocillos de la placa, diluyente de sueros HAI que tenga más de 5 días de preparación, no respetar los tiempos y temperaturas de incubación en el tratamiento con 2-ME al 1%, 2-ME al 1% no preparado en el momento.

## II. Soluciones que se utilizaron en la ELISAc

<b>1.- Buffer de carbonatos (0.15 M, pH= 9.6)</b>	
Bicarbonato de sodio	12.6 gr
Carbonato de sodio	15.9 gr
Agua destilada	1000 ml

<b>2.- Buffer de lavado Wash (PBS-T); PBS 10X (Sol. De fosfatos 0.1 M, pH= 7.2) con 0.5% Tween-20</b>	
PBS 10X	1000 ml
Tween-20	5 ml

<b>3.- Buffer de lavado Wash; PBS 1X, pH= 7.3</b>	
PBS-T 10X	100 ml
Agua destilada	900 ml

<b>4.- PBS 10X (1000 ml) pH= 7.2±.3</b>	
Fosfato de potasio monobásico $\text{KH}_2\text{PO}_4$	2.04 gr
Fosfato de sodio, dibásico, anhidro $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	21.1 gr
Cloruro de sodio	81.80 gr
Cloruro de potasio	2.01 gr
Agua destilada	1000 ml

<b>5.- PBS 1X (1000 ml) pH= 7.2</b>	
PBS 10X	100 ml
Agua destilada	900 ml

<b>6.- Solución 1N de <math>\text{H}_2\text{SO}_4</math> (ácido sulfúrico)</b>	
Agua destilada ( $\text{H}_2\text{O}_d$ )	950 ml
$\text{H}_2\text{SO}_4$ pureza=95.05%	13.875 ml
Agua destilada ( $\text{H}_2\text{O}_d$ )	36.13 c.b.p. 1000ml



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD  
DE CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Secretaría de Extensión

Licenciatura en Biología, Programa Educativo de Calidad.

Cuernavaca, Mor., 22 de febrero del 2024

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES**

P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **C. TEMAHUAY HERNÁNDEZ GRACIELA JAILYNE**, con el título del trabajo: **PREVALENCIA DE ANTICUERPOS IgG CONTRA *Trypanosoma cruzi* ENTRE MUJERES EMBARAZADAS DE DOS CENTROS DE SALUD COMUNITARIOS DEL ESTADO DE MORELOS**. En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis Profesional por Etapas como lo marca el artículo 26° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*

**JURADO REVISOR**

**FIRMA**

PRESIDENTE: M. EN C. ANA LUISA ORTIZ VILLASEÑOR

\_\_\_\_\_

SECRETARIO: DRA. MARÍA LUISA CASTREJÓN GODÍNEZ

\_\_\_\_\_

VOCAL: M. EN C. MA. LEONIDEZ OLAMENDI PORTUGAL

\_\_\_\_\_

SUPLENTE: M. EN C. VERÓNICA CHÁVEZ LÓPEZ

\_\_\_\_\_

SUPLENTE: M. EN C. CRUZ PORTUGAL GARCÍA

\_\_\_\_\_





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**VERONICA CHAVEZ LOPEZ** | Fecha:2024-02-22 13:25:39 | Firmante

SnrV5GG+GZ4UHc85LX/5uTJTy8DQm+YoangbGFwLU65pAoP+xLdhtDWyulSiMYt8acMu60Cpv5IAHbYtnfNjZpOMmUepHzCgPHE+dHQTp6WKXBTelCPpAV13rJRDn48Z/n bkdQFn72fxenU605tYA0531cyJN7wMmn8EjMjU+LoKusFb6rcPJiHaYSZ4CF/dUDvfb9tD22LTgKazTtm/qF18TRiLKU/Zhspe0gwQJAIQ80r5lcXaAYE+1FHPFjx5oymaDoAYMNW NjiUS/pQV68xaifTy6Zfiy4SveJM4SizYu+lvrt6pPWHrjCbivPY+xOJ011G10Me/vwTgOgOJQ==

**MARIA LUISA CASTREJON GODINEZ** | Fecha:2024-02-22 14:00:59 | Firmante

bdTccdhYneKkxJT7IdlZpiN0Sd/7F6/KWZlzBa4VtZzyJ5x9dRn7SzlSDyUNxkMVB7sZS0lJo7kAb5ORLWQLJRRfBwGLbmlsYQOSWe905v8pSoXoSqGr2PQnrQMMt4hxmXRcD+O8n12aaggCcTAVTbHPadRLgq4DB3u+C1uH0jmPn8UWY42+Yy/Q6CUOzfwht0nfb1w8ok7L5RpGpHyTYKr4ZQw6Meroc0SUTLpuw9mPfvKIGvhEljdtG9X7nMOygoGB2xtAcKm 74oaNUvkD9hPh29aJ3d6lRGR9nLD8oLwO4UyalfVjtsZCTt1Rtn/1ulwu6kUCm2zVkc5Dv/mdMka==

**MA. LEONIDEZ OLAMENDI PORTUGAL** | Fecha:2024-02-23 07:39:30 | Firmante

W8w7ArgW9cewfXe9GI4L/ejanrAQU6ytcfwZdXOcgexAEKoxrWNbRmLYsne1rjlwOIQ5Vc2MeLQRM9bbJYt9YoDnRxSyJq1wvSoSqV8caalKy0LI6cNqrjKmf8cFgk8Gq+/JkGs Wo7SaZjD6tNuHV56ZEQLT6dQLrRmlmeUkbMOYP0H90oP8gDMJgXWadQ4zVleJhTHOXh3PeV49BUMQq0eKFKjZXgmF1csUP3YvLmr8AixcLgZv5cDiwqNO9aHu7yLT8Jmw xgp0Z53hRUQA4XdfR0Dg+dZL4F+Eh2SPcFdzCC5cE QmP2XG37eJru2GvMiekzmjloJGQFU4w==

**CRUZ PORTUGAL GARCÍA** | Fecha:2024-02-26 10:05:15 | Firmante

HHD4nk4UhZnkWmQaJwmUP5Fh3zulLEjTFjleoxhUk+eB782STE0YjzkKi9QtlvHVQ9fnOzloIFqt4z+p3iYeGNZgt3v9g0ruXp07RyXepc26QtOAYZh2S8tH31969HpDeQADBqehF4 3YNTM+9QEK7ZbQRPVrLfcF3b8CT/kOZwgS5hy5XwbyeyN2ktJn89eURy/XcTR6zHrYBz0l6X4IMK7MaioFGFNySZBMRlBk36xDx2+PQ8Y3Cd8eDAtfyQkrTBDjANLmKQU11d 112MKpKI/Rf2xlfwnIWz4Tgh4vaFfh/JGWpqTRtUPPmQNXgE5DNUrNklXetf8c5hPHa7g==

**ANA LUISA ORTIZ VILLASEÑOR** | Fecha:2024-03-01 11:44:25 | Firmante

rr19GEBgjpSEi0+r+dt1tBj6u52pPGkFAI8u+Lj3PtNxFVfpQjD+Mo7AOUpOhudj1SQw6q9BLDJrCR2HO9lqjPQ8ekARhP5kSmlmms6lpDMJGCJNPgS+30mrhxIM3DU33WnxR8S YYPLtQMwnou45yWyM/YPCEIN3uEav7Jik7j5cDPFcvpeTbNpqyFHI4eDlcroDP6Qxpnvgh3Z6faPozSa+iv7HmdgkmY9tjxdCikxB2mV0vxYO7CfdwaAEB8uw6NyyynoDYSRESW smnSa5irmH87r9pBANIKqMpspET/NbDMKV57298AhUL4DLLBkpw4zbygbj/GUSqMdcw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



HpCtzZbx0

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/t7gK1m4b5wrm1MHTwghWcKsllsJrA6tU>



UAEM  
RECTORÍA  
2023-2029