



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPTO. DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
CÁTEDRA DEL COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN
“Dr. José Rafael Luna”
TRABAJO DE GRADO II**



**DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN
NIÑOS Y ADULTOS PERTENECIENTES AL MUNICIPIO LIBERTADOR
ESTADO TÁCHIRA**

www.bdigital.ula.ve

Trabajo Especial de Grado presentado como requisito parcial para optar
al título de Licenciado en Bioanálisis

Autor:
Edgar Leonel Vivas Ortega
C.I. V-24.745.581
Tutor:
Prof. Wilfredo Quiñones

Mérida, junio de 2023

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso y la Virgen, por siempre darme fortaleza, sabiduría, conocimiento, paciencia, por brindarme muchas bendiciones y éxitos en todos estos años de formación académica que están por culminar.

A mis padres, Luz y Edgar, que han sido mi apoyo desde el inicio y constantemente me animan a continuar en todos mis proyectos. Les agradezco todo el amor, entrega, tolerancia, formación, valores, hábitos, disciplina, vocación de servicio, sacrificio y toda la ayuda que me han brindado, me ha ayudado a crecer, madurar y desenvolverme. Esto es para ustedes. Los amo.

A toda mi familia, los que migraron buscando una mejor calidad de vida, los que se mantienen en el país y los que desde el cielo me bendicen y protegen a diario. Gracias por su amor, apoyo y por estar conmigo en todo momento.

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTOS

A Dios y la Virgen, por cubrirme de bendiciones, sabiduría, entendimiento, salud y éxitos en mi carrera universitaria.

A mis padres por inculcarme buenos valores, por su amor, apoyo incondicional, por su ejemplo y por animarme en los momentos más difíciles, por los sacrificios que han hecho por mí, este logro es para Uds.

A mi alma mater, mi querida Universidad de Los Andes, sin duda, cada semestre involucro un reto más, situaciones complejas que pude sortear para continuar avanzando, por despertar ese sentido de pertenencia, de entender que la universidad es más que una infraestructura, es una comunidad, que se reinventa para continuar trascendiendo. Gracias por formarme y darme una educación de calidad a pesar de todas circunstancias.

A mi tutor, Prof. Wilfredo Quiñones, por ser mi guía en este proyecto de investigación, por su dedicación, apoyo y enseñanzas durante estos años.

Al personal y directores de la Dirección Regional de Laboratorios de CORPOSALUD-Táchira, Ambulatorio CPIII de Abejales, a la sede de Salud Ambiental de Puerto Nuevo, Laboratorio clínico “Dr. José Gregorio Hernández” por el apoyo brindado en transcurso de este proyecto.

A mi familia Imagen Universitaria 20, quienes me abrieron sus puertas y me enseñaron a servir y trabajar por y para los estudiantes.

A mis compañeros de estudios, los hermanos que me dio la universidad, gracias a su apoyo cada semestre fue más llevadero, más ameno, gracias por los momentos felices y el apoyo incondicional. No pude haber escogido mejor.

A mi amiga, compañera, y hoy en día mi pareja, quien desde los primeros días de clases ha estado conmigo, gracias por escucharme, entenderme y apoyarme de manera incondicional, gracias por darme ese empuje para continuar el camino hacia la meta. Gracias ACh.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	viii
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	4
Planteamiento del Problema	4
Justificación de la Investigación	7
Objetivos de la Investigación	9
Alcances y Limitaciones de la Investigación	10
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	11
Trabajos Previos	11
Antecedentes Históricos	12
Bases Teóricas	14
<i>Teoría Microbiana de la Enfermedad</i>	14
<i>Aproximación teórica sobre el Inmunodiagnóstico</i>	14
<i>Aproximación teórica sobre seroconversión de una enfermedad</i>	15
<i>Aproximación teórica sobre la sensibilidad y especificidad de un método de inmunodiagnóstico de infecciones</i>	15
<i>Taxonomía y morfología de Trypanosoma cruzi</i>	16
<i>Ciclo de vida del Trypanosoma cruzi</i>	17
<i>Manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas</i>	18
<i>Diagnóstico de Laboratorio de la enfermedad de Chagas</i>	20
Definición Operacional de Términos	22
Definición Operacional de las Variables	24
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	26
Tipo de Investigación	26
Diseño de Investigación	26
Población y Muestra	27
Sistema de Variables	27

Procedimiento de la Investigación	28
Diseño de Análisis	30
Variables Estadísticas	30
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	31
Resultados	31
Discusiones	37
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	40
Conclusiones	40
Recomendaciones	42
BIBLIOHEMEROGRAFÍA	43
ANEXOS	48

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Pág.
1. Operacionalización del evento de estudio Diagnóstico serológico de la Enfermedad de Chagas	24
2. Operacionalización del criterio de análisis Sistema Elisa	25
3. Variables estadísticas según su naturaleza, escala de medición e indicadores estadísticos	30
4. Distribución de Pacientes Seropositivos de acuerdo a su lugar de origen	35

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico	Pág.
1. Distribución de los resultados positivos y negativos	31
2. Distribución en gráfico de barras de los resultados positivos y negativos correspondientes a cada municipio	32
3. Frecuencia de los pacientes positivos y negativos de acuerdo a sus grupos etarios clasificatorios	33
4. Frecuencia de absorbancias de pacientes de acuerdo al sector al cual residen, la línea roja representa el punto de corte	34
5. Frecuencia de pacientes que resultaron positivos y negativos que manifestaron haber habían tenido contacto con el vector	36

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPTO. DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
CÁTEDRA DEL COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN



DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN
NIÑOS Y ADULTOS PERTENECIENTES AL MUNICIPIO LIBERTADOR
ESTADO TÁCHIRA

Autor:
Edgar Leonel Vivas Ortega
C.I. V-24.745.581
Tutor:
Prof. Wilfredo Quiñones

RESUMEN

La enfermedad de Chagas es una enfermedad originada por la infección del parásito *Trypanosoma cruzi*, enfermedad que puede ser o no asintomática hasta su estado crónico, el cuál desarrollará un cuadro de cardiopatía, atrofas en esófago o colon. El objetivo de esta investigación fue analizar la relación entre el diagnóstico serológico de la Enfermedad de Chagas y el sistema ELISA en niños y adultos pertenecientes a los municipios Libertador y Fernández Feo, estado Táchira. El estudio se realizó en 141 individuos, desde niños hasta adultos mayores. Las muestras de sangre fueron tomadas por técnicas de venopunción, previa información y consentimiento del paciente, en el caso de los niños previo consentimiento de los padres. Las muestras fueron conservadas y trasladadas al Laboratorio “Dr. José Gregorio Hernández” ubicado en el municipio Fernández Feo, estado Táchira, las cuales se procesaron con el kit *CruziElisa*, con una sensibilidad y especificidad del 100%, posteriormente, haciendo su lectura en un espectrofotómetro, que registró los resultados que se analizaron. Se obtuvo una cantidad de 70 pacientes seropositivos, correspondiendo a una seroprevalencia del 49,65%. Por grupo etario destacó, la seroprevalencia en niños menores a 10 años de 42,85%, lo cual es indicativo de una presencia actual del vector en la zona, además de la seroprevalencia en adultos mayores de 60 años, siendo de 56,25%, demostrando una exposición antigua a la enfermedad. Los niveles considerables de incidencia de la enfermedad denotan la posibilidad de estar frente a una zona endémica del occidente del país. Se recomienda a las autoridades nacionales y regionales la reactivación de programas de vigilancia epidemiológica para contrarrestar la enfermedad.

Palabras claves: Diagnóstico serológico, Enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, ELISA, seroprevalencia, niños, adultos.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas (Ech) fue descubierta en Brasil en 1909 por el Dr. Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, quien, en 1878, se graduó de médico de la Facultad de Medicina de Río de Janeiro a los 25 años de edad, cuatro años después en 1907, fue designado para investigar y contribuir al control de la malaria, que afectaba a los obreros que construían la vía central del ferrocarril de Brasil, entre Corinto y Pirapora. Allí, mientras buscaba los parásitos del paludismo, describió por primera vez al parásito responsable de la enfermedad que llevaría su nombre, aislándolo de los intestinos de un insecto hematófago, llamado Triatomino, causada por el protozoo flagelado denominado *Trypanosoma cruzi*. Además, del agente patógeno y del vector responsable de la transmisión, identificó los reservorios animales, empezando por un gato doméstico y la enfermedad en humanos a partir del caso de una niña de dos años (Rodríguez, Camps y Albajar, 2011; Apt, 2013).

Fue el mismo Chagas quien constató que aquellos insectos hematófagos, habitaban en las hendiduras de las paredes de barro y techos de las casas de los obreros, picándolos e impidiéndoles dormir por las noches. El triatomino es un insecto que se le conoce popularmente como chinche, vinchuca, chipo o kissing-bug (insecto besador), se esconde durante el día y se alimenta de sangre por la noche, es precisamente al alimentarse y defecar sobre la piel del ser humano que logra iniciar su proceso de invasión, específicamente porque al picar produce prurito y la persona al rascarse o poner en contacto el parásito presente en las heces con la picadura, alguna herida o mucosas, como la conjuntiva u oral, ocurre la infección (Rodríguez, Camps y Albajar, 2011).

Adicionalmente, a la transmisión por vía vectorial, otras formas de contagio son; las transfusiones sanguíneas o por trasplante de órganos, tejidos y/o células de donantes infectados, la transmisión congénita (madre e hijo), siendo estas dos las formas de transmisión que en las últimas décadas ha cobrado importancia en los países no endémicos,

asimismo, se encuentra la transmisión por la ingestión de alimentos contaminados y, raramente pero siendo posible el contagio por accidentes de laboratorio (Rodríguez, Camps y Albajar, 2011).

La enfermedad de Chagas presenta dos fases: una aguda y otra crónica. La primera se manifiesta desde el momento de la infección hasta aproximadamente un mes, en la mayoría de los casos es asintomática, sin embargo, algunas de las manifestaciones pueden incluir; malestar general, fiebre, dolor de cabeza y adenopatías, en ocasiones cuando la transmisión es vectorial puede aparecer un edema palpebral o una inflamación cutánea, en el lugar de la picadura, siendo de utilidad para su diagnóstico clínico. La fase crónica puede presentarse de cuatro formas: indeterminada (asintomática), cardíaca, digestiva o mixta (cardio-digestiva). Para su diagnóstico en la fase aguda, es posible a través de métodos parasitológicos, como la gota gruesa o frotis sanguíneo, que permite visualizar el parásito en sangre; ya en la fase crónica, con baja parasitemia por estar el parásito oculto en los tejidos diana, se recomiendan las pruebas serológicas para detectar los anticuerpos desarrollados por el enfermo frente a *T. cruzi* (Rodríguez, Camps y Albajar, 2011).

El diagnóstico serológico de la enfermedad se fundamenta en la detección de anticuerpos (Ac) en sangre o suero, a través, del reconocimiento de antígenos (Ag) específicos, la positividad del individuo será confirmada al resultar positivo en dos de tres pruebas serológicas distintas, dentro de los métodos convencionales de diagnóstico se encuentran; la inmunofluorescencia indirecta (IFI), el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) y la hemaglutinación indirecta (HAI). Desde el punto de vista epidemiológico es una herramienta de vital importancia, ya que permite distinguir la prevalencia de la enfermedad en distintas zonas geográficas, mediante pruebas directas o indirectas (Rodríguez et al., 2004; Acosta et al., 2013).

El ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), es una prueba indirecta, simple y rápida para detectar y cuantificar anticuerpos o

antígenos adheridos a una superficie sólida. Se fundamenta en revelar la unión antígeno-anticuerpo, esta técnica utiliza un anticuerpo ligado a una enzima que se une a un antígeno adherido a la superficie, agregando un sustrato que produce un cambio de color o una señal de luz que se correlaciona con la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra (Rodríguez et al., 2004; Acosta et al., 2013; Lin, 2015).

La Ech es una enfermedad endémica de los países Latinoamericanos, constituyéndose como uno de los problemas más importantes de salud pública en la región, pero también en países no endémicos producto de la migración, se calcula que existen un número aproximado de infectados de 7 millones de personas en el mundo. Actualmente, la enfermedad no cuenta con una vacuna, ni con una quimioterapia efectiva, siendo el control vectorial el método más eficaz para su prevención (OMS, 2018). Por esta razón, se deben realizar estudios seroepidemiológicos, para actualizar los datos de prevalencia de la enfermedad a nivel nacional, que cada día va sumando más personas infectadas (Añez et al., 2016; Hernández, 2018).

El presente trabajo está sistematizado por las normas de la Asociación Americana de Psicología (APA), organizada en capítulos, títulos y subtítulos. Mediante esta sistematización se podrá transmitir claramente la información necesaria para analizar los datos obtenidos en el estudio. Esta investigación se considera de tipo analítica y en correspondencia su objetivo fue analizar la relación entre el diagnóstico serológico de la Enfermedad de Chagas y el ensayo ELISA en niños y adultos pertenecientes al Municipio Libertador, Estado Táchira, que asistieron al ambulatorio CPIII de Abejales y la sede de Salud Ambiental de Puerto Nuevo, en mayo de 2023.

CAPITULO I

El problema

Planteamiento del problema

La tripanosomiasis americana es una infección neotrópica siendo una de las cinco principales enfermedades tropicales estrechamente asociada a las enfermedades sociales de la pobreza junto con la desnutrición, la diarrea, la tuberculosis y otras enfermedades parasitarias. La enfermedad de Chagas se considera endémica en 21 países, que se pueden considerar divididas en tres zonas ecológicas diferentes, el Cono Sur, la Región Andina y Amazonía-Orinoquia y Mesoamérica. Las características epidemiológicas varían de un área endémica a otra, así como las tasas de prevalencia, las características del parásito, su patología, la clínica, vectores y reservorios (Alarcón, Noya y Robertson, 2015).

En Venezuela, la enfermedad fue comprobada por el Dr. Enrique Tejera en 1918, con la presencia del parásito *Trypanosoma cruzi* en *Rhodnius prolixus*, una especie de triatomino, posteriormente, los doctores, Torrealba, Iriarte, Heberto Cuenca, Pons y Pifano siguieron estudiando la enfermedad (Pifano, 1940). La campaña de control de la enfermedad de Chagas iniciada hace unos 50 años, modificó significativamente su expresión epidemiológica y clínica en el país, la seroprevalencia de la población rural disminuyó desde 44,5% en 1958 a 9,2% en 1998, sin embargo, persisten focos de transmisión activa especialmente en estados del suroeste del país (Acquatella, 2003).

Con el transcurso de los años se han manifestado pequeños brotes de ECh, en el 2015 se vio involucrado un grupo familiar y un vecino de la zona, por una contaminación oral del parásito *T. cruzi* en el Estado

Mérida, específicamente en el sector La Macarena, Nueva Bolivia (Añez et al., 2016). De igual forma, el estudio realizado en el año 2017, en comunidades del Estado Sucre con el objetivo de relacionar la seroprevalencia con los factores de riesgos de contraer la enfermedad, reportaron una seroprevalencia del 3,12% en el estado, además se confirmaron 3 casos en menores de 15 años lo que confirma la presencia vectorial en las comunidades (García-Jordán et al., 2017). Hernández, en el 2018, realizó un estudio en la población de Trujillito, Estado Portuguesa, arrojando una alarmante cifra de seroprevalencia de 10,52%, donde en el grupo etario de niños menores de 10 años obtuvo una seroprevalencia de 12,5%, cifra que permite inferir una transmisión activa en la población, así como también una seroprevalencia de 78,57% en perros, siendo este el factor de riesgo principal.

En 2018, se registró un brote de la enfermedad de Chagas por transmisión oral en individuos de una localidad rural del Estado Táchira, al occidente de Venezuela. Añez et al. (2018), observaron un cuadro clínico severo de la enfermedad, afectando a 27 personas, realizando una valoración clínica inicial, sugiriendo presunción diagnóstica de infección chagásica, manifestado por derrame pericárdico, taquicardia y electrocardiograma anormal, en 74, 37 y 26%, respectivamente, asimismo, las personas manifestaron fiebre, cefalea y mialgias.

Cada vez se observa con más frecuencia repuntes de la enfermedad en el territorio nacional, por eso es importante retomar el seguimiento epidemiológico, aplicando la utilización de las recomendaciones de los entes internacionales de salud (OMS/OPS), los cuales establecen como criterio para confirmar una enfermedad, la positividad en dos de tres pruebas serológicas diferentes, una de ellas es el ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA). Es una de las pruebas serológicas más utilizadas y confiable del mercado, consiste en una primera etapa en inmovilizar a un antígeno a una fase sólida, el cual será reconocido o no, por anticuerpos presentes en la sangre del paciente evaluado, en una segunda etapa se añade un segundo anticuerpo

(reportero), el cual está unido a una enzima (peroxidasa o fosfatasa alcalina), se acopla al complejo antígeno-anticuerpo descrito en la primera etapa del ensayo, permitiendo su visualización al agregar el sustrato adecuado (cromógeno) que cambia de color, se puede cuantificar la cantidad de anticuerpos fijados a los antígenos que es proporcional a la tonalidad de la coloración. Esta prueba posee una serie de ventajas, como la capacidad de procesar un número importante de muestras, resultados cuantitativos, evitando la subjetividad a la hora de interpretar los resultados, fácil manejo y un bajo costo (Rodríguez et al., 2014).

En cuanto al procedimiento del trabajo de campo, comprendió la obtención de las muestras sanguíneas a través de la técnica de venopunción en niños y adultos, siguiendo los lineamientos establecidos por la declaración de Helsinki y las normas internacionales para las investigaciones biomédicas en poblaciones humanas promulgadas por el Consejo de Organización Internacional de Ciencias Médicas (CIOMS), en el que se establece que previamente a la realización de una investigación, se debe informar al paciente de los objetivos, métodos y procedimientos de la misma, así como la finalidad y beneficio que puede traer, tanto individual como colectivo. El trabajo de laboratorio incluyó la obtención de suero y, su posterior análisis aplicando el ensayo ELISA (Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas, 2002).

Lo anteriormente planteado expresa la necesidad de realizar estudios serológicos, considerando que actualmente se han presentado nuevos casos de la enfermedad de Chagas en el país, siendo un problema de salud pública que afecta a las zonas endémicas de centro occidente. En consecuencia, se formula la siguiente interrogante:

¿Cuál es la prevalencia de la enfermedad de Chagas en niños y adultos pertenecientes al municipio Libertador del estado Táchira que asistieron al ambulatorio CPIII de Abejales y la sede de Salud Ambiental de Puerto Nuevo?

Justificación de la Investigación

El porqué de la investigación constituye la justificación, esta alude a las razones que llevaron al investigador a seleccionar el tema en cuestión, estas razones sirven de fundamento para realizar el trabajo y pueden estar sustentadas en necesidades, motivaciones, intereses, inquietudes y potencialidades (Hurtado, 2010).

La enfermedad de Chagas producida por el parásito *Trypanosoma cruzi*, confirma lo expuesto en la teoría microbiana de la enfermedad propuesta por Pasteur y confirmada por Koch, en la que se describe que la enfermedad se origina por un microorganismo ajeno al organismo pero que tiene la capacidad de propagarse en él. El diagnóstico de la ECh se realiza a través de técnicas de inmunodiagnóstico, en las cuales se puede constatar la reacción antígeno-anticuerpo, caracterizada por su especificidad, que no es más que la capacidad que tiene la prueba para detectar individuos sanos y sensibilidad, la cual es la capacidad que tiene el test para detectar la enfermedad, a su vez permite la comparación de dos muestras de un paciente del que se sospecha la ECh, tomadas con una diferencia de 15 días, a esto se le conoce como seroconversión, en fase aguda se detecta la presencia de IgM que desaparece rápidamente, mientras que la IgG va apareciendo gradualmente y persiste por más tiempo, siendo característica de la fase crónica (Pita y Pértegas, 2003; Volcy, 2007; Maldonado, 2009; De León et al., 2016).

La realización de estudios seroepidemiológicos, permiten actualizar los datos de prevalencia de una enfermedad, la ECh con regularidad es una enfermedad asintomática, siendo portadores de la misma, en ocasiones sin presentar ningún síntoma o signo, sino hasta la etapa crónica en donde ya se presentan graves patologías. Actualmente continúan los esfuerzos para poder encontrar una cura a esta enfermedad (medicamentos o quimioterapia), sin encontrarse avances significativos puesto que se han encontrado factores limitantes como la comprensión incompleta de la patogénesis, tropismo tisular y progresión de la

enfermedad de Chagas en el hospedador mamífero (Añez et al., 2016; Hernández, 2018).

Las razones que llevaron al investigador a realizar este estudio están basadas principalmente en el hecho de que, desde el año 2018 hasta la actualidad, son sumamente escasos los estudios publicados sobre la seroprevalencia de la enfermedad en el occidente del país, cada vez se observa con más frecuencia un incremento del número de casos de la enfermedad de Chagas en el territorio nacional, notándose como un problema de salud pública que se agrava con el paso del tiempo, es por esto que se deben realizar estudios seroepidemiológicos, para actualizar los datos de prevalencia de la Ech en Venezuela (Añez et al., 2016; Hernández 2018).

www.bdigital.ula.ve

Objetivos de la Investigación

Objetivo general

Analizar la prevalencia a través del diagnóstico serológico de la Enfermedad de Chagas en niños y adultos pertenecientes al Municipio Libertador, Estado Táchira, que asistieron al ambulatorio CPIII de Abejales y la sede de Salud Ambiental de Puerto Nuevo, en mayo de 2023.

Objetivos específicos

- Examinar serológicamente las muestras de sangre obtenidas de los niños y adultos que acudieron al ambulatorio CPIII de Abejales y la sede de Salud Ambiental de Puerto Nuevo, durante el mes de mayo de 2023.
- Interpretar los valores de absorbancia representativos de la inmunoglobulina G (IgG) en base a lo establecido en el kit de cuarta generación CruziELISA.
- Identificar la frecuencia de pacientes portadores o no de la Enfermedad de Chagas.

Alcances y limitaciones de la investigación

Alcances de la Investigación

Hurtado (2010), refiere que en una investigación científica el conocimiento que se desea descubrir establecerá el alcance de la investigación, el cual consta de la amplitud y profundidad a la que se desea llegar en un tema determinado, en esta investigación estará relacionado con analizar la prevalencia a través del diagnóstico serológico de la Enfermedad de Chagas, en la población de Abejales y Puerto Nuevo del estado Táchira, para identificar pacientes portadores de la enfermedad y capacitar a la población sobre los principales factores de riesgo de la misma.

Limitaciones de la Investigación

Las limitaciones de una investigación están relacionadas con los recursos teóricos, técnicos y de presupuesto económico (Batista, Fernández y Hernández, 2010). El presente trabajo se vio afectado por diversos factores como el escaso transporte a los sectores de Abejales y Puerto Nuevo, debido al mal estado de las vías y los problemas de combustible que presenta actualmente el país, así como, la poca participación y receptividad por parte de las personas para asistir y participar en el estudio.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

La enfermedad de Chagas a través del paso de los años se ha mantenido como una enfermedad endémica en los países latinoamericanos, considerándose como un problema de salud pública que ha sido evento de estudio de múltiples investigaciones a raíz de su descubrimiento por el Dr. Carlos Chagas en 1909, generando como resultado importantes hallazgos científicos en el campo de la Parasitología, Cardiología, Epidemiología, Entomología, Inmunología e incluso la Biología Molecular.

En un estudio realizado por Hernández (2018), determinó la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en personas de diferentes edades y sexo y en perros, así como también describió los factores de riesgo del poblado Trujillito del Municipio Araure del estado Portuguesa, a través de la prueba ELISA (usando anticuerpos recombinantes de *T. cruzi*) y encuestas epidemiológicas dirigidas a los jefes de familia, dando a conocer una seroprevalencia global de 10,52%, confirmándose transmisión activa del parásito al resultar infectados niños menores a 10 años, además de confirmarse la presencia del parásito en los perros estudiados. Los factores de riesgo relacionados con la enfermedad de Chagas fueron: tener perros como mascota en el domicilio, residir en viviendas tipo rancho con techos de zinc, paredes de bahareque, piso de tierra, depositar basura en barrancos cercanos a la vivienda, no tener conocimiento sobre la enfermedad de Chagas, la ocupación de las mujeres fue trabajo de ama de casa y en hombres la agricultura.

Otro estudio fue el realizado por García-Jordán, et al. (2017), quienes determinaron la seroprevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en el estado Sucre y su asociación con factores de riesgo epidemiológicos, analizando 2.212 muestras de suero a través de las pruebas de ELISA, obteniendo una seroprevalencia en el estado de 3,12%, que luego fue confirmada por una segunda prueba (HAI: hemoaglutinación indirecta), y los casos que resultaron dudosos fueron confirmados por una tercera prueba (inmunofluorescencia indirecta), los factores de riesgos asociados a la infección fueron determinados a través de una encuesta epidemiológica resultando en un mayor porcentaje el tipo de vivienda en la cual residen, vivir con aves y la deposición de basura en barrancos cercanos al domicilio.

El estudio realizado por Añez, et al. en 2016, tuvo como objetivo estudiar un caso de un brote de infección oral por *T. cruzi* en la localidad de La Macarena, Nueva Bolivia en el estado Mérida, el cual se produjo en un grupo familiar y vecinos del cual resultaron 4 fallecidos, este estudio se realizó siguiendo los lineamientos de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), es decir, debe existir similitud en los análisis serológicos (aglutinación directa e inmunofluorescencia indirecta), histológicos (en los casos fatales), parasitológicos (hemocultivo y examen directo al fresco), clínicos (síntomas) y moleculares (PCR), obteniendo semejanzas en los mismos, de esta manera se confirmó el brote, además de aseverar que la infección oral de la enfermedad de Chagas es más letal ya que se ingieren directamente las formas metacíclicas del parásito, de esta manera logrando una diseminación más rápida del mismo.

Antecedentes históricos

La enfermedad de Chagas se conoce desde hace más de 9000 años, momias halladas en el norte de Chile y sur de Perú confirmaron la presencia de rastros de ADN de *Trypanosoma cruzi* a través del estudio

de PCR, los cuales al habitar en zonas silvestres resultaron infectados (Apt, 2013).

La enfermedad fue descubierta por el Dr. Carlos Chagas en 1909 en Lassance, Minas Gerais-Brasil, mientras realizaba estudios sobre la malaria. Observo el parásito en un niño, estudiándolo y describiendo su ciclo evolutivo, patología, clínica y epidemiología del mismo (Apt, 2013).

El primer caso de la enfermedad de Chagas reportado en Venezuela fue realizado por Enrique Tejera en 1919, en el estado Zulia apenas 10 años después del descubrimiento de la enfermedad, pero años después, en 1932 realizó un estudio considerado como pionero en el país, en el estado Guárico dónde introduce por primera vez el xenodiagnóstico, ideado por Emile Brumpt, mientras que Pifano en 1941, estudió la epidemiología de la enfermedad en el estado Yaracuy. Ambos autores resaltan su magnitud como problema de salud pública y social en nuestro país y la importancia de la pobreza y del "rancho" de techo de palma y paredes de bahareque en el mantenimiento de esta zooantroponosis (Feliciangeli, 2009).

A raíz de la aplicación del programa de control de la enfermedad de Chagas en el año 1961, estudios posteriores al mismo confirmaron una disminución en la seroprevalencia de la enfermedad en el país, sin embargo, un estudio realizado en los años 1988-2003 en 310 personas de distintos estados occidentales del país, permitió observar una seroprevalencia de más del 50%, alarmando la infección en niños teniéndose una seroprevalencia en ellos de 36%, lo que quiere decir que el programa aplicado por el gobierno no ha tenido la suficiente efectividad en esta región del país, instando a las autoridades a establecer como prioridad la correcta aplicación del programa de control (Añez et al., 2003).

Bases teóricas

Teoría microbiana de la enfermedad

La teoría microbiana de la enfermedad fue el culmen de las investigaciones de Louis Pasteur y Robert Koch, los cuales a través de la observación experimental crearon la definición de la causalidad, que no es solamente aquello que produce un efecto, sino también se describió como algo necesario y suficiente para que se produzca el efecto, deduciéndose entonces como causa necesaria cuando el evento (la enfermedad) no ocurre en su ausencia, y por causa suficiente, si este efecto se manifiesta sólo en su presencia. Pasteur en 1865 identificó una estructura parecida a los glóbulos de sangre en los gusanos de seda muertos, es decir observó la causa necesaria para inducir enfermedad y muerte de los gusanos, pero en 1876 investigó la causa de la infección urinaria en el hombre, mediante los métodos de aislamiento, de purificación y de reinoculación del supuesto microorganismo. Dichos métodos fueron utilizados el año siguiente demostrando que una bacteria era la causa necesaria y suficiente del ántrax. El médico Robert Koch en 1876 describe en primera instancia la etiología del ántrax, que le va a permitir en el año 1882 publicar sus postulados en los cuales establece la relación de causa y efecto en la etiología de las enfermedades, por lo tanto el microorganismo debe estar presente en el individuo enfermo y ausente en el individuo sano (causa necesaria), al aislar el microorganismo e inocularlo en un individuo sano este deberá presentar todas las características clínicas y patológicas de un individuo enfermo (causa suficiente) (Volcy, 2007).

Aproximación teórica sobre el inmunodiagnóstico

El inmunodiagnóstico es un conjunto de técnicas y metodologías que permiten detectar la reacción antígeno-anticuerpo en distintos tipos de

muestras biológicas (suero, saliva, entre otros), a través de métodos directos los cuales revelan la presencia del antígeno (visualización directa), y los métodos indirectos los cuales permiten visualizar los productos secundarios derivados de la infección (anticuerpos) (Maldonado, 2009).

Aproximación teórica sobre la seroconversión de una enfermedad

Las pruebas serológicas diseñadas particularmente para el diagnóstico de la Ech tienen la capacidad de reconocer anticuerpos que se registran a partir de la cuarta semana de infección. Para confirmar que una persona se encuentra en la etapa aguda de la infección debe registrarse una seroconversión, es decir, ir de negativo a positivo entre dos muestras de suero comparadas en un intervalo de 20 a 30 días como mínimo, notándose un aumento en las inmunoglobulinas de tipo IgG. Un resultado positivo deberá ser confirmado por otra prueba con un método distinto, el hecho de resultar negativo en una prueba no descarta que la persona sea portadora de la enfermedad, por lo tanto, se deberá someter a otra prueba serológica con una técnica diferente (De León et al., 2016).

Aproximación Teórica sobre la sensibilidad y especificidad de un método de inmunodiagnóstico de infecciones

Toda prueba serológica que será comercializada debe pasar por un proceso de validación que determinará la idoneidad de la prueba que se ha desarrollado, optimizado y estandarizado. Dicha validación deberá cumplir con una serie de criterios específicos, entre los cuales se puede mencionar la sensibilidad: que es descrita como la probabilidad de que el sujeto que se encuentra enfermo resulte positivo en la prueba, por lo tanto, es la capacidad que posee el test de determinar la enfermedad. Y la especificidad: es aquella probabilidad de que un sujeto sano resulte

negativo en la prueba, por lo tanto, es la capacidad del test de reconocer individuos sanos (Pita y Pértegas, 2003).

Taxonomía y morfología de *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi es un parásito cuya taxonomía pertenece al Reino Protista, Subreino Protozoa, Phylum Sarcomastigophora, Clase Zoomastigophom, Orden Kinetoplastida, Familia Trypanosomatidae, Género *Trypanosoma*, Subgénero Schizotrypanum y Especie *cruzi*. Los tripanosomas de los mamíferos han sido divididos en dos Secciones: Salivaria y Estercoraria. *Trypanosoma cruzi* pertenece a la segunda y es el único parásito patógeno dentro de dicha sección. Se caracteriza por la existencia en su única mitocondria de una estructura que contiene DNA, el kinetoplasto. El DNA mitocondrial de los tripanosomátidos es muy inusual, se llama DNA kinetoplastídico (kDNA), el cual representa cerca del 20% del DNA total del parásito. Está formado por minicírculos (1.4 kpb) y maxicírculos (20 kpb) de DNA encadenados formando una compleja red compacta. La característica principal de los representantes de Estercoraria es que son transmitidos por un insecto vector que elimina las formas infectantes del parásito mediante sus deyecciones. El nombre taxonómico completo es *Trypanosoma (schizotrypanum) cruzi*, ya que su multiplicación en los vertebrados se realiza a nivel intracelular, característica del subgénero Schizotrypanum (Wainszelbaum, 2002; Córdoba, 2007).

La morfología o estadios evolutivos del parásito que originalmente se desarrollaba en entornos silvestres, con el paso del tiempo fueron evolucionando y adaptándose hacia el ciclo doméstico de la infección a través de las modificaciones que el ser humano realizó en el hábitat natural del parásito. En sus diversos hospederos y en medios de cultivo, *T. cruzi* posee tres formas evolutivas con características morfológicas distintas (Córdoba, 2007):

- Tripomastigote: Forma infectiva, localizada en la ampolla rectal del insecto vector, en cultivos celulares y en la sangre del hospedador mamífero (tripomastigote sanguíneo o circulante). Tiene una forma elongada, 20-32 x 2 μm , con el kinetoplasto ubicado detrás del núcleo. El flagelo emerge a partir del kinetoplasto y se libera por el extremo anterior, dando entonces una imagen de membrana ondulante extensa (Wainszelbaum, 2002).

- Amastigote: Estadío replicativo que se halla en el citoplasma de las células del hospedador mamífero o en cultivo celular, de forma esférica u ovalada, 2-4 μm de diámetro, y carece de flagelo libre. Estas inicialmente son células del sistema fagocítico mononuclear, y posteriormente células musculares, cardíacas, intestinales y esqueléticas (Wainszelbaum, 2002; Córdoba, 2007).

- Epimastigote: Estadío replicativo y no infectivo que se encuentra en el intestino del vector. Posee forma elongada, 20-40 x 2 μm , con un flagelo que se origina en el kinetoplasto, por delante del núcleo. Dicho flagelo emerge por el costado del cuerpo celular y se libera por el extremo anterior, arrastrando la membrana citoplasmática en un trayecto breve, originando una imagen de membrana ondulante corta (Wainszelbaum, 2002).

Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*

El ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi* fue descrito de manera completa por Brumpt en 1912, y los cambios patológicos asociados al organismo por Vianna en 1916 (Ochatt, 1994).

La enfermedad es transmitida por un triatomino, localmente conocido como chipo, el cual tiene la característica de alimentarse en las noches. El insecto pica, por lo general cerca de la boca u ojos del humano o mamífero, ingiere la sangre y defeca las heces que contienen tripomastigotes metacíclicos. Comúnmente la picadura causa escozor, por lo que el hospedero se rasca o frota la zona afectada, de este modo el

parásito podrá penetrar la piel y las mucosas (Ochatt, 1994; Peña et al., 2022).

Una vez los tripomastigotes metacíclicos traspasan la piel, estos circulan en el torrente sanguíneo como tripomastigotes sanguícolas, pero también se puede presentar una fagocitosis inducida, en la cual el parásito puede ser fagocitado por diversas células, entre ellas los macrófagos. Dentro de la célula hospedadora se forma una vacuola parasitófora, los tripomastigotes van a escapar de esa vacuola y se liberan al citoplasma, lugar donde se van a transformar en amastigotes para luego multiplicarse. Esto ocurre en todas las células hospedadoras, a excepción de los eritrocitos, debido a que carecen de purinas y estas son requisitos para *T. cruzi*. Los amastigotes provocan la ruptura de las células infectadas, y se transformarán al estadio de tripomastigotes sanguícolas. Los tripomastigotes sanguícolas rompen las células hospedadoras y se liberan a la circulación, moviéndose por los vasos linfáticos y el torrente sanguíneo para invadir otras células (musculares o ganglionares), donde se multiplicarán de manera intracelular, estando disponibles para infectar vectores que se alimenten de ese individuo. (Peña et al., 2022).

Un triatomino no infectado, al alimentarse de un humano o mamífero portador del parásito va a ingerir los tripomastigotes sanguícolas, que llegan a su estómago y posteriormente a su intestino, donde se transformará en epimastigote. Estos van a migrar hasta el intestino posterior o recto para diferenciar su forma a tripomastigotes metacíclicos infecciosos, los cuales son evacuados a través de las heces pudiendo infectar a un nuevo hospedador (Errico, 2015; Peña et al., 2022).

Manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas

Según el Ministerio de Salud de Chile (2011), la enfermedad de Chagas manifiesta tres períodos de infección bien definidos:

- Etapa aguda: Requiere de un período de incubación de 4 a 15 días aproximadamente, y de un menor período de replicación si la infección es por vía transfusional o por trasplantes de órganos. Esta etapa se caracteriza por un período asintomático, con una alta parasitemia, signos y síntomas transitorios. Las personas sintomáticas pueden llegar a presentar manifestaciones tales como: fiebre por un período de 2 a 4 semanas, edema en cara (signo de Romaña o chagoma, edema bipalpebral característico de esta etapa) y extremidades, adenopatías satélites, compromiso cardíaco, hepatomegalia y esplenomegalia, anorexia, astenia, mialgias, cefalea y ocasionalmente artralgias.

- Etapa crónica indeterminada: Representa aproximadamente un 50% a 70% de todas las personas con enfermedad de Chagas. Se caracteriza por la ausencia de síntomas cardíacos, digestivos y otros. Sin embargo, están infectadas (serología y/o parasitemia positiva), aunque los exámenes de laboratorio rutinarios son normales. Un 30% de estos pacientes mantiene esta forma durante toda su vida, el porcentaje restantes puede evolucionar a una forma crónica determinada en un lapso de 10 a 30 años.

- Etapa crónica determinada: Los pacientes sintomáticos que han padecido la enfermedad por un período de tiempo prolongado (más de 10 años) manifiestan principalmente cardiopatías, colopatías y esofagopatías. El compromiso de otros órganos tales como estómago, duodeno, vejiga, uréteres y otros, es poco frecuente. Estas formas patológicas pueden presentarse separadamente o en conjunto en una misma persona. En esta etapa existe una parasitemia baja, con títulos detectables de anticuerpos. Se estima que alrededor de un 30% de las personas con enfermedad de Chagas podrían manifestar cualquiera de estas patologías. La Cardiopatía Chagásica Crónica (CCC) es la patología más frecuente que se puede hallar en esta etapa, caracterizada por su gravedad y representa la principal causa de muerte de las personas infectadas, sus síntomas más frecuentes son palpitaciones y disnea de esfuerzo.

Diagnóstico de Laboratorio de la enfermedad de Chagas

Además de la historia clínica y epidemiológica, el diagnóstico de la enfermedad de Chagas se basa en dos tipos de metodologías, una directa o de certeza y otra indirecta o serológica.

- Métodos directos: Estos métodos están orientados a la observación directa del parásito *T. cruzi* en sangre de pacientes o en las deposiciones de *T. infestans* (vector) y son útiles en etapa aguda de la enfermedad. Las técnicas más utilizadas son: examen directo de sangre fresca y gota gruesa, métodos de concentración como el xenodiagnóstico, método útil también en la etapa crónica de la enfermedad. La ventaja que presentan estos exámenes a excepción del xenodiagnóstico, es su bajo costo, fácil manejo, rapidez diagnóstica y una especificidad del 100%. A su vez presentan una desventaja dada por la sensibilidad que en algunos casos alcanza un 60% y en los pacientes en etapa crónica sólo de un 20%, además de que las parasitemias detectadas se encuentran entre niveles medios a alto. El xenodiagnóstico que utiliza al propio vector de la enfermedad, en la detección de *T. cruzi* en pacientes en etapa aguda o crónica de la enfermedad, presenta ventajas como una especificidad del 100%, sensibilidad en casos agudos del 80%, pero esta técnica posee una serie de desventajas tales como un costo más alto, requiere de personal especializado, escasa rapidez diagnóstica, los resultados demoran entre 30 a 90 días, además que la sensibilidad en casos crónicos sólo alcanza al 40% y las parasitemias detectadas se encuentran entre niveles medio a alto. Estudios recientes han demostrado que la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), presenta un alto grado de especificidad y sensibilidad, que supera a los métodos directos en general (Córdoba, 2007).

– Métodos indirectos: Los métodos indirectos están enfocados a la detección de anticuerpos específicos anti-*T. cruzi*, por lo tanto, evalúan la respuesta inmune humoral del hospedero infectado. Las técnicas convencionales más utilizadas, debido a su alta sensibilidad y

especificidad, son la reacción de ELISA y la inmunofluorescencia indirecta, ambas pueden detectar y cuantificar inmunoglobulinas, como las IgM e IgG. Su costo es bajo y posee una rapidez diagnóstica de menos de 24 horas, así como también una especificidad entre el 98 y 100%. La sensibilidad, va a depender de la fase de la enfermedad y la inmunoglobulina estudiada. En el período crónico, la IgG alcanza entre 95-100% y en el período agudo su utilidad es mínima, cobrando importancia la IgM que puede llegar a 60% de sensibilidad. La utilización de técnicas no convencionales como los antígenos recombinantes y péptidos sintéticos, han permitido mejorar la sensibilidad en los casos agudos (Córdoba, 2007).

www.bdigital.ula.ve

Definición operacional de términos

ELISA

El ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) es una técnica diagnóstica indirecta para la enfermedad de Chagas que utiliza una enzima como marcador para evidenciar la formación de complejos antígeno-anticuerpo, dicho marcador enzimático está conjugado con un ligando, que puede ser un antígeno, un anticuerpo específico para el antígeno de interés o un anticuerpo para el anticuerpo primario, luego se añade un sustrato enzimático y se mide la reacción catalítica entre la enzima y el sustrato, produciendo un cambio de color que se detecta con facilidad (Guzmán, 2004).

Triatomino

Los triatominos son insectos que pertenecen a la orden Hemiptera, la cual se caracteriza por poseer un aparato bucal tipo succionador. La mayoría son organismos que se alimentan de plantas (fitófagos), otros de insectos y unos pocos de sangre de vertebrados (hematófagos). En la familia suborden Heteróptera se encuentra la familia Reduviidae y la subfamilia Triatominae, la única hematófaga de este grupo. Se localizan en zonas rurales cerca de nidos o rocas donde viven pequeños mamíferos o aves. Los triatominos colocan hasta 300 huevos durante toda su vida, que tiene una duración aproximadamente de 400 días, estos presentan un proceso de metamorfosis y se desarrollan a través de 5 estadios ninfales. Son insectos hematófagos y chupan sangre desde el estadio I ninfal, contagiándose con *T. cruzi* desde un animal o humano infectado, una vez en el insecto, *T. cruzi* permanece en su intestino de por vida (Castillo y Wolff, 2000; Hernández, 2018).

Seroprevalencia

Los estudios de seroprevalencia permiten obtener información sobre la prevalencia de anticuerpos generados tras la vacunación o tras una infección natural en una población específica. Esta información es de utilidad en la evaluación de los programas de vacunación y para conocer la magnitud de la infección por microorganismos de interés para la salud pública. Los resultados de estos estudios pueden utilizarse para guiar la toma de decisiones sobre políticas y estrategias para la prevención y el control de esas enfermedades (Limia et al., 2019).

www.bdigital.ula.ve

Definición operacional de las variables

Para operacionalizar el sistema de variables o el evento de estudio con el respectivo criterio de análisis, es necesario la definición conceptual y la operacional de las mismas (Pérez, 2006). La definición operacional de las variables consiste en transformar un concepto abstracto en uno empírico, con el fin de obtener el indicador que refleje la presencia de la variable en la población de estudio (Palella y Martins, 2004). Tal como se resume en las Tablas 1 y 2 a continuación.

Tabla 1

Operacionalización del evento de estudio Diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas

Evento de estudio	Definición conceptual	Definición operacional
Diagnóstico serológico de la Enfermedad de Chagas	Es la detección de los antígenos de superficie, diferentes en cada serovariedad por el uso de anticuerpos que se unen de manera específica a un antígeno determinado. (Acosta et al., 2013)	Se mide a través de técnicas serológicas como: ELISA, HAI, IFI, entre otros. (Acosta et al., 2013)
Dimensiones	Indicador	
- Hay presencia de anticuerpos anti-<i>T. cruzi</i> - No hay presencia de anticuerpos anti-<i>T. cruzi</i>	Valores de absorbancia obtenidos con el sistema de diagnósticos superiores al límite inferior de detección, indicarán la presencia de anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> en el individuo evaluado.	

Tabla 2*Operacionalización del criterio de análisis: Sistema Elisa*

Evento de estudio	Definición conceptual	Definición operacional
Sistema ELISA	Consiste en inmovilizar a un antígeno a una fase sólida, el cual será reconocido o no, por anticuerpos presentes en la sangre del paciente, luego se añade un anticuerpo unido a una enzima, estos se van a unir al complejo antígeno-anticuerpo permitiendo su visualización al agregar el sustrato que cambia de color. (Rodríguez et al., 2004).	Se mide a través de un espectrofotómetro, que entrega la lectura expresada en densidad óptica. (Apt, 2013)
Dimensiones	Indicador	
- Hay cambio de color por la unión antígeno-anticuerpo. - No hay cambio de color por la unión antígeno-anticuerpo.	La positividad de esta reacción se determina de acuerdo al cut-off (corte) establecido entre los controles negativos y positivos. (Apt, 2013)	

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de investigación

El proceso de investigación en general responde a los objetivos planteados. De acuerdo a cada uno de estos objetivos, es posible derivar un tipo particular de investigación. En tal sentido un fenómeno se puede conocer desde varias profundidades. Se ha referido que existen 10 tipos de investigación, tales como: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmativa y evaluativa. Para identificar el tipo de investigación es importante conocer la relación que se quiere estudiar. En este caso la investigación que se estudia es de tipo analítica. La misma requiere de analizar un evento y comprenderlo en sus aspectos menos evidentes (Hurtado, 2010). De tal modo esta investigación planteó analizar la prevalencia a través del diagnóstico serológico de la Enfermedad de Chagas en niños y adultos pertenecientes al Municipio Libertador, Estado Táchira.

Diseño de Investigación

El diseño de investigación hace explícitos los aspectos operativos de la misma. Si el tipo de investigación se define con base al objetivo, el diseño de investigación se define con base al procedimiento, el cual se determina a través de las estrategias que se implementan para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo específico y en una cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber (Hurtado, 2010). En correspondencia con lo expuesto anteriormente, la presente investigación

se considera de campo, porque las muestras de suero se recolectaron en los poblados Abejales y Puerto Nuevo, pertenecientes al Municipio Libertador, Estado Táchira. De laboratorio, porque las muestras de suero que se obtuvieron fueron trasladadas para su respectivo análisis al Laboratorio “Dr. José Gregorio Hernández”, ubicado en El Piñal, Municipio Fernández Feo, Estado Táchira. El diseño también fue de tipo contemporáneo y transeccional, ya que los datos se obtuvieron en el presente y una sola vez. Finalmente fue univariable, ya que el evento de estudio estuvo conformado por una variable.

Población y muestra

Unidad de investigación

La población es el conjunto de elementos, de los cuales se quiere conocer o investigar algunas de sus características. La muestra es un subconjunto representativo de un universo o población (Arias, 2006). La unidad de investigación estuvo representada por niños y adultos pertenecientes a la población de Abejales y Puerto Nuevo, Municipio Libertador, Estado Táchira.

Selección del tamaño muestral

La “n” muestral estuvo representada por 141 muestras de suero, número determinado por la cantidad de personas que asistieron a los lugares destinados para la toma de muestras de este estudio.

Sistema de Variables

Considerando que el presente tipo de investigación es analítica, las variables no serán sistematizadas como dependiente, independiente e interviniente (Arias, 2006). Por lo tanto, la variable de esta investigación

estuvo representada por el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas, el cual admitirá la presencia o no del parásito *Trypanosoma cruzi*.

Procedimiento de la investigación

Es importante que el investigador describa con detalle, paso por paso, el procedimiento que llevará a cabo durante la investigación, esta descripción permite, no sólo verificar que el procedimiento utilizado cumplió con los requerimientos metodológicos del proceso de investigación, sino además hará posible que otros investigadores puedan apoyarse en la información para investigaciones similares en otros contextos. (Hurtado, 2010).

El procedimiento que se realizó en esta investigación, comprende la recolección de muestras de sangre, para su posterior procesamiento y la aplicación del ensayo ELISA, de esta manera se obtuvieron los resultados que serán analizados.

El trabajo de campo se realizó visitando el ambulatorio CPiII de Abejales y la sede de Salud Ambiental en Puerto Nuevo, poblados pertenecientes al municipio Libertador, estado Táchira, previo acuerdo y coordinación con los directores de ambas instituciones. A los niños y adultos que asistieron a los lugares de tomas de muestras correspondientes se les aplicaron los lineamientos establecidos por la declaración de Helsinki y las normas internacionales para las investigaciones biomédicas en poblaciones humanas promulgadas por el Consejo de Organización Internacional de Ciencias Médicas (CIOMS), en los que se establece, que previo a la realización de la investigación, al paciente se le debe informar, de los objetivos, métodos y procedimientos a utilizarse, la finalidad de la investigación y beneficio que puede traer, tanto individual como colectivo. Además, se tomó en cuenta al momento de realizar la entrevista a los pacientes si habían tenido contacto con el vector o sospechaban de haber sido picados por el insecto (Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas, 2002).

Las personas que aceptaron ser parte de la investigación, pertenecían a ambos sexos, se incluyó a niños, adultos y adultos mayores en el estudio. Las muestras de sangre fueron obtenidas por la técnica de venopunción (previa asepsia), con una inyectora de 3 mL se extrajeron 3 mL de sangre, los cuales fueron dispensados en un tubo tapa roja (sin anticoagulante) previamente rotulado, y conservado en una cava de anime con hielo. Una vez obtenidas las muestras fueron trasladadas al Laboratorio “Dr. José Gregorio Hernández”, ubicado en el municipio Fernández Feo. Estas se centrifugaron a 3.000 r.p.m. durante 10 minutos, obteniendo la separación del suero del paquete celular, siendo dispensadas en nuevos tubos sin anticoagulantes y manteniéndose refrigeradas a 4°C hasta su procesamiento. Adicionalmente a estas muestras, se anexaron 6 muestras obtenidas de pacientes que manifestaron querer participar de manera voluntaria en el estudio, una vez que se hizo de su conocimiento que se estaba realizando una investigación en esa área. Los pacientes eran provenientes del municipio Fernández Feo, y sus muestras fueron procesadas en simultáneo con las muestras del municipio Libertador.

Los sueros obtenidos fueron procesados en 4 tandas, más una ronda adicional confirmatoria de algunos pacientes positivos escogidos de manera aleatoria, cada uno con sus respectivos blancos y controles (positivos y negativos), a través de la técnica de ELISA, utilizando el kit de diagnóstico CruziElisa, en cuya fase sólida los pozos están recubiertos con antígenos de *T. cruzi*, los cuales han sido obtenidos por tecnología de ADN recombinante. La fase sólida fue tratada con las muestras de suero obtenidas, en presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*, se esperaba la generación de un complejo antígeno-anticuerpo, luego se añadió un segundo anticuerpo marcado con una enzima (peroxidasa). Dicha unión antígeno-anticuerpo se manifiesta al agregar la mezcla cromógeno/sustrato, produciendo una coloración azul celeste considerada proporcional a la cantidad de anticuerpos anti- *T. cruzi*, la reacción se detenía al añadir ácido clorhídrico, cambiando la coloración a amarillo.

Finalizado el procesamiento por ELISA se procedió a la lectura en un espectrofotómetro a 450 nm y 620-630 nm, los datos obtenidos fueron analizados en correspondencia a lo indicado en el kit. (Diagen. Manual de usuario CruzeiElisa).

Diseño de análisis

Existen dos tipos de enfoques de investigación: cualitativo y cuantitativo. En esta investigación el análisis de los datos será realizado a través de un enfoque cualitativo. Al respecto, algunos autores refirieron que el enfoque cualitativo se basa en la expresión de las observaciones del investigador, dejando al descubierto los significados que los investigadores ofrecen en base a sus propias experiencias (Monje, 2011).

Variables estadísticas

Las variables estadísticas de esa investigación fueron clasificadas desde su naturaleza, escala de medición e indicadores estadísticos. El fin, era identificar el indicador estadístico pertinente (Tabla 3).

Tabla 3

Variables estadísticas según su naturaleza, escala de medición e indicadores estadísticos

Variables	Tipo de variable		Escala de medida				Indicador Estadístico
	Cualitativa	Cuantitativa	Nominal	Ordinal	Intervalo	Razón	
Diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas	X		X				Porcentaje de personas portadoras y no portadoras

Fuente: Vivas, Quiñones y Hernández, 2019.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

En este trabajo se determinó la presencia de anticuerpos anti-*Tripanosoma cruzi* de tipo IgG en niños y adultos pertenecientes a los poblados de Abejales y Puerto Nuevo del municipio Libertador del Estado Táchira, además de unas muestras adicionales que fueron proporcionadas de manera voluntaria provenientes de El Piñal municipio Fernández Feo, correspondientes a mayo de 2023. De 141 muestras analizadas en total, 70 personas resultaron positivas correspondiendo a un 49,65%, ver gráfico 1.

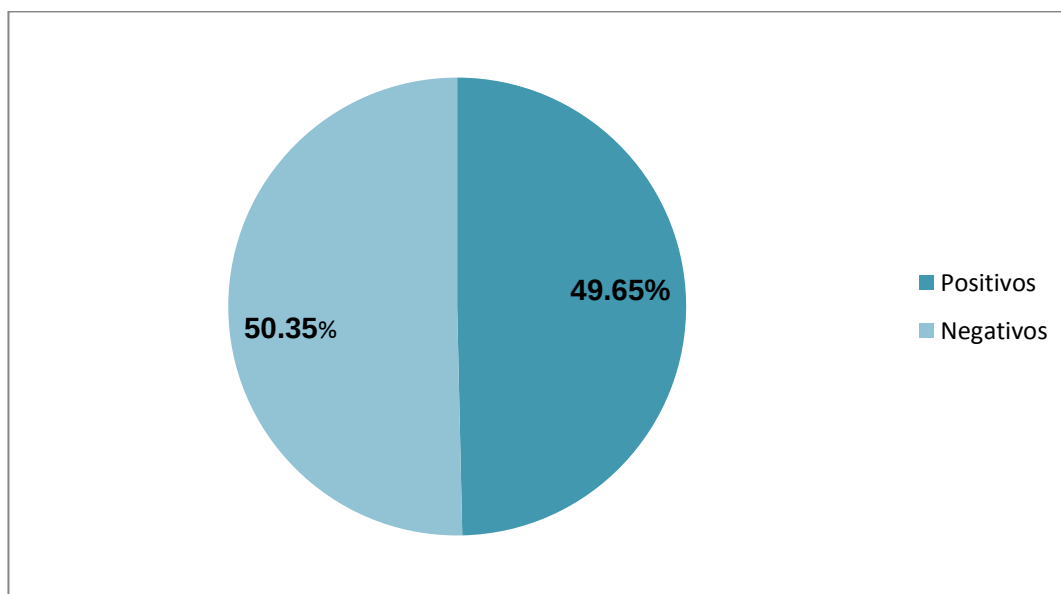


Gráfico 1. Distribución de los resultados positivos y negativos de las personas que presentaron en el estudio anticuerpos anti-*Tripanosoma cruzi* de tipo IgG pertenecientes a los municipios Libertador y Fernández Feo, en mayo de 2023.

En el gráfico 2, se demuestran por separados los resultados positivos y negativos correspondientes a cada municipio, en el municipio Libertador fueron analizadas un total de 135 muestras arrojando una cantidad de 67 personas positivas y 68 personas negativas, mientras que en el municipio Fernández Feo fueron suministradas 6 pruebas de manera voluntaria, obteniendo como resultados igualdad de 3 personas para cada variable.

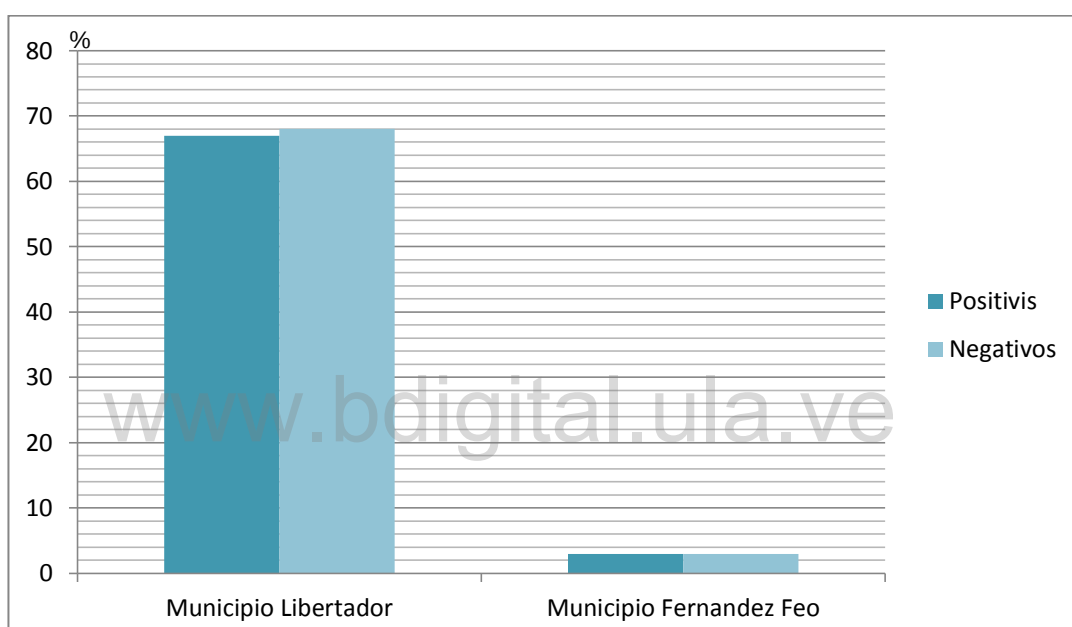


Gráfico 2. Distribución en gráfico de barras de los resultados positivos y negativos correspondientes a cada municipio de las muestras analizadas en este estudio, correspondiente a mayo de 2023.

Para la realización de este estudio, se muestrearon pacientes de distintas edades incluyendo a niños menores de 10 años, los cuales podían ofrecer información acerca de los últimos 10 años de la enfermedad en la entidad, descartando de esta manera los casos de infecciones por exposición antigua. Se han clasificado 7 grupos etarios en intervalos de 10 años, y sus respectivos resultados negativos o positivos. Ver gráfico 3.

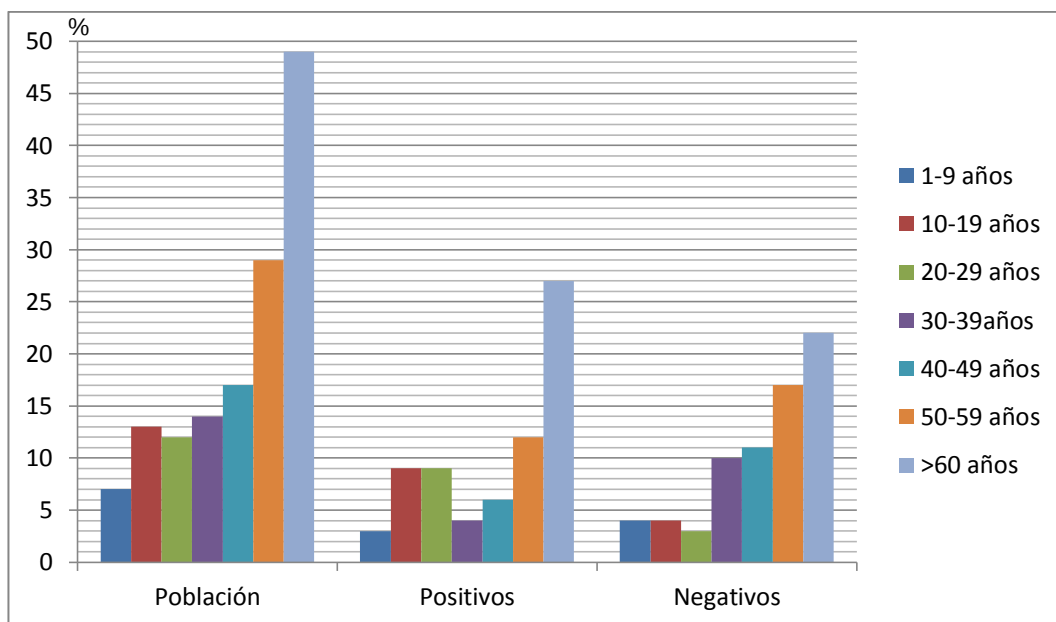


Gráfico 3. Frecuencia de los pacientes positivos y negativos de acuerdo a sus grupos etarios clasificatorios.

Las muestras de suero obtenidas de los pacientes fueron procesadas por el método ELISA, uno de las técnicas convencionales indirectas más empleadas para el diagnóstico de la enfermedad (Suescún, 2021). Siguiendo las indicaciones del manual de usuario Diagen, los sueros fueron procesados en 4 tandas con sus respectivos blancos, controles positivos y negativos, además de sus cut off (puntos de corte), y una 5ta ronda adicional confirmativa a algunos pacientes positivos, obteniendo las absorbancias que se presentan en el gráfico 4 de acuerdo a la localidad a la que cada paciente manifestó pertenecer.

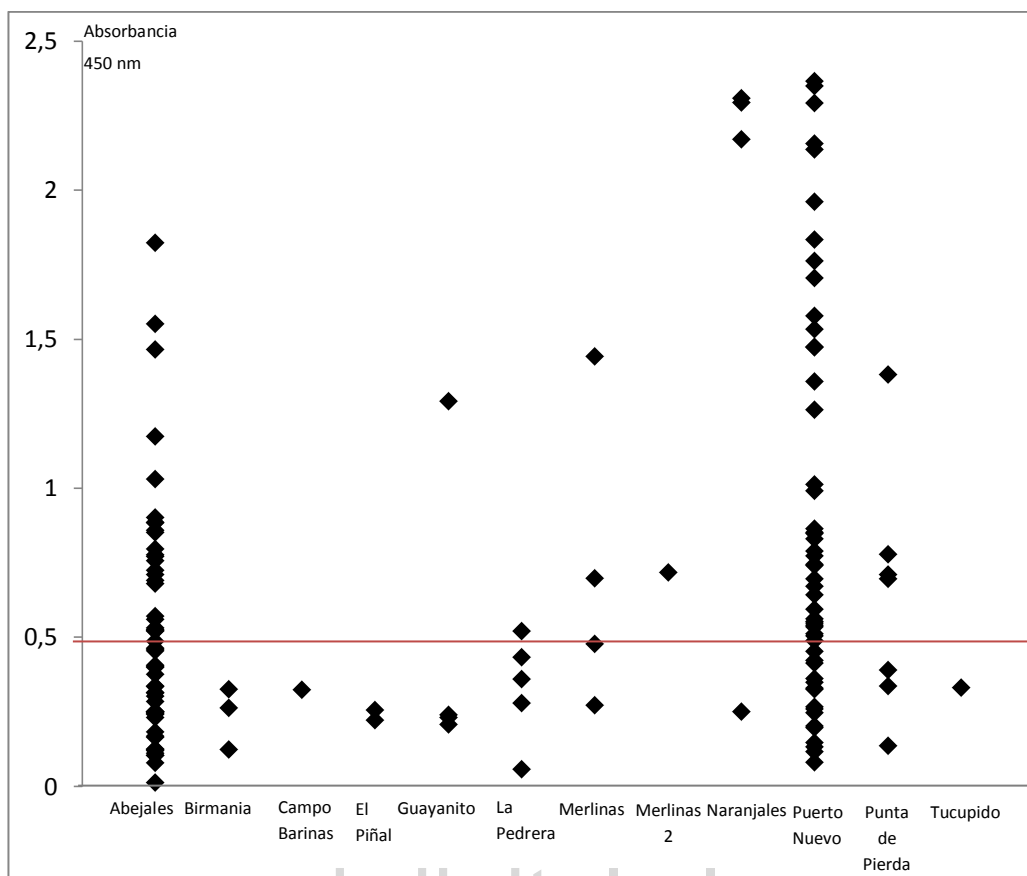


Gráfico 4. Frecuencia de absorbancias de pacientes de acuerdo al sector al cual residen, la línea roja representa el punto de corte.

El gráfico de frecuencias de absorbancias anterior distribuido por localidades permitió clasificar la cantidad de pacientes según sus lugares de residencia, ofreciendo de manera más clara aquellos sitios en donde los números de casos son muy elevados. Ver Tabla 4.

Tabla 4*Distribución de Pacientes Seropositivos de acuerdo a su lugar de origen*

Localidad	Pacientes Seropositivos / total	%
Abejales	24/56	42.85
Birmania	0/3	0
Campo Barinas	0/1	0
El Piñal	0/2	0
Guayanito	1/4	25
La Pedrera	1/5	20
Merlinas	2/4	50
Merlinas 2	1/1	100
Naranjales	3/4	75
Puerto Nuevo	34/53	64.15
Punta de Piedra	4/7	57.14
Tucupido	0/1	0

En la entrevista que se le realizó a cada paciente se les preguntó si habían tenido contacto con el vector, si sospechaban de haber sido picados o habían sido diagnosticados con la enfermedad anteriormente, a los pacientes que respondieron de manera positiva se les marcó con un asterisco su respectivo suero para confirmar la información suministrada. Esto se evidencia en el gráfico 5.

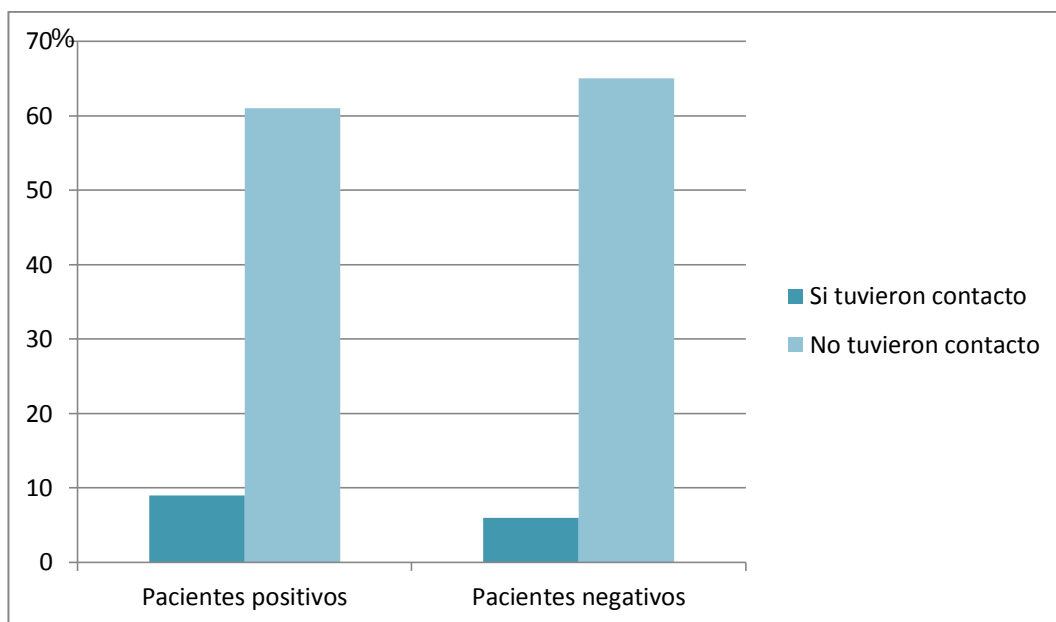


Gráfico 5. Frecuencia de pacientes que resultaron positivos y negativos que manifestaron haber habían tenido contacto con el vector, sospechaban de haber sido picados o habían sido diagnosticados con la enfermedad anteriormente.

www.bdigital.ula.ve

Discusión

En Venezuela, cada vez con más frecuencia se presentan pequeños brotes orales de la enfermedad de Chagas, debido a que las zonas rurales son de características áridas o de pie de monte, con una humedad considerable y ambiente propicio para una alta prevalencia de la Ech (MPPS, 2010). Se realizó un estudio en los centros poblados de Abejales, Puerto Nuevo y El Piñal de los municipios Libertador y Fernández Feo del estado Táchira, en mayo de 2023, analizándose 141 muestras de niños y adultos mediante la prueba de diagnóstico CruziElisa. Sin embargo, los resultados no fueron confirmados por una segunda técnica como lo establece la Organización Mundial de la Salud (OMS), la cual recomienda la realización de dos pruebas basadas en diferentes principios y antígenos, y una tercera en caso de discordancia (OPS/OMS, 2017). A pesar de no confirmar por otras pruebas, CruziElisa combina una sensibilidad y especificidad del 100%, siendo altamente confiable, en similitud con el estudio realizado por Zabala, et al., (2019), en el cual analizó 1.200 muestras de mujeres puérperas con el método ELISA con una sensibilidad del 100%.

En este estudio se pudo obtener como resultado la medición de 141 sueros en su totalidad, procedentes de los poblados de Abejales, Puerto Nuevo y El Piñal, obteniendo 70 pacientes seropositivos correspondiendo a un porcentaje y seroprevalencia de 49,65%, como el estudio llevado a cabo por García-Jordán, et al., (2017), en el estado Sucre quienes seleccionaron de manera aleatoria 96 centros poblados y 574 viviendas, analizando 2.212 muestras, de las cuales resultaron 78 personas seropositivas, proyectando una seroprevalencia de 3,12%.

En pacientes menores de 10 años se obtuvo una alarmante seroprevalencia de 42,85%, correspondiendo a 3/7 infantes seropositivos, en comparación con el estudio realizado por Hernández en el estado Portuguesa (2018), indicando en el mismo renglón de medición una seroprevalencia de 12,5%. Dato que permite deducir que el vector

transmisor de la enfermedad se encuentra presente en los caseríos que integran los poblados en los cuales se tomaron las muestras, demostrando que hay transmisión activa del parásito en la zona. Otro rango que es importante resaltar es el de los pacientes mayores a 60 años, el cual obtuvo una seroprevalencia de 56,25%, correspondiente a 27/48 seropositivos, siendo el grupo etario con más pacientes positivos, lo que permite inferir que son personas que tuvieron una exposición antigua al vector, las personas manifestaron haber vivido gran parte de su vida en el pueblo y en las zonas periféricas rurales, donde también manifestaron haber visto a insectos similares al chipo, esto en comparación con el estudio de Hernández (2018), tuvo una diferencia considerable debido a que en ese estudio solo 1 persona resultó seropositiva, teniendo una seroprevalencia en ese rango del 100%.

Los sueros de los 141 pacientes fueron procesados de acuerdo a lo establecido en el manual de usuario del Diagen, el gráfico 4 permite ver la frecuencia de las absorbancias de los pacientes positivos de acuerdo a sus lugares de origen y el respectivo cut-off (punto de corte) el cual estableció la línea frontera de positividad y negatividad del diagnóstico. En la Tabla 4, se puede observar de manera más clara el número de pacientes seropositivos según su lugar de origen, prestando atención a los poblados de Abejales (24) y Puerto Nuevo (34) que son los sitios en los que una mayor cantidad de pacientes presentaron positividad, teniendo esta última localidad al trabajo realizado por Añez, et al. (2018), donde se estudió un brote oral en el sector rural de Puerto Nuevo municipio Libertador, estado Táchira, el cual se desarrolló sobre un grupo de 27 personas infectadas, del cual podemos inferir que estamos probablemente frente a una zona endémica, con transmisión activa del parásito, en la que existe una presencia constante del vector sin ninguna acción que busque su erradicación.

Un factor importante para poder contrarrestar la enfermedad es reconocer al insecto por el cual es transmitida, la información que nos ofrece el gráfico 5, en primera instancia fue confirmar la información

suministrada por los pacientes sobre si tuvieron contacto con el vector o fueron diagnosticados anteriormente con la enfermedad, conforme a los altos porcentajes de sensibilidad y especificidad del kit de ELISA utilizado; en segunda instancia nos informa sobre la sospecha de algunos pacientes de haber tenido contacto previo con el vector, pero resultaron seronegativos, lo que indica que aparentemente esas personas no tienen un buen conocimiento de la forma de los triatomíneos, como lo refleja en su estudio Hernández (2018), que el bajo nivel educativo puede favorecer al desconocimiento de la enfermedad de Chagas, ya que los pacientes que resultaron seropositivos no tenían conocimiento de la enfermedad, esto sumado a los factores de riesgo que presentó esa comunidad, incrementa considerablemente la probabilidad de adquirirla.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Al observar los resultados obtenidos en el estudio, se puede concluir que desde el brote oral del 2018 que se presentó en la comunidad rural de Puerto Nuevo no se ha realizado ningún trabajo de investigación de la enfermedad en el municipio.

Los datos obtenidos nos muestran una alarmante cifra de seroprevalencia de la enfermedad de 49,65%, en los grupos etarios de los pacientes pertenecientes a los municipios Libertador y Fernández Feo, pudiendo concluir que estamos en la presencia de una zona endémica en el occidente del país.

La seroprevalencia en niños menores de 10 años que participaron en el estudio fue de 42,85%, lo que nos indica que existe una transmisión activa de la enfermedad, a través, de la presencia del vector en el área rural.

La cifra de seroprevalencia de 56,25% en el grupo etario de pacientes mayores a 60 años, refleja una exposición antigua a la enfermedad, la mayoría de estas personas reconocieron haber vivido en la misma zona y algunos mencionaron haber residido en zonas rurales aledañas, por lo que se puede establecer que esas zonas también poseen las mismas características socioeconómicas y demográficas de los poblados seleccionados para el estudio.

Durante la entrevista a cada paciente se les preguntó a cada uno si habían tenido contacto con el vector, sospechaban de haber sido picados o habían sido diagnosticados anteriormente con la enfermedad, a los

pacientes que resultaron seropositivos nos permitió confirmar la presencia de la enfermedad gracias a la utilización de kit CruziElisa, el cual cuenta con una sensibilidad y especificidad del 100%, ahora bien, de las personas que representaron los casos seronegativos y que habían manifestado haber tenido contacto con el vector, se puede deducir que existe desconocimiento de la enfermedad, de los vectores y de los métodos de transmisión de la misma.

www.bdigital.ula.ve

Recomendaciones

Los resultados obtenidos en el presente estudio deben ser presentados en un informe a las autoridades de salud competentes en el estado (CORPOSALUD-Táchira y el Instituto de Salud Ambiental).

Se debe promover la creación de campañas de sensibilización y capacitación de la comunidad sobre la prevención, factores de riesgo y forma de transmisión de la enfermedad de Chagas.

Se considera una necesidad imperativa reactivar programas de vigilancia epidemiológica de la enfermedad de Chagas tanto a nivel regional como a nivel nacional.

www.bdigital.ula.ve

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

- Acosta, L., Pinedo, J., Hernández, E. y Villarreal, J. (2013). Comparación de los métodos de inmunoensayo enzimático automatizado (VIDAS) y PCR para la detección de *Salmonella* spp. en expendios de la ciudad de Santa Marta (Colombia). *Salud Uninorte. Barranquilla*, 29(2), 176.
- Acquatella, H. (2003). Estado actual de la enfermedad de Chagas en Venezuela y de su manejo terapéutico. *Gac Méd Caracas*, 11(2). https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0367-47622003000200009
- Alarcón, B., Noya, O. y Robertson, L. (2015). *Trypanosoma Cruzi* as a Foodborne Pathogen. Springer International Publishing.
- Añez, N., Crisante, G., Rojas, A., Díaz, N., Añez-Rojas, N., Carrasco, H., Parada, H., Aguilera, M., Moreno, G., Galíndez-Girón, I., Sandoval, R., Sandoval, I., Vásquez, L., Nava-Rulo, O., Guerra, F., Uzcátegui, G., Yépez, J., Rodríguez, C. y Bofante-Cabarcas, R. (2003). La cara oculta de la enfermedad de Chagas en Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 43(2), 45-53.
- Añez, N., Crisante, G., Rojas, A., Rojas, R. y Bastidas, J. (2016). A New Acute Oral Chagas Disease Outbreak in Merida, Venezuela: A Comprehensive Study. *International Journal of Clinical Medicine Research*, 3(1), 29-37.
- Añez, N., Rojas, A., Crisante, G., Parra, J., Vivas, D. y Parada, H. (2018). Enfermedad de Chagas en el estado Táchira: Reporte de un nuevo brote por transmisión oral de *Trypanosoma cruzi* en el occidente de Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 58(1,2), 46-56.
- Apt, W. (2013). *Parasitología Humana*. Editorial Mc Graw Hill.
- Arias, F. (2006). *El proyecto de investigación*. Editorial Episteme.

- Castillo, D. y Wolff, M. (2000). Aspectos del comportamiento de los triatominos (Hemíptera: Reduviidae), vectores de la enfermedad de Chagas. *Biomédica* 2000, 20, 60.
- Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS)/OMS (2002). *Pautas éticas internacionales para la investigación biomédica en seres humanos*. Ginebra.
- Córdoba, L. (2007). *Identificación y Descripción Molecular de cepas de Trypanosoma cruzi y su Análisis Filogenético Mediante Secuenciación del Gen para Citocromo B* [Tesis de grado, Universidad de Chile, Chile].
- De León, C., Peralta, G. y Pereira, M. (2016). *Afectaciones Cardíacas Por Enfermedad De Chagas*. Universidad de Carabobo. 11-12.
- Diagen. Manual de usuario CruzElisa. Disponible en: <http://www.diagen.com.ve/>
- Errico, A. (2015). *Análisis del transcriptoma de Trypanosoma cruzi: estudios de secuenciación profunda en tres estadios del ciclo de vida del parásito* [Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias. Universidad de la República, Uruguay].
<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/6909/1/uy24-17514.pdf>
- Feliciangeli, D. (2009). Control de la enfermedad de Chagas en Venezuela: Logros pasados y retos presentes. *Interciencia*, 34(6), 393-399.
https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442009000600006
- García-Jordán, N., Berrizbeitia, M., Rodríguez, J., Concepción, J., Cáceres, A. y Quiñones, W. (2017). Seroprevalencia de la infección por Trypanosoma cruzi en la población rural del estado Sucre, Venezuela. *Cad. Saúde Pública*, 33(10).
<https://www.scielosp.org/pdf/csp/2017.v33n10/e00050216>
- Guzmán, E. (2004). Las pruebas de ELISA. *Gac Méd Méx*, 140(3), 48.

- Hernández, D. (2018). *Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en personas, perros y factores de riesgo de la población Trujillito - estado Portuguesa - en noviembre de 2015* [Tesis de grado, ULA - Mérida, Mérida].
- Hurtado, J. (2010). *El proyecto de investigación, comprensión holística de la metodología y la investigación*. Editorial FEDUPEL.
- Limia, A., Labrador, M., Ory, F., Sánchez-Cambronero, L., Rodríguez, I., Cantero, E., Vázquez, J. y Arce, A. (2019). Metodología del 2º estudio de seroprevalencia en España. *Revista Española de Salud Pública*, 93, e201904021.
- Lin, V. (2015). Indirect ELISA. En R, Hnasko (Ed.) *ELISA Methods and Protocols*. Humana Press.
- Maldonado, C. (2009). *Introducción al inmunodiagnóstico*. Ponencia presentada como complemento de la Unidad Curricular Inmunología de la Facultad De Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, Mérida (Venezuela).
- Ministerio de Salud, Gobierno de Chile. (2011). *Guía de Diagnóstico, Tratamiento y Prevención de la Enfermedad de Chagas*. Santiago. pp. 13-16.
- Monje, C. (2011). *Metodología de la Investigación Cuantitativa y Cualitativa Guía didáctica*. Neiva.
- MPPS. (2010). *Vigilancia de enfermedad de Chagas. Guía para el diagnóstico, manejo y tratamiento de enfermedad de Chagas en fase aguda a nivel de los establecimientos de salud*. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Dirección General de Epidemiología. Dirección de Vigilancia Epidemiológica. Caracas, Venezuela.
- Ochatt, C. (1994). *Fosforilaciones y proceso endocítico temprano durante el ciclo de vida del parásito Trypanosoma cruzi* [Tesis de doctorado, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires]
- OMS. (2018). *La enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana)*. <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease>

(american-trypanosomiasis).

OPS/OMS. (2017). *Enfermedades infecciosas desatendidas “Enfermedad de Chagas”*. <http://www.paho.org>.

Palella, S. y Martins, F. (2004). *Metodología de la Investigación Cuantitativa*. FEDUPEL.

Peña, G., González, J., Jiménez, J., Fuentes, J., Salazar, P., Bucio, M., Cabrera, M. y Flores, A. (2022). Enfermedad de Chagas: biología y transmisión de *Trypanosoma cruzi*. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 25, 1-19.

Pérez, A. (2006). *Guía Metodológica para Anteproyectos de Investigación*. FEDUPEL.

Pifano, F. (1940). LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN VENEZUELA. Trabajo presentado en el VIII Congreso Científico Americano [Archivo PDF].

[https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/13077/v19n10p984.pdf?sequence=1#:~:text=humanos%20de%20enfermedad%20de%20Chagas,Miranda%20\(Tejera%20y%20Pons\)](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/13077/v19n10p984.pdf?sequence=1#:~:text=humanos%20de%20enfermedad%20de%20Chagas,Miranda%20(Tejera%20y%20Pons).).

Pita, S. y Pértegas, S. (2003). Pruebas diagnósticas: Sensibilidad y especificidad. *Cad Aten Primaria*, 10, 120-124.

Rodríguez, E., Briceño, L., Chiurillo, M., Mosca, W. y Campos. Y. (2004). *Tripanosomiasis Americana: Aspectos teóricos*. En Curso Latinoamericano de Enfermedades Infecciosas. Cuso llevado a cabo en Caracas, Venezuela.

Rodríguez, M., Camps, B. y Albajar, P. (2011). La lucha frente a la enfermedad de Chagas: una enfermedad silenciosa y silenciada cien años después de su descubrimiento. En V, Rodríguez (Ed.), *La lucha frente a las enfermedades de la pobreza* (1ª ed). Fundación BBVA.

https://www.google.co.ve/books/edition/La_lucha_frente_a_las_enfermedades_de_la/LdaVLG7u_eQC?hl=es-419&gbpv=0

Siachoque, H. (2006). *Inmunología. Diagnóstico e interpretación de pruebas de laboratorio*. Colecciones de Medicina. p. 20.

- Suescún, S. (2021). *Validez de las pruebas de diagnóstico rápido y de Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas ELISA) para detectar la infección crónica por Trypanosoma cruzi* [Tesis de doctorado, Universitat Autònoma de Barcelona, España].
- Volcy, C. (2007). Historia de los conceptos de causa y enfermedad: paralelismo entre la Medicina y la Fitopatología. *IATREIA*, 20(4), 414-415.
- Wainszelbaum, M. (2002). *Trypanosoma cruzi: Mecanismos reguladores de la metaciclogénesis* [Tesis de doctorado, Universidad de Buenos Aires, Argentina].
- Zabala N., Berrizbeitia M., Jorquera A., Rodríguez J. y Romero L. (2019). Infección por *Trypanosoma cruzi* en mujeres puérperas y sus neonatos en Barcelona, estado Anzoátegui, Venezuela. *Biomédica*, 39, 769-84.

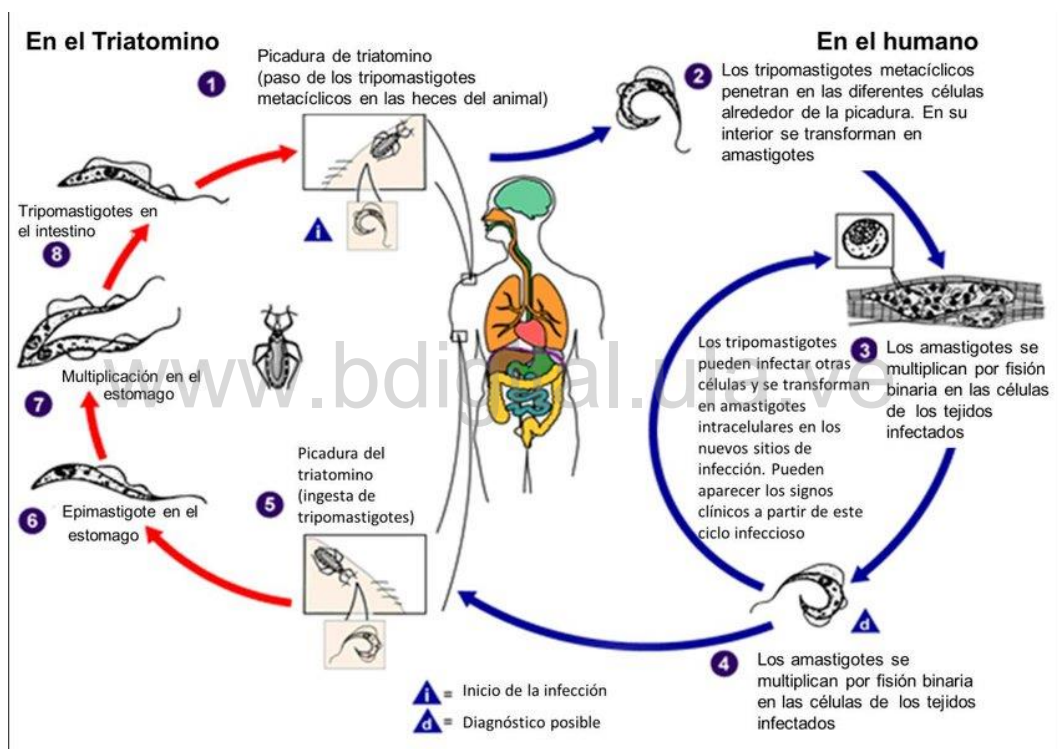
www.bdigital.ula.ve

ANEXOS

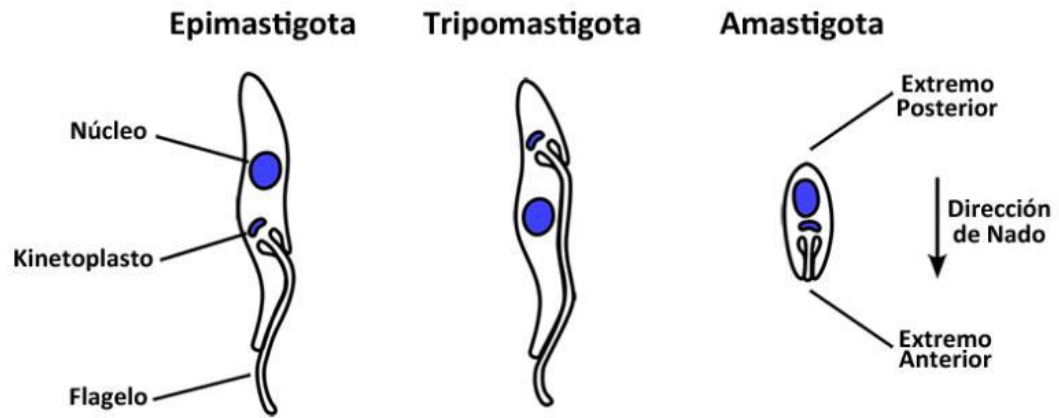
www.bdigital.ula.ve



Anexo 1. Ejemplares de triatominos capturados por el personal de Salud Ambiental del municipio Libertador estado Táchira.

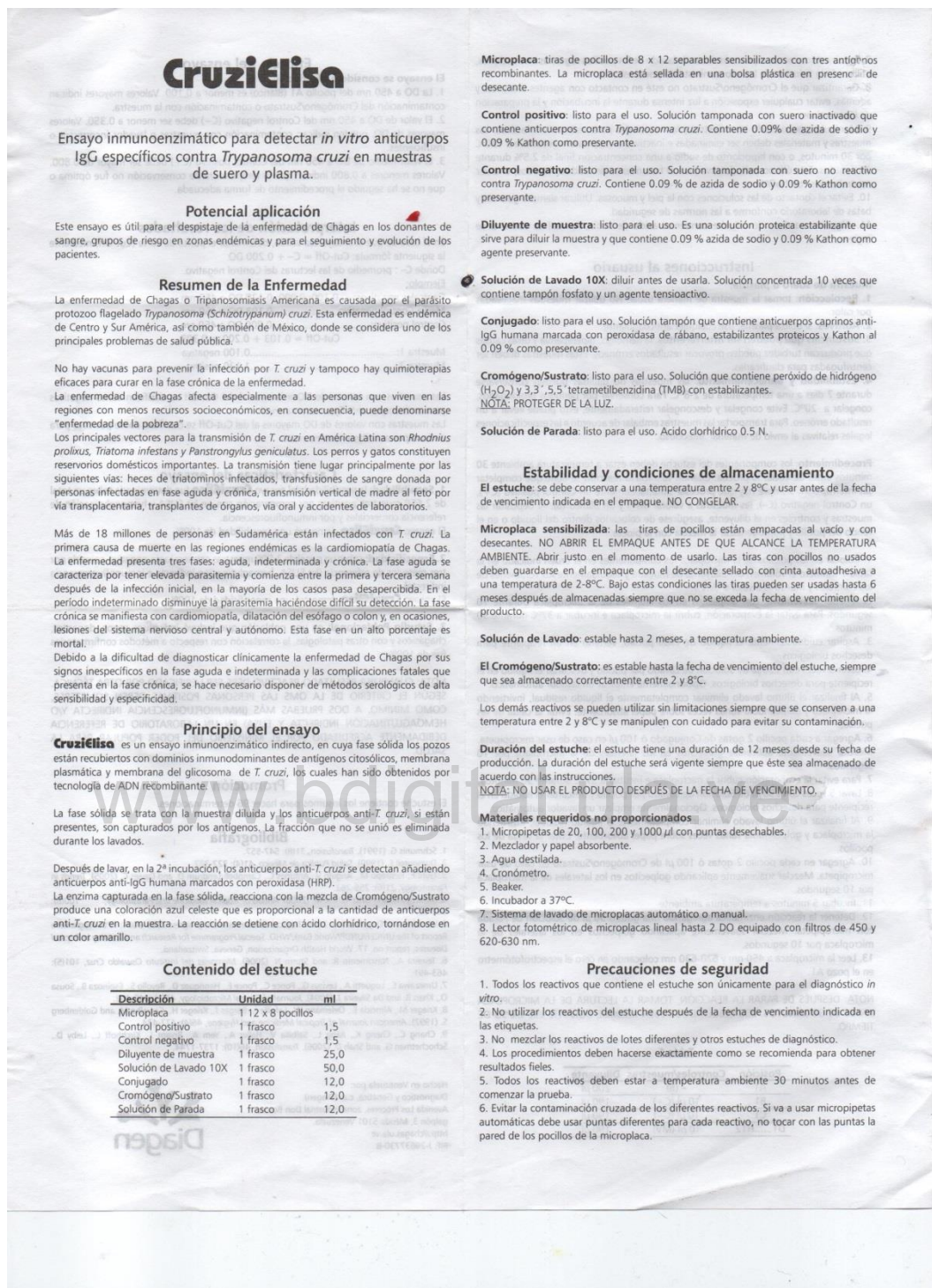


Anexo 2. Ciclo de vida del *Trypanosoma cruzi*



Anexo 3. Estadios del *Trypanosoma cruzi*

www.bdigital.ula.ve



Anexo 4. Inserto del kit CruziElisa (1/2).

7. Seguir estrictamente el procedimiento de lavado de los pocillos según las instrucciones, utilizando la Solución de Lavado suministrada por el estuche.
8. Garantizar que el Cromógeno/Sustrato no esté en contacto con agentes oxidantes y además, evitar cualquier exposición a luz intensa durante la incubación y la preparación de los reactivos.
9. Manipular con cuidado las muestras y los materiales potencialmente infectivos. Las muestras y materiales deben ser eliminados e inactivados empleando autoclave a 120°C por 30 minutos, o con hipoclorito de sodio a una concentración final de 2.5% durante 30 minutos. Este último método sirve para el tratamiento de residuos líquidos; una vez neutralizados con NaOH.
10. Evitar el contacto de las soluciones con la piel y mucosas. Utilizar siempre guantes y batas de laboratorio conforme a las normas de seguridad.
11. Algunos reactivos de estuche contienen azida de sodio, la cual es tóxica si se inhala.

Instrucciones al usuario

Muestra de suero o plasma:

1. **Recolección:** tomar la muestra de manera usual. No utilizar muestras inactivadas por calor.
2. **Aditivos:** si utiliza plasma, use cualquier anticoagulante.
3. **Sustancias que pueden ser interferentes:** la hemólisis, hiperlipemia y otras causas que produzcan turbidez pueden provocar resultados erróneos. Estas muestras deben ser centrifugadas para clarificarlas.
4. **Estabilidad y almacenamiento:** las muestras no diluidas pueden conservarse durante 7 días a una temperatura de 2-8°C. Para conservar por períodos prolongados, congelar a -20°C. Evite congelar y descongelar reiteradamente, esto puede llevar a un resultado erróneo. Para transportar las muestras embalar de acuerdo a las especificaciones legales relativas al envío de material infeccioso.

Procedimiento: los componentes del estuche deben estar a temperatura ambiente 30 minutos antes de iniciar la prueba. Cuando se inicia la reacción se tiene que completar sin interrupción. Siempre hay que procesar simultáneamente un Control positivo (C+), un Control negativo (C-), las muestras a valorar (MV) y un blanco (B). Al depositar las muestras y controles en el diluyente, asegúrese de colocarlos dentro del líquido o en el fondo del pocillo y homogeneizar la mezcla con la pipeta.

1. Colocar en los pocillos de la microplaca los componentes en el orden indicado en la tabla 1 (primero el volumen del diluyente de muestra y seguidamente los volúmenes de los controles y muestras a valorar (MV)).
2. Mezclar suavemente con golpecitos en los laterales de la microplaca durante 10 segundos. Para evitar la evaporación, cubrir la microplaca e incubar a 37°C durante 30 minutos.
3. Aspirar cuidadosamente el líquido de cada pocillo, verterlo en un recipiente para desechos biológicos.
4. Lavar 5 veces con 250 µl de Solución de Lavado por pocillo y descartar el líquido en el recipiente para desechos biológicos. Opcionalmente emplear un lavador automático.
5. Al finalizar el último lavado eliminar completamente el líquido residual, invirtiendo la microplaca y golpeándola varias veces sobre papel absorbente. Evitar la caída de los pocillos.
6. Agregar a cada pocillo 2 gotas de Conjugado ó 100 µl en caso de usar micropipeta. Mezclar suavemente aplicando golpecitos en los laterales de la microplaca por 10 segundos.
7. Para evitar la evaporación cubrir la microplaca e incubar a 37°C durante 30 minutos.
8. Lavar 5 veces con 250 µl de Solución de Lavado por pocillo y descartar el líquido en el recipiente para desechos biológicos. Opcionalmente emplear un lavador automático.
9. Al finalizar el último lavado eliminar completamente el líquido residual, invirtiendo la microplaca y golpeándola varias veces sobre papel absorbente. Evitar la caída de los pocillos.
10. Agregar en cada pocillo 2 gotas ó 100 µl de Cromógeno/Sustrato en caso de usar micropipeta. Mezclar suavemente aplicando golpecitos en los laterales de la microplaca por 10 segundos.
11. Incubar 5 minutos a temperatura ambiente.
12. Detener la reacción enzimática agregando una gota ó 50 µl de Solución de Parada con micropipeta. Mezclar suavemente aplicando golpecitos en los laterales de la microplaca por 10 segundos.
13. Leer la microplaca a 450 nm y 620-630 nm colocando en cero el espectrofotómetro en el pozo A1.

NOTA: DESPUÉS DE PARAR LA REACCIÓN, TOMAR LA LECTURA DE LA MICROPLACA ANTES DE 30 MINUTOS. LOS RESULTADOS DEBEN MEDIRSE DURANTE ESE LAPSO DE TIEMPO.

Tabla 1

Posición	Controles/muestras	Diluyente
A1	– (B)	200 µl
B1	10 µl (C+)	190 µl
C1	10 µl (C-)	190 µl
D1.....H12	10 µl (MV)	190 µl

Eficacia del ensayo

El ensayo se considera efectivo si:

1. La DO a 450 nm del pocillo A1 (Blanco) es menor a 0.100. Valores mayores indican contaminación del Cromógeno/Sustrato o contaminación con la muestra.
2. El valor de DO a 450 nm del Control negativo (C-) debe ser menor a 0.350. Valores mayores de DO, pueden indicar: contaminación con muestras o lavados incorrectos o insuficientes.
3. El valor medio de DO a 450 nm del Control positivo (C+) debe ser mayor de 0.800. Valores menores a 0.800 indican que la temperatura de conservación no fue óptima o que no se ha seguido el procedimiento de forma adecuada.

Interpretación de los resultados

En el caso de que el ensayo sea válido, determinar el punto de corte (Cut-Off) mediante la siguiente fórmula: $\text{Cut-Off} = C- + 0.200 \text{ DO}$

Donde C- : promedio de las lecturas del Control negativo.

Ejemplo:

Controles negativos: 0.100; 0.090; 0.120 DO a 450 nm

Media Control negativo: 0.103 DO a 450 nm

Control positivo: 0.800 DO a 450 nm

$\text{Cut-Off} = 0.103 + 0.200 = 0.303$

Muestra 1: 0.100 negativa

Muestra 2: 1.120 positiva

Las muestras con valores de DO inferiores al del Cut-Off se clasifican como negativas para anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*.

Las muestras con valores de DO mayores al del Cut-Off se clasifican como positivas para anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*.

Características del ensayo

1. Sensibilidad: la sensibilidad del ensayo **CruziElisa** fue determinada sobre un total de 2.650 muestras positivas por comparación con un kit ELISA y hemaglutinación de referencia comerciales y por inmunofluorescencia.

El ensayo **CruziElisa** demostró una sensibilidad de 100%.

2. Especificidad: sobre un panel de 3.500 muestras con serología negativa coincide por tres métodos de referencia (kit ELISA, hemaglutinación indirecta e inmunofluorescencia indirecta).

El ensayo **CruziElisa** demostró una especificidad de 100%.

3. Estudio Poblacional: en una población que incluyó individuos sanos, donantes, chagásicos y con otras patologías, la correlación con respecto a métodos confirmatorios fue de 100%.

NOTA: CUALQUIER RESULTADO REACTIVO DEBE SER VERIFICADO POR OTRA TÉCNICA. SEGÚN EL CRITERIO DE LA OMS LAS PERSONAS POSITIVAS DEBEN SOMETERSE, COMO MÍNIMO, A DOS PRUEBAS MÁS (INMUNOFLORESCENCIA INDIRECTA Y/O HEMOAGLUTINACIÓN INDIRECTA Y ELISA) EN UN LABORATORIO DE REFERENCIA DEBIDAMENTE ACREDITADO POR EL MINISTERIO DEL PODER POPULAR PARA LA SALUD.

Promoción

El estuche contiene los insumos para hacer 96 determinaciones.

Bibliografía

1. Schmunis G. (1991). *Transfusion*, 31(8): 547-557.
2. Dumontell E. (1999). *Salud Pública de México*, 41(4): 322-327.
3. Gühl F, Restrepo M., Angulo V., Antunes C., Campbell-Lendrum D. and Davies C. (2005). *Trends in Parasitology*, 21(6): 259-262.
4. Moncayo A. and Ortiz-Yanine M. (2006). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 100(8): 663-667.
5. World Health Organization. 2005. Tropical disease research, progress 2003-2004: 17th Programme Report of the UNICEF/UNDP/World Bank/WHO. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, report no. 17. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
6. Teixeira A., Nascimento R. and Sturm N. (2006). *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 101(5): 463-491.
7. Umezawa E., Luquetti A., Levitus G., Ponce C., Ponce E., Henríquez D., Revollo B., Espinoza B., Sousa O., Khan B. and Da Silva J. (2004). *Journal of Clinical Microbiology*, 42(1): 449-452.
8. Krieger M., Almeida E., Oelemann W., Lafaille J., Borges J., Krieger H., Carvalho M. and Goldenberg S. (1992). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 46(4): 427-434.
9. Chang C., Cheng K., Jiang L., Salbilla V., Haller A., Yem A., Bryant J., Kirchhoff L., Leiby D., Schochetman G. and Shah D. (2006). *Transfusion*, 46(10): 1737-1744.

Hecho en Venezuela por:
Diagnóstico y Genética, c.a. (Diagen)
Avenida Los Próceres, zona industrial Don Bosco,
galpón 3, Mérida 5101 Venezuela.
<http://chagas.ula.ve>
RIF: J-29637730-8



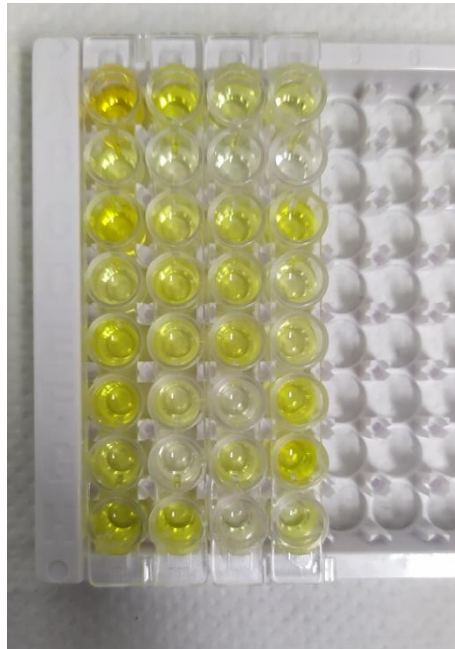
Anexo 5. Inserto del kit CruzeiElisa (2/2).



Anexo 7. Realizando sesiones educativas en la sala de espera del Ambulatorio CPiII de Abejales, mayo 2023.



Anexo 8. Toma de muestra a paciente en la sede de Salud Ambiental de Puerto Nuevo, mayo2023.



Anexo 9. Placa de CruzeiElisa previo a su medición de absorbancia mediante el uso de un espectrofotómetro



Anexo 10. Autoridades del Ambulatorio CPiII de Abejales y de la sede de Salud Ambiental de Puerto Nuevo, municipio Libertador, mayo 2023.