



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

Informe final de investigación previo a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio  
Clínico e Histopatológico

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Título:** Caracterización del tripanosoma por técnicas microscópicas e inmunológicas.

**Autora:** Diana Carolina Pullotasi Pilapanta

**Tutora:** PhD. Luisa Carolina González Ramírez

**Riobamba - Ecuador**

**2021**

## REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: “**Caracterización del tripanosoma por técnicas microscópicas e inmunológicas**”. Presentado por Diana Carolina Pullotasi Pilapanta, dirigido por la Dra. Luisa Carolina González Ramírez PhD, una vez escuchada la defensa oral y realizado el informe final del proyecto de revisión bibliográfica con fines de graduación, escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para el uso y custodia de la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH.

Para la constancia de lo expuesto firman:

Mgs. Aída Mercedes Balladares Saltos

**Presidenta del tribunal**

  
Firma válida solo para:  
Proyecto Investigación Pullotasi Diana

.....  
**Firma**

Dra. Yisela Carolina Ramos Chapi

**Miembro del tribunal**

  
Firma válida solo para:  
docencia

.....  
**Firma**

Mgs. Félix Atair Falconí Ontaneda

**Miembro del tribunal**

  
Firma válida solo para:  
Doc to Final De in VPT Pullotasi 24/6/2021

.....  
**Firma**

## CERTIFICADO DEL TUTOR

Yo, Luisa Carolina González Ramírez, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora del Proyecto de Investigación titulado: **“Caracterización del tripanosoma por técnicas microscópicas e inmunológicas”**, propuesto por **Diana Carolina Pullotasi Pilapanta**, egresado de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto.

Riobamba, 02 de junio de 2021



.....  
Dra. Luisa Carolina González Ramírez

**Docente tutor de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico**

## **DERECHOS DE AUTORIA**

Yo, Diana Carolina Pullotasi Pilapanta soy responsable del contenido expuesto en el presente trabajo de investigación y el patrimonio intelectual pertenece a la prestigiosa Universidad Nacional de Chimborazo

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Diana Pullotasi Pilapanta', written in a cursive style.

Diana Carolina Pullotasi Pilapanta

180490357-1

## **AGRADECIMIENTO**

La culminación de cada etapa de la vida de una persona conlleva a momentos destacables, y estas refieren implícitamente al conjunto social que constituye un sostén sólido y seguro, para concretar determinados fines.

En primer lugar, agradezco a Dios y de manera gratificante a mis docentes que con desempeño y amor han hecho de mí una mejor persona, en especial a la Dra. Luisa Carolina González quienes con ardua labor y desempeño supieron dirigirme.

## **DEDICATORIA**

Dedico de manera fraterna y espiritual a mis padres: Angel Pullotasi y María Pilapanta, quienes en todo momento han sido fuente de mi inspiración para poder luchar contra todas las adversidades que se presentaron en el camino, quienes con valentía sembraron en mí, valores morales, éticos y espirituales para poder transmitir y servir como profesional a la sociedad. A mi hermana Magaly quien me ayudó a superar cada obstáculo que se presentó en mi camino a esta meta.

## ÍNDICE

CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
Tripanosomiasis africana humana .....	6
Métodos de diagnósticos para la detección de <i>Trypanosoma</i> .....	7
Detección de parásitos .....	7
Métodos de concentración (Strout) o microhematocrito .....	8
Epidemiología.....	8
Ciclo de vida.....	8
El parásito .....	9
Etapas de la Enfermedad de Chagas.....	10
Evaluación .....	10
Situaciones especiales.....	11
Enfermedad de Chagas y embarazo.....	11
Diagnóstico en los primeros 6-9 meses de vida .....	11
Enfermedad de Chagas congénita.....	12
Cardiopatía chagásica .....	13
Transmisión accidental .....	13
Etiología .....	13
Prevención .....	14
Tratamiento.....	14
Distribución de triatomíneos en el Ecuador .....	14
Importancia en la salud pública .....	15
Métodos de diagnósticos para la detección de <i>Trypanosoma</i> .....	15
Diagnóstico de Laboratorio .....	15
Métodos Diagnósticos para la fase aguda .....	15
Procedimientos directos sin concentración previa.....	15
Métodos directos inmediatos .....	15
Examen en fresco.....	15
Métodos directos de concentración .....	17
Microhematocrito .....	17

Prueba de Strout .....	17
Métodos directos tardíos.....	17
Hemocultivo .....	18
Xenodiagnóstico directo .....	18
Técnicas inmunológicas para el diagnóstico de la patología de Chagas .....	19
Diagnóstico parasitológico indirecto .....	19
Inmunofluorescencia indirecta (IFI).....	19
Hemaglutinación indirecta (HAI).....	19
Ensayo inmunoenzimático (ELISA).....	20
CAPÍTULO II.....	23
METODOLOGÍA.....	23
Tipo de investigación .....	23
Población .....	23
Muestra .....	23
Técnicas y procedimientos .....	24
Consideraciones éticas.....	24
Procesamiento estadístico.....	24
CAPÍTULO III .....	27
DESARROLLO.....	27
CONCLUSIONES:.....	39
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40



## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue recopilar información de técnicas microscópicas e inmunológicas utilizadas en el diagnóstico de *Trypanosoma* mediante la búsqueda y revisión de literatura de fuentes secundarias que sirva para actualizar el diagnóstico del parásito. La metodología aplicada en esta investigación es de tipo descriptiva, diseño documental, corte transversal y retrospectiva con una muestra empleada de 42 fuentes bibliográficas útiles y relacionadas estrechamente con el objetivo de estudio, donde se incluyen páginas webs (OPS, MSP, Rev Biomédica, Tesis, artículos científicos encontrados a través de bases de datos como Pubmed, Scielo, Elsevier, Bvs, Google Académico, publicados en los últimos 10 años para cumplir el criterio de actualidad y responder al problema de estudio. Para la recolección de los datos se aplicó una estrategia de búsqueda avanzada en las mismas bases de datos, se eligieron palabras claves para ingresar en la barra de búsqueda, se filtró la información con los últimos 10 años, idioma español e inglés y en disciplinas de medicina tropical y salud. Los resultados obtenidos fueron que, para la caracterización parasitológica de *Trypanosoma* en el laboratorio, la visualización directa del parásito y el microhematocrito, siguen siendo las técnicas más utilizadas en el Laboratorio, a pesar de presentar una sensibilidad variable, mientras que, el diagnóstico inmunológico por la técnica de ELISA es más sensible y permite identificar mínimas cantidades de anticuerpos en la muestra del paciente.

**Palabras clave:** Inmunológico, *Trypanosoma*, MÉTODO ELISA, microhematocrito, Diagnóstico

## **ABSTRACT**

The objective of this work was to compile information on microscopic and immunological techniques used in the diagnosis of Trypanosoma by searching and reviewing literature from secondary sources to update the diagnosis of the parasite. The methodology applied in this research is descriptive, documentary design, cross-sectional and retrospective with a sample of 42 useful bibliographic sources closely related to the objective of the study, including web pages (OPS, MSP, Rev Biomédica, Theses, scientific articles found through databases such as Pubmed, Scielo, Elsevier, Bvs, Google Scholar, published in the last ten years to meet the criteria of timeliness and respond to the study problem. For data collection, an advanced search strategy was applied in the same databases; keywords were chosen to enter the search bar, the information was filtered with the last ten years, Spanish and English language, and tropical medicine and health disciplines. The results obtained were that, for the parasitological characterization of Trypanosoma in the laboratory, direct visualization of the parasite and microhematocrit are still the most used techniques in the laboratory, despite their variable sensitivity. In contrast, the immunological diagnosis by ELISA technique is more sensitive and allows the identification of minimal amounts of antibodies in the patient's sample.

**Keywords:** Immunological, Trypanosoma, ELISA METHOD, microhematocrit, diagnosis.

Reviewed by:

Mgs. Sonia Granizo Lara.

**English professor.**

c.c. 0602088890

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

La tripanosomiasis es una infección que puede afectar a seres humanos y animales, causada por parásitos protozoos del género *Trypanosoma*, se presenta en dos variedades tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas, transmitida por triatominos de diferentes géneros y tripanosomiasis africana o enfermedad del sueño, transmitida por moscas tsetsé del género *Glossina*<sup>1</sup>.

La enfermedad en el continente africano se presenta en dos formas la tripanosomiasis africana humana (TAH), enfermedad tropical que llega a ser mortal si no se trata y la tripanosomiasis animal africana (TAA) asociada a pérdidas económicas para los productores, siendo un gran inconveniente en la lucha contra la pobreza en los países afectados. La tripanosomiasis africana provocada por la especie de parásito *Trypanosoma brucei* con la subespecie *T. brucei gambiense* y *T. brucei rhodesiense*<sup>1</sup>.

Parásitos unicelulares con un ciclo de vida complejo, transmitido por vectores biológicos a hospedadores mamíferos. Se conoce como “nagana” cuando se presenta como una enfermedad en animales, con importantes implicaciones<sup>2</sup>. *T. brucei gambiense* es la causa del 97% de los casos notificados como enfermedad del sueño, está presente en 24 países de África occidental y central. *T. brucei rhodesiense* se encuentra en 13 países<sup>3</sup>.

En América circula *Trypanosoma rangeli* es un protozoo de la familia Trypanosomatidae, microorganismo de gran distribución geográfica en América Central y del Sur, los roedores y primates son los principales reservorios animales. Entre los triatominos, insectos hematófagos que lo transmiten, se encuentra *Rhodnius prolixus* como el vector de mayor importancia epidemiológica, puede esparcir el protozoo cuando se alimenta de hospedadores vertebrados, provocando una respuesta inmunitaria que eleva los niveles de anticuerpos<sup>4</sup>.

*T. rangeli* se encuentra en simpatria con *Trypanosoma cruzi*, sin embargo, *T. rangeli*, no es patógeno para los hospedadores vertebrados. A pesar de esto, *T. rangeli* puede causar la producción de anticuerpos que reaccionan de forma cruzada con los antígenos de *T. cruzi*.

Por lo cual puede llevar a un diagnóstico erróneo de la enfermedad de Chagas, causando un impacto socio epidemiológico que no han sido tomado en cuenta por las autoridades sanitarias <sup>5</sup>.

*T. cruzi* es el causante de la enfermedad de Chagas, se produce al tener contacto con las heces de un triatomino infectado, no se descartan otros mecanismos de transmisión, como los trasplantes de órganos, la transmisión transplacentaria que origina infecciones congénitas, la transfusión de sangre y los accidentes de laboratorio, que llegan a causar infecciones en regiones no endémicas, donde no se encuentran vectores. Afecta a 7 millones de personas alrededor del mundo, sin embargo, esta enfermedad es considerada desatendida, y es endémica en América Latina, donde supone un riesgo de infección para más de 65 millones de personas y se estima que ocasiona la muerte de 50 000 cada año <sup>6</sup>.

La Enfermedad de Chagas en el continente europeo se controla de manera sistemática, los datos disponibles sugieren que existen tasas muy elevadas en algunos países. Por orden de prevalencia en Europa, el mayor número de casos se encuentran en España, Italia, Países Bajos, Reino Unido, Alemania y Francia. Existen registros de 4 290 casos de Chagas entre inmigrantes latinoamericanos en nueve países europeos, con una prevalencia de 1,3 por cada 1 000 inmigrantes de países endémicos. La prevalencia podría ser mayor, debido a los subregistros de inmigrantes indocumentados <sup>7</sup>.

En Colombia entre 700 000 y 1 200 000 habitantes infectados y 8 000 000 individuos en riesgo de adquirir la infección, aproximadamente el 5% de la población está infectada y casi el 20% de la población vive en zonas endémicas <sup>8</sup>. También, se reporta la transmisión materno-fetal de *T. cruzi*. Según los datos aportados por la OMS, México registra la mayor cantidad de casos de transmisión congénita por año 1 788, seguido por Argentina 1 457 y Colombia 1 046, Venezuela 665, Bolivia 616 y Brasil 571 <sup>9</sup>.

En Ecuador la enfermedad de Chagas es endémica, en la amazonia, la costa del Pacífico y en algunas zonas subtropicales de la cordillera de los Andes y se considera un problema de salud pública. El Ministerio de Salud Pública (MSP) de Ecuador y La Organización Panamericana de la Salud (OPS) estima que la prevalencia general de la infección por *T. cruzi* es del 1,38% de toda la población ecuatoriana, con una mortalidad anual de 7,7 por cada 1 000 positivos, lo que registra 1 300 muertes anuales por Chagas <sup>10</sup>.

Su principal aporte fue brindar información científica actual para el apoyo en el diagnóstico de *Trypanosoma* por técnicas microscópicas e inmunológicas de esta manera contribuir a su diagnóstico y posible tratamiento. Las técnicas inmunológicas son muy importantes porque intervienen en el auxilio de identificar la especie causante de tripanosomiasis.

Entre los principales beneficiarios de esta investigación se encuentra el personal sanitario, en especial los analistas de laboratorio que trabajen en zonas endémicas de *Trypanosoma*, puesto que la información presentada resume de forma práctica y sencilla las principales técnicas de diagnóstico, siendo de gran utilidad. Además, sirve como apoyo informativo a la comunidad para que tomen medidas de prevención contra la enfermedad. Al ser una de las enfermedades olvidadas a nivel mundial, con un alto índice de prevalencia en el continente americano y tasas muy elevadas de mortalidad.

Con este estudio de carácter documental, se podrá brindar información de cómo se realiza el diagnóstico mediante técnicas microscópicas e inmunológicas, también sirve para dar a conocer este problema de salud desatendido.

Por lo tanto, al recopilar información de *Trypanosoma*, revisarla, interpretarla y construir el marco teórico, se amplía en gran medida los diferentes conceptos y métodos de diagnóstico. Esto ayuda a esclarecer y a orientar sobre la caracterización de *Trypanosoma* por medio de técnicas parasitológicas e inmunológicas existentes en la actualidad, y con ello dar respuesta al problema de investigación planteado.

La tripanosomiasis africana está presente en áreas empobrecidas y en comunidades rurales. La distribución no se informa y, aunque la OMS ha luchado por mantener los programas de control, no todos los países notifican la enfermedad, ni implementan las medidas de mitigación. La enfermedad tiene dos etapas, la primera hemolinfática temprana y una segunda de meningoencefalitis tardía con invasión del sistema nervioso central. Para el diagnóstico de la enfermedad activa, el médico basa su diagnóstico presuntivo en la clínica y la procedencia de áreas endémicas, mientras que, el Laboratorio lo comprueba con la visualización directa del parásito y las pruebas serológicas complementarias <sup>2</sup>.

La enfermedad de Chagas se descubrió en 1909, aún sigue siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en América Central y del Sur se estima que hasta 10

millones de personas están infectadas alrededor del mundo. Estados Unidos no es un área endémica, pero debido a las migraciones, la enfermedad se ha presentado en los estados de Arizona y Texas. La enfermedad en Europa y Australia refleja el mismo patrón <sup>2</sup>.

En la enfermedad de Chagas se distinguen dos fases clínicas con criterios diagnósticos y terapéuticos diferentes; por lo tanto, el médico debe tener clara la etapa en la que se encuentra el paciente. La fase aguda de la enfermedad se caracteriza por síndrome febril infeccioso y parasitemia que, al no ser tratada, avanza a la fase crónica, en la cual aparecen complicaciones más graves como la cardiomiopatía chagásica o megacolon y megaesófago que tiene implicaciones sociales, físicas y económicas importantes <sup>5</sup>.

Se puede realizar un diagnóstico directo de *T. cruzi* durante la fase aguda de la infección por medio de la detección de parásitos en montajes frescos de sangre, preparaciones teñidas con Giemsa, gota gruesa, técnicas de concentración de Strout cuya sensibilidad va desde el 90-100%, biopsia, entre otros. Durante la fase crónica, el diagnóstico de la enfermedad debe ser confirmado con resultados positivos de por lo menos dos pruebas serológicas. Se dispone de diferentes técnicas de inmunodiagnóstico: ELISA, inmunofluorescencia indirecta, fijación del complemento, hemaglutinación directa, prueba de látex y aglutinación directa <sup>5</sup>.

Tanto la tripanosomiasis americana como la africana pueden provocar morbilidad y mortalidad a largo plazo si la enfermedad no se identifica y trata en sus primeras etapas. El diagnóstico de tripanosomiasis americana depende de la confirmación por visualización directa de tripomastigotes en sangre, y la africana en líquido cefalorraquídeo, la historia clínica y las pruebas serológicas. Actualmente no existe una vacuna, la cooperación de los gobiernos locales de las áreas endémicas es importante para poner en marcha el control integrado <sup>2</sup>.

Son muy escasos los estudios bien fundados sobre la enfermedad de Chagas, debido a que los informes son esporádicos y el diagnóstico y tratamiento ocurren en áreas rurales empobrecidas. Sin embargo, la eficacia del tratamiento se sigue estudiando activamente. La iniciativa del Cono Sur sobre el control de la enfermedad de Chagas es un ejemplo de corroboración internacional para disminuir la transmisión a través del control de vectores. Chile, Uruguay y partes de Brasil son países casi libres de transmisión <sup>2</sup>.

Los tripanosomas son protozoos flagelados unicelulares que pertenecen a la familia de los Trypanosomatidae y al género *Trypanosoma*, comprende varias especies que causan enfermedades en humanos, animales domésticos y silvestres <sup>11</sup>. *Trypanosoma* posee un importante interés médico y veterinario, se ha clasificado en dos grupos, los pertenecientes a la sección salivaria, llamado así porque son transmitidos por la inoculación de la saliva que ocurre durante la picadura de los vectores, por ejemplo, *T. brucei*, *T. congolense*, *T. rangeli* y *Trypanosoma vivax*. Mientras que, *T. cruzi*, pertenece a la sección stercoraria porque es transmitido con las deyecciones del insecto vector <sup>12</sup>.

*T. b. gambiense* y *T. b. rhodesiense* son los agentes causales de la conocida enfermedad del sueño, es una infección mortal causada por subespecies de *T. brucei* y se transmite a través de las picaduras de las moscas tsetsé (*Glossina* spp.) *T. b. rhodesiense* se registra en África oriental y meridional, provoca una forma aguda de tripanosomiasis. Mientras que, *T. b. gambiense* se presenta mayormente en África Central y Occidental, también en Sudán del Sur y el norte de Uganda, y causa una infección crónica. Las personas que residen en zonas rurales lejanas del África subsahariana con escaso acceso a los servicios sanitarios corren el riesgo de infección, sin embargo, mapas recientes de distribución indican que la mayoría de los focos se encuentran en la República Democrática del Congo <sup>13</sup>.

La enfermedad causó epidemias fatales durante el siglo pasado, gracias a los Programas Nacionales de Control de la Enfermedad del Sueño durante las dos últimas décadas, las medidas de vigilancia y control de la enfermedad apoyadas por la OMS y otras instituciones han permitido disminuir la incidencia de la enfermedad <sup>13</sup>.

La OMS en el año 2016 notificó 2 164 nuevos casos de tripanosomiasis africana 2 110 fueron causados por *T. b. gambiense* (92% de reducción en comparación con el año 2000), y 54 por *T. b. rhodesiense* (2,5% del total de casos notificados, 92% de reducción en comparación con el año 2000). La OMS se planteó como objetivo la supresión la tripanosomiasis como problema de salud pública en el año 2020 a (menos de 2 000 casos al año y la eliminación de la transición a cero casos está prevista para el año 2030 <sup>13</sup>.

*Trypanosoma rangeli*

Es un parásito protozoo de la familia Trypanosomatidae, de gran distribución geográfica en Centro y Suramérica, no se estima patógeno para ningún hospedador vertebrado. El valor en su diagnóstico radica en que la infección por *T. rangeli* puede elaborar anticuerpos que reaccionan de manera cruzada con los antígenos de *T. cruzi* <sup>14</sup>.

### *Trypanosoma cruzi*

Impacta a 8 millones de personas en el continente americano. El parásito cuenta con un ciclo vital bifásico en el que cuatro formas se alternan entre el insecto vector (epimastigotes y tripomastigotes metacíclicos) y el hospedador mamífero (amastigotes y tripomastigotes sanguíneos). Los epimastigotes y los amastigotes son los estadios replicativos del insecto vector y de los mamíferos, respectivamente. Se ha asumido que los epimastigotes no son infecciosos para el mamífero por el hecho de que es susceptible a la inmunidad de los mamíferos y puede ser eliminado por el sistema del complemento <sup>15</sup>.

### **Tripanosomiasis africana humana**

*T. b. rhodesiense* es zoonótico y es endémico en 13 países del este y sur de África y causa un síndrome agudo. Mientras que, *T. b. gambiense* es un parásito antroponótico que se encuentra en 24 países de África central y occidental y causa un síndrome crónico <sup>16</sup>. La enfermedad se transmite por la picadura de la mosca tsetsé durante su ingestión de sangre. El vector *Glossina* pertenece al orden Diptera. *Glossina* es vivípara y el macho como la hembra son capaces de propagar enfermedades <sup>17</sup>.

Variedad de moscas del subgénero están involucradas en la transmisión de parásitos: *G. palpalis palpalis* y *G.p. gambiensis* transmiten *T. b. gambiense* y *G. morsitans* transmite *T. b. rhodesiense*. Estas moscas necesitan temperaturas de 16-38°C, (50-80% de humedad relativa) para sobrevivir, se clasifica como un "vector malo", ya que en cada ingesta de sangre pierde parásitos y la hembra solo produce 10 larvas durante toda su vida <sup>17</sup>.

A partir de la ingestión de sangre, la mosca tsetsé infectada inocular su saliva para anestesiarse y prevenir la coagulación de la sangre del hospedador, y los tripomastigotes metacíclicos se inyectan subdérmicamente. Los parásitos proliferan en el sitio de inoculación y luego se



transforman en tripomastigotes sanguícolas que van a diseminarse durante la primera etapa de la enfermedad <sup>18</sup>.

Luego, esa forma puede multiplicarse por fisión binaria, en diferentes fluidos corporales (sangre, linfa) y alcanzar el líquido cefalorraquídeo (LCR), lo que indica el comienzo de la segunda etapa de la enfermedad. Los pacientes infectados por *T. b. gambiense* puede sobrevivir más de 10 años y los infectados con *T. b. rhodesiense* mueren en 6 meses <sup>18</sup>.

Si una mosca tsetse sana pica a un hospedador infectado, ingiere parásitos en forma de tripomastigotes sanguícolas, que pasan al intestino medio de la mosca, donde algunos se diferenciarán en tripomastigotes procíclicos. Posteriormente, los parásitos migran desde el intestino medio hasta la glándula salival, se transforman en epimastigotes para multiplicarse, luego se convierten en tripomastigotes metacíclicos y esperan una nueva ingesta de sangre de mosca para infectar a un nuevo individuo <sup>18</sup>.

La primera etapa también conocida como etapa hemolítica o del torrente sanguíneo, se caracteriza por cefalea, linfadenopatía, fiebre, anemia, astenia y hepatoesplenomegalia. Cuando los parásitos atraviesan la barrera hematoencefálica, empieza la etapa meningoencefálica con síntomas neuropsiquiátricos, como: parálisis de las extremidades, irritabilidad, hemiparesia, movimientos anormales, alteraciones del sueño, comportamiento agresivo y reacciones psicóticas, esta etapa es fatal si no se controla a tiempo <sup>19</sup>.

### **Métodos de diagnósticos para la detección de *Trypanosoma***

Se cuenta con métodos parasitológicos, inmunológicos y moleculares de diagnóstico, sin embargo, en los países pobres de América Latina y África es difícil acceder al diagnóstico molecular, por cuanto, un diagnóstico exitoso en el campo se realiza adecuadamente con la visualización del parásito y la detección de anticuerpos. Es importante que los pacientes sean atendidos con premura, antes que el parásito invada órganos vitales y la progresión de la enfermedad a estadios severos. Porque tanto la enfermedad de Chagas, como la del sueño requieren tratamiento con fármacos de reconocida toxicidad <sup>20</sup>.

### **Detección de parásitos**

## **Métodos de concentración (Strout) o microhematocrito**

Es una técnica diseñada por Devignat & Resse (1955), esta prueba es considerada el estándar de oro para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas aguda y congénita. Es una técnica fácil y económica para visualizar parásitos vivos en sangre, tiene valor debido a la mayor sensibilidad, que muestra, frente a otras técnicas como el examen microscópico de sangre fresca, frotis o gota gruesa <sup>20</sup>. Se realiza en microtubos que contienen anticoagulante que se llenan hasta tres cuartos (aproximadamente 50  $\mu$ L) con sangre capilar. El extremo seco se sella. Los tripomastigotes se concentran en la capa de los glóbulos blancos, entre el plasma y los eritrocitos, mediante centrifugación a alta velocidad (12 000 g durante 5 min) en microcentrífuga <sup>21</sup>.

Los tubos capilares se colocan entre porta y cubreobjetos, el espacio vacío entre las superficies de vidrio se llena con agua para reducir la difracción. Los tubos capilares se examinan con un aumento de 40x en busca de parásitos móviles en la unión de la capa de blancos y la capa de plasma. Se estima que el límite de detección de centrifugación de tubo capilar es de aproximadamente 500 tripomastigotes/ml de sangre. Para aumentar su sensibilidad se recomienda procesar cuatro tubos capilares por persona. La sensibilidad es de aproximadamente el 56% (39-80%) <sup>21</sup>.

## **Epidemiología**

En Latinoamérica, unos 6 millones de individuos permanecen infectados por *T. cruzi*, y una proporción desconocida de ellos son portadores de *T. cruzi*. Los principales bichos vectores bien adaptados a vivir con los humanos son *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* y *Triatoma dimidiata* del núcleo familiar Reduviidae subfamilia Triatominae, debido a las migraciones, las personas infectadas por *T. cruzi* se han extendido por todo el planeta <sup>22</sup>.

## **Ciclo de vida**

*T. cruzi* es un parásito zoonótico, que se transmite de modo natural entre: animales domésticos, salvajes y los seres humanos mediante triatomíneos conocidos como chinche. *T. cruzi* requiere 2 huéspedes, el insecto reduvidio y cualquier vertebrado y 3 etapas de desarrollo morfológico y funcional distintas: epimastigotes, tripomastigotes y amastigotes.

La forma epimastigotes se replica en el intestino medio de los reduvidos y se convierte en tripomastigotes metacíclicos no replicativos en el recto. *T. cruzi* se transmite a los humanos cuando la herida de la picadura de un reduvido o un área de la mucosa, como la conjuntiva, se contamina con los parásitos presentes en las excretas de los triatomínicos<sup>23</sup>.

Después de la transmisión, la forma de tripomastigote de *T. cruzi* en el torrente sanguíneo es capaz de entrar en una variedad de células del huésped, donde se diferencia en la forma amastigotes replicativa y se multiplica en el citoplasma. Finalmente, las células parasitadas se rompen, liberando tripomastigotes, que pueden infectar las células adyacentes, diseminarse por la sangre e infectar células en otros sitios corporales, o ser absorbidos por otro insecto a lo largo de una subsiguiente ingesta de sangre<sup>23</sup>.

### **El parásito**

*T. cruzi* es un protozoo de la familia Trypanosomatidae, orden Kinetoplastida y género *Trypanosoma*. Está constituido por cerca de 20 especies de las que dos son patógenas para el hombre, el *T. cruzi* agente etiológico de la patología de Chagas.

El parásito tiene 4 estadios de desarrollo:

1. Amastigotes: tiene forma esférica de 2 a 3 micras de diámetro. Tiene un núcleo y un kinetoplasto del cual se forma el flagelo, que está secuestrado en una bolsa.
2. Promastigote: tienen forma alargada de 18 micras de longitud con un núcleo central y en el extremo anterior, un kinetoplasto que permite la formación de flagelo incompleto o corto.
3. Epimastigote: mide entre 20 a 25 micras de longitud, es fusiforme, el núcleo está en el centro, pero el kinetoplasto del extremo anterior se ha desplazado al centro, quedando básicamente contiguo y previo al núcleo. De ahí se forma el flagelo y queda una parte en la porción anterior, comenzando a mostrarse otra estructura pequeña llamada membrana ondulante.
4. Tripomastigote: posee una forma más alargada, con el extremo anterior adelgazado y extremo posterior engrosado. Tiene su núcleo en el mismo sitio, pero el kinetoplasto se ha desplazado al lado opuesto. Aquí nace el flagelo, que queda libre en la parte anterior y una membrana ondulante, que recorre toda la longitud del parásito. Mide cerca de 25 a 27 micras, tanto la membrana ondulante como el flagelo le confieren enorme movilidad.

Hay dos tripomastigotes

5. Tripomastigote metacíclico: es una manera no replicativa, infectante para los mamíferos, de manera alargada que mide de 20 a 25 micras, con un núcleo vesiculoso, tiene kinetoplasto en la parte de atrás y el flagelo en todo el cuerpo.

6. Tripomastigote sanguíneo: está en la sangre y no posee la capacidad para dividirse, pero si la tiene la capacidad para invadir otras células <sup>24</sup>.

### **Etapas de la Enfermedad de Chagas**

La patología se destaca por tres fases: aguda, indeterminada o latente y crónica. La fase aguda comienza después de un período de incubación de 1 a 2 semanas después de la inoculación. El nivel de parasitemia es muy alto durante esta fase, los tripomastigotes son detectables en la microscopia de sangre. La reacción en cadena de polimerasa se puede usar para tejidos durante la etapa aguda, debido a que otorga una evaluación cualitativa y cuantitativa de la presencia de *T. cruzi* <sup>25</sup>.

En la etapa aguda probablemente haya una reacción local en el sitio de entrada del parásito (chagoma de inoculación) y puede aparecer el signo de Romana, lo anterior se acompaña de fiebre, adenopatías, hepatoesplenomegalia, exantema, anemia, dolor óseo y muscular y a veces, meningoencefalitis y miocarditis (con insuficiencia cardiaca). Esta etapa puede durar de seis a ocho semanas. La etapa indeterminada, inicia de 8 a 10 semanas luego de la infección y puede cursar a lo largo de 10 a 50 años, 60 a 70% de los pacientes tienen la posibilidad de permanecer en esta etapa <sup>26</sup>.

En la fase crónica puede ocurrir la afección de nervios craneales y periféricos, con devastación de las células nerviosas ganglionares y otras anomalías: del corazón, esófago y del colon, que dan lugar a megaesófago, megacolon y otras alteraciones digestivas, dilatación de uréter, vejiga y vesícula. Los parásitos tienen la posibilidad de invadir el hígado y la médula ósea, entre las manifestaciones neurológicas probablemente haya cambios cognitivos, convulsiones, hemiparesia y afasia <sup>26</sup>.

### **Evaluación**

El diagnóstico de la patología activa se apoya en la historia clínica, la exposición a superficies endémicas, la visualización directa de organismos y las pruebas serológicas

complementarias. En el examen microscópico de sangre, aspirado de ganglios linfáticos o líquido cefalorraquídeo (LCR) se puede detectar parásitos. Los frotis de sangre delgados y gruesos tienen baja sensibilidad y hay que usar una técnica de centrifugación en tubo o centrifugación con tubo capilar para concentrar los tripomastigotes sanguíneos e incrementar la posibilidad de hallazgo <sup>27</sup>.

El número de parásitos puede ser bajo independientemente de la etapa en que se encuentre el paciente, los criterios de la OMS aceptan un recuento de glóbulos blancos de más de 5 células por microlitro o la existencia de *Trypanosoma* para asegurar la infección. El diagnóstico de *T. cruzi* se establece por medio del diagnóstico epidemiológico, donde es importante tomar en cuenta la procedencia del paciente de un área endémica, así como el diagnóstico definitivo del Laboratorio donde se evidencia la infección a través de la observación directa de tripomastigotes en muestras de sangre o LCR teñidas con Giemsa. Se tienen la posibilidad de ver organismo en líquido pericárdico, la médula ósea, el cerebro, la piel u otros tejidos infectados <sup>27</sup>.

## **Situaciones especiales**

### **Enfermedad de Chagas y embarazo**

La mayoría de las embarazadas con patología de Chagas están en etapa crónica de la enfermedad y generalmente no presentan cuadro clínico, pero tienen la posibilidad de presentar mayor riesgo de parto pretérmino, bajo peso al nacer o muerte fetal. Ya que el embarazo es una contraindicación para el régimen de tratamiento antiparasitario con fármacos (benznidazol o nifurtimox) debido al posible efecto teratogénico, el cribado en los recién nacidos de madres con esta patología y el tratamiento oportuno tanto de la madre como del bebé es la mejor estrategia para la prevención de daños posteriores derivados de la patología parasitaria <sup>28</sup>.

### **Diagnóstico en los primeros 6-9 meses de vida**

Los procedimientos parasitológicos directos basados en la monitorización microscópica de tripomastigotes sanguíneos, tienen la virtud de una gran especificidad cuando se realizan en

laboratorios experimentados. Los procedimientos de concentración tienen aún mayor sensibilidad que el examen directo de la sangre fresca. El procedimiento del microhematocrito es la técnica más usada en Latinoamérica y se basa en la centrifugación de la sangre fresca del cordón umbilical o neonatal en 4 o seis microcapilares heparinizados para el examen microscópico de la capa leucocitaria <sup>29</sup>.

Este micrométodo tiene una sensibilidad analítica limitada (40-50 parásitos/mL) y es dependiente de la capacidad y experiencia de los analistas, debido al hecho de que este procedimiento requiere un mínimo de 30 min de observación microscópica por muestra, porque el micro procedimiento solo detecta 40-60% de los recién nacidos con infección congénita <sup>30</sup>.

### **Enfermedad de Chagas congénita**

La mayor parte de las mujeres en edad gestacional padecen una infección crónica, habiendo adquirido la infección en su niñez. Cerca del 5% de ellas transmiten el parásito al feto, por lo cual cada año nacen, aproximadamente, 9 000 bebés infectados con *T. cruzi* en Latinoamérica. Además, se han notificado casos de enfermedad de Chagas congénita fuera del sector naturalmente endémico <sup>31</sup>. La infección congénita está ganando importancia como vía de transmisión de *T. cruzi* en países endémicos gracias a los programas de control de las fuentes de transmisión vectorial y transfusional, y en este momento se cree que se representa el 22% de casos nuevos <sup>32</sup>.

En países no endémicos, la mayor parte de nuevos casos ocurre por transmisión congénita <sup>33</sup>. Es necesario enfatizar que la transmisión materno-fetal de *T. cruzi* puede repetirse en cada embarazo y observarse de una generación a otra, esta forma de transmisión puede extenderse de forma sencilla en el tiempo <sup>34</sup>.

La enfermedad de Chagas congénita es característicamente una infección parasitaria aguda. Aunque la mayor parte (alrededor del 60%) de los bebés infectados congénitamente son asintomáticos al nacer, muestran frecuencias más altas de bajo peso al nacer, prematuridad y puntajes de Apgar más bajos frente a los bebés no infectados, en tanto que algunos bebés infectados sufren síntomas graves que tienen la posibilidad de conducirlos a la muerte <sup>35</sup>.

Además, los niños recién nacidos con infección congénita corren el peligro de sufrir enfermedades crónicas discapacitantes y probablemente fatales más adelante <sup>36</sup>. Es importante aclarar que la aparición de la transmisión congénita es dependiente de las relaciones entre *T. cruzi*, la placenta, el sistema inmunológico materno y la respuesta inmune fetal/neonatal en desarrollo <sup>37</sup>.

### **Cardiopatía Chagásica**

La miocardiopatía chagásica se destaca por una miocarditis crónica que perjudica a todas las cámaras cardíacas y daños en el sistema de conducción. La patogénesis supone la persistencia del parásito en el tejido cardíaco, una parasitemia continua de bajo nivel y una lesión inmune, con la contribución de daños autonómicos y alteraciones microvasculares. Sin importar tener una presentación clínica semejante, la miocardiopatía del Chagas tiene algunas propiedades peculiares frente a la miocardiopatía dilatada idiopática. Las investigaciones previas demostraron que, los pacientes con miocardiopatía de Chagas tienen peores resultados a la larga que los pacientes con miocardiopatía no chagásica <sup>38</sup>.

### **Transmisión accidental**

La mayor parte de los accidentes de laboratorio suceden debido a la falta de personal preparado en el manejo de muestras infecciosas, a la carencia de protección y bioseguridad o al manejo incorrecto de equipos e instalaciones. Se han informado algunos accidentes en laboratorios clínicos durante la manipulación de la sangre infectada de pacientes chagásicos, en tanto que otros accidentes han ocurrido en laboratorios de investigación experimental <sup>39</sup>.

### **Etiología**

La enfermedad de Chagas es la enfermedad más frecuente de las enfermedades tropicales transmisibles en Latino América. Los vectores más importantes son: *Triatoma infestans* en Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay Uruguay y Perú; *Rhodnius prolixus* en Colombia, Venezuela y Centroamérica, *Tritoma dimidiata* en Ecuador y América Central; y el *Rhodnius pallescens* en Panamá <sup>40</sup>.

## **Prevención**

Las personas deben evitar habitar en casas de barro infestadas de triatominos, usar repelente de insectos y evadir el consumo de jugos de fruta o zumos de caña de los vendedores ambulantes. En el laboratorio el personal debe usar equipo de protección correcto para los organismos del grupo de peligro. No se dispone de vacuna para impedir la transmisión de *T. cruzi*, pero para evadir las graves secuelas de la infección crónica, el diagnóstico precoz es fundamental tanto en zonas endémicas como en las no endémicas <sup>41</sup>.

## **Tratamiento**

Para el tratamiento de esta patología se usan dos medicamentos, el nifurtimox y benznidazol, descubiertos en 1965 y 1971 respectivamente. Los dos son compuestos heterocíclicos nitrogenados con un grupo nitro unido a un furano (nitro-furanos) en el caso de nifurtimox, o a un anillo imidazol (nitroimidazoles) en la situación del benznidazol. Estos agentes trabajan como profármacos y activan enzimas conocidas como nitroreductasas, las cuales desarrollan efectos citotóxicos que llevan a la desaparición del parásito <sup>42</sup>.

## **Distribución de triatominos en el Ecuador**

En Ecuador se registra la presencia del vector de la patología de Chagas en 18 de las 24 provincias del territorio nacional, siendo Manabí y Loja las provincias con mayor infestación. Ecuador reporta 17 especies de triatominos, de las cuales 13 especies están íntimamente relacionadas con la transmisión de *T. cruzi*, muchas de ellas tienen una distribución endémica como *Panstrongylus howardi* informado solamente en la provincia de Manabí se lo puede hallar en el peridomicilio asociado a nidos de ratas o acumulaciones de madera.

*Triatoma dimidiata* y *Rhodnius ecuadoriensis* son las principales especies en transmitir el parásito responsable de la patología de Chagas, esto se debe a su alta capacidad de adaptación al domicilio humano y la invasión del peridomicilio donde pueden multiplicarse. En particular a *R. ecuadoriensis* se ha hallado en los tres tipos de lugares (domicilio, peridomicilio y medio silvestre) siendo el vector epidemiológicamente más importante y al que se le debe prestar mayor atención en los programas de control <sup>43</sup>.



## **Importancia en la salud pública**

Entre 165 000 y 170 000 personas son seropositivas en Ecuador, un porcentaje de 80 a 90% de los nuevos casos de infección humana por *Trypanosoma cruzi* se debe a la transmisión vectorial. Varios factores son responsables de la prevalencia de la Enfermedad de Chagas. La densidad de triatomos infectados en las viviendas es alta en varias áreas de América del Sur. La Enfermedad de Chagas en caninos y en hospedadores salvajes es muy importante en la Salud Pública por la severidad y la dificultad de tratar la enfermedad en las personas. Los canes que habitan en predios con personas en áreas endémicas sirven como reservorios para especies de insectos que se consideran vectores zoonóticos <sup>44</sup>.

## **Métodos de Diagnóstico para la detección de *Trypanosoma***

### **Diagnóstico Parasitológico**

#### **Técnicas de Diagnóstico Parasitológico**

La aplicación de procedimientos parasitológicos directos permite hacer el diagnóstico basándose en la observación e identificación morfológica de las formas de tripomastigotes presentes en sangre. Durante la fase aguda de la enfermedad hay mayor cantidad de tripomastigotes en sangre periférica y es posible detectarlos mediante pruebas parasitológicas directas <sup>47</sup>.

#### **Examen en fresco**

La observación por medio de la microscopia directa de sangre periférica, dispe, facilita distinguir de forma sencilla la presencia del parásito gracias a sus veloces movimientos entre las células sanguíneas <sup>45</sup>. Otras opciones para el diagnóstico directo son el frotis o la gota gruesa a partir de sangre sin anticoagulantes y una fijación con metanol, tinción con Giemsa y observación al microscopio a 400 o 1000 aumentos (Figura 1, 2 y 3).

La forma de tripomastigote adopta formas de C o S dependiendo de la especie. En el caso de *T. cruzi* se pliega en forma de C, posee un kinetoplasto grande y terminal, que pareciera que ultrapasa la membrana citoplasmática y se caracteriza por el aspecto poco replegado de

la membrana ondulante que finaliza en un flagelo libre (Figura 1). Estas formas no tienen que ser confundidas con las del resto de las especies, como por ejemplo *T. rangeli* (Figura 3), que también se encuentra en sangre de pacientes de área endémicas. Sus formas tripomastigotes se distinguen de *T. cruzi* por ser más grandes, con kinetoplasto puntiforme, subterminal y membrana ondulante visible <sup>47</sup>.

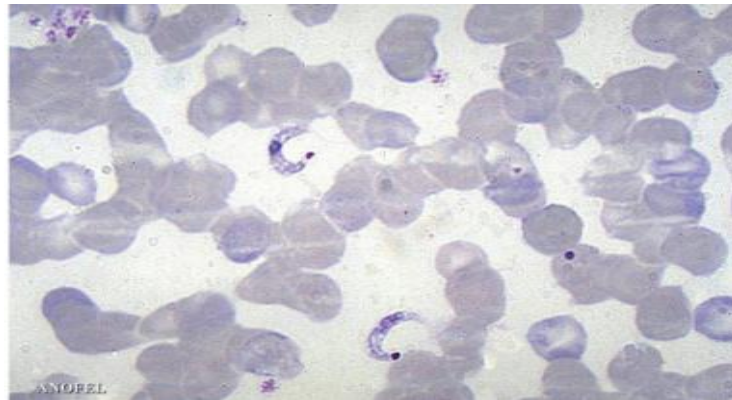


Figura 1. Formas tripomastigotes sanguícolas de *T. cruzi* en forma de C teñido con Giemsa (1000 aumentos).

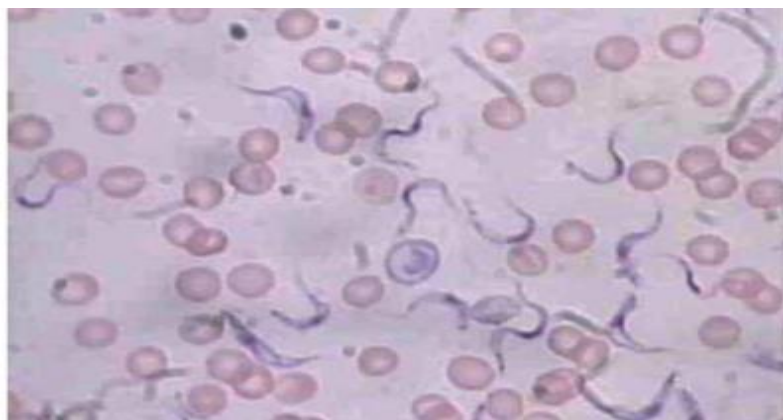


Figura 2. Formas tripomastigotes de *T. gambiense* en forma de S teñido con Giemsa (1000 aumentos).

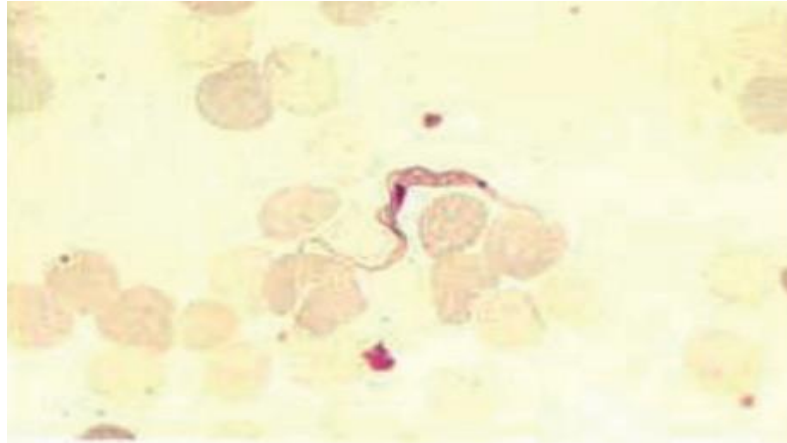


Figura 3. Forma tripomastigote sanguícola de *T. rangeli* teñido con Giemsa (1000 aumentos).

### **Técnicas directas de concentración**

La visualización microscópica de tubos de microhematocrito se ha puesto como estándar de oro para el diagnóstico de la patología de Chagas aguda y congénita <sup>46</sup>.

### **Microhematocrito**

Cuando se tiene escasa cantidad de sangre, se recoge cerca de 50  $\mu$ L, en tubos capilares heparinizados (4 a 6 capilares). Se centrifuga y se visualiza al microscopio y en la interfase entre los hematíes y el plasma se encuentra la capa leucocitaria donde se ven los parásitos en movimiento a 400 aumentos <sup>47</sup>.

### **Strout**

Se basa en concentrar los parásitos desde 3 mL de sangre obtenida sin anticoagulante y dejando el tubo a 37°C durante 2 h para que se retraiga el coágulo. Si hay parásitos migran hacia fuera del coágulo. Se transfiere el suero a otro tubo y tras distintos ciclos de centrifugación se observa el sedimento en fresco o bien después de teñirlo con Giemsa <sup>47</sup>.

### **Técnicas directas tardías**

Permiten sospechar la presencia del parásito que ha infectado al organismo, por medio del estudio de la respuesta inmune del hospedero. Entre ellos está el xenodiagnóstico y

hemocultivo, que son procedimientos de laboratorios donde el parásito se replica y facilitando su detección, con la ventaja de que en el xenodiagnóstico se evita la contaminación con otros microorganismos lo que beneficia la multiplicación de los epimastigotes.

### **Hemocultivo**

Se emplean medios líquidos, así como LIT (triptosa de infusión de hígado) o BHI (infusión cerebro-corazón). La sensibilidad que muestra es similar a la del xenodiagnóstico, el tiempo en que el hemocultivo se positiviza es de 30 a 60 días, con el riesgo del crecimiento bacteriano o micótico que inhibe la replicación del parásito <sup>48</sup>.

### **Xenodiagnóstico directo**

En este procedimiento, se colocan 10 o 12 ninfas de triatomíneos, criados en el Laboratorio, libres de la infección, en la piel de los pacientes, hasta que succione sangre que permita la infección del insecto, la implementación de esta técnica aplicada solamente en Laboratorios de investigación que posean insectarios donde se puedan mantener a los triatomíneos, y el personal sanitario debe ser cuidadoso por el elevado riesgo de infección <sup>48</sup>.

Los métodos de diagnóstico parasitológico directo tardío como el hemocultivo y xenodiagnóstico dependen de la presencia de al menos una forma intacta de tripomastigote para su crecimiento y multiplicación. El hemocultivo, es una técnica directa tardía, pero en la que se espera menos tiempo para la detección del parásito que en el xenodiagnóstico. Los cultivos son muy delicados, para garantizar la multiplicación de los epimastigotes, se requiere suplementar con nutrientes y antibióticos que inhiban el crecimiento bacteriano para evitar la contaminación <sup>51</sup>.

Los resultados de los xenodiagnóstico pueden tardar hasta 120 días y seguir siendo dudosos. Los resultados negativos del hemocultivo y/o del xenodiagnóstico pueden deberse a la baja parasitemia observada en la fase crónica de la enfermedad de Chagas y no descartan la posibilidad de infección. Por otro lado, una prueba positiva tiene un valor diagnóstico absoluto. En individuos con serología no concluyente, el hemocultivo es una herramienta importante

para identificar *T. cruzi*, y cuando es positiva es posible el aislamiento del parásito para estudios biológicos, bioquímicos y moleculares <sup>52</sup>.

## **DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO**

El diagnóstico inmunológico indirecto que permite cuantificar la concentración de inmunoglobulinas específicas contra antígenos de *T. cruzi*. Entre estas técnicas se tiene la Aglutinación indirecta que se basa en la reacción de glóbulos rojos sensibilizados con *T. cruzi* que entran en contacto con anticuerpos específicos del parásito produciéndose aglutinación (reacción positiva).

### **Técnicas de Diagnóstico Inmunológico**

#### **Inmunofluorescencia indirecta (IFI)**

Esta técnica inmunológica se fundamenta en la reacción antígeno-anticuerpo. Utiliza antígenos particulados, es decir el parásito completo es fijado con formaldehído o glutaraldehído. La característica de esta técnica es que se utiliza un segundo anticuerpo (anti-anticuerpo humano) con una sustancia fluorescente, frecuentemente isotiocianato de fluoresceína. La lectura de los resultados se realiza en un microscopio equipado con luz ultravioleta <sup>49</sup>.

La IFI permite determinar la presencia de anticuerpos anti *T. cruzi* en diferentes muestras biológicas. Para estos efectos, se preparan placas de vidrio con pocillos a las que se le adhieren epimastigotes de *T. cruzi* (parásito completo) obtenidas de cultivo. Si el suero del paciente tiene anticuerpos, se produce una reacción antígeno-anticuerpo, la que se detecta con la adición de un segundo anticuerpo marcado con sustancias fluorescentes. Esta reacción se observa posteriormente en un microscopio de fluorescencia <sup>46</sup>.

#### **Hemaglutinación indirecta (HAI)**

En esta técnica se sensibilizan glóbulos rojos con antígeno del parásito. Se fundamenta en la propiedad que tienen las proteínas de absorberse sobre el área de los glóbulos rojos de carnero o de ave modificados químicamente. Si en el suero del paciente hay anticuerpos

contra los antígenos del parásito los glóbulos rojos se aglutinan, lo que permite observar los resultados a simple vista <sup>49</sup>.

### **Ensayo inmunoenzimático (ELISA)**

El objetivo de esta técnica es la detección cualitativa de anticuerpos IgG dirigidos contra *T. cruzi* en el suero o plasma de humanos. Se hace en placas cuyos pocillos se tapizan con antígenos de *T. cruzi*, incluyendo antígenos de membrana enormemente inmunogénicos. Después se lava para eliminar proteínas séricas no relacionadas en la unión antígeno-anticuerpo, se agrega un reactivo constituido por anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas marcadas con una enzima (usualmente peroxidasa o fosfatasa alcalina). Si las muestras analizadas tienen dentro anticuerpos particulares para *T. cruzi* estos formarán un complejo permanente con los antígenos que recubren los pocillos <sup>49</sup>.

Después de la incubación y los lavados, los anticuerpos anti-IgG humanas marcadas con peroxidasa se unirán al complejo conformado. En la etapa de incubación con el sustrato cromogénico, la peroxidasa unida al complejo va a producir una coloración que va a dejar detectar las muestras reactivas contra *T. cruzi*, para la medición de la intensidad de color se requiere un espectrofotómetro de lectura vertical. La lectura se detendrá al añadir ácido sulfhídrico. Esta técnica tiene una sensibilidad y especificidad del 95% al 100% respectivamente para el tamizaje de la infección <sup>49</sup>.

El ELISA las placas de poliestireno son sensibilizadas con antígeno soluble de *T. cruzi*, los que se unirán a anticuerpos específicos contra el parásito si están presentes en la muestra. Se agrega conjugado formado por un anti-anticuerpo humano unido a una enzima y se podrá evidenciar una reacción positiva si al adicionar sustrato específico se desarrolla una reacción de color, que indicaría la presencia de anticuerpos en la muestra del paciente <sup>46</sup>.

### **Estado actual del diagnóstico de la enfermedad de Chagas**

La OMS indica que, para el diagnóstico de la tripanosomiasis americana, deben realizarse simultáneamente tres pruebas y reconocer la positividad del paciente cuando al menos dos de ellas resulten positivas. Las técnicas que se realizan de rutina son: ELISA donde los antígenos de *T. cruzi* se adhieren a una placa de plástico con varios pocillos que se incuban

con la sangre de los pacientes y la coloración de positivos se da por medio de una reacción enzimática. La lectura de los resultados se recibe por medio de un equipo especializado que mide la densidad óptica. En el procedimiento IFI, basado en la reacción antígeno-anticuerpo, la coloración se da por medio de una sustancia fluorescente y para la lectura de los resultados es preciso contar con un microscopio de luz ultravioleta. En el HAI se sensibilizan glóbulos rojos con antígeno del parásito y si las muestras de los pacientes son positivas, dichos globos rojos se aglutinan, por lo cual los resultados tienen la posibilidad de mirar a simple vista <sup>50</sup>.

Por lo mencionado anteriormente, este trabajo aporta con información clave para el diagnóstico de *Trypanosoma* por medio del análisis parasitológico e inmunológico y con ellos se planteó el siguiente problema de investigación: ¿La falta de investigación científica no permite obtener información actual sobre la Caracterización de *Trypanosoma* mediante técnicas parasitológicas e inmunológicas de artículos seleccionados de los últimos 10 años?

## **OBJETIVOS**

### **General:**

Recopilar información de técnicas microscópicas e inmunológicas utilizadas en el diagnóstico de *Trypanosoma*, mediante la búsqueda y revisión de literatura de fuentes primarias y secundarias que sirva para actualizar el diagnóstico del parásito.

### **Específicos:**

- Evaluar los métodos parasitológicos e inmunológicos, mediante el análisis de información seleccionada, que sirva para el diagnóstico de *Trypanosoma*.
- Especificar las distintas especies y subespecies de *Trypanosoma* según los estudios publicados, para su caracterización clínica.
- Deducir las principales técnicas parasitológicas e inmunológicas existentes en base a la información recolectada, para el diagnóstico de *Trypanosoma* en el laboratorio clínico.



## CAPÍTULO II

### METODOLOGÍA

#### Tipo de investigación

**De nivel Descriptivo:** Debido a que describe la situación con información de interés, la misma que se recolectó de la literatura de carácter científico, explorando los criterios actuales sobre el tema de investigación realizados por expertos y profesionales.

**De diseño Documental:** Debido a que la investigación se realiza a través de la consulta de documentos bibliográficos.

**Cohorte transversal:** El presente proyecto se desarrolló en un período determinado y un solo bloque de resultados que corresponde a artículos publicados en el año 2011 al 2021

**Retrospectivo:** Debido a que el presente trabajo contiene información publicada en diversas fuentes bibliográficas o archivos existentes de años previos, que sirvieron para recabar información.

#### Población

Para la población objeto de estudio son fuentes secundarias, que traten sobre técnicas microscópicas e inmunológicas de diagnóstico de *Trypanosoma* en el contexto mundial, publicadas en 63 artículos de revistas registradas en bases de datos: 38 en Pubmed, 11 en Google Académico, 7 en Scielo, 5 en Elsevier, 2 en BVS.

#### Muestra

Para la selección de la muestra se escogieron 42 publicaciones, registradas en las siguientes bases de datos: Pubmed 27, Scielo 5, Elsevier 3, Bvs 2, Google Académico 5: donde se incluyen páginas webs (de OPS, MSP, Rev Biomédica, Tesis, toda esta selección fue realizada tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

#### Criterios de inclusión

- Información de estudios con fecha de publicación desde el año 2011 al 2021
- Información de libros con fecha de publicación desde el año 2021
- Artículos científicos que incluyen la caracterización microscópica del *Trypanosoma*
- Artículos científicos que incluyen la caracterización inmunológica del *Trypanosoma*

### **Criterios de exclusión**

- Artículos con información de estudios con más de diez años de publicación
- Artículos duplicados, no completados o mal documentados
- Artículos sin autoría
- Artículos con datos que no contienen información referente al tema de estudio

### **Técnicas y procedimientos**

Se inicio la búsqueda de información científica sobre información general de investigaciones realizadas de *Trypanosoma* a nivel nacional e internacional, de artículos científicos, páginas web extraídos de buscadores confiables como Google Académico, Pubmed, Lilacs, Scielo, Elsevier, BVS, NCBI, INSPILIP.

Después se procedió a recolectar información científica de Técnicas parasitológicas e Inmunológicas de *Trypanosoma*. Aplicando diferentes criterios de inclusión como el año de publicación, la entidad o revista que publica el documento, entre otros.

De toda la información fueron seleccionados 42 publicaciones, de diferentes bases de datos. De cada una de ellas se realizaron lecturas profundas. Buscando información de las técnicas de detección de *Trypanosoma* a nivel nacional e internacional.

Se desarrollo una tabla que describe la frecuencia que se mencionan las técnicas y las diferentes especies de *Tripanosomas* encontrados. Con la finalidad de dar cumplimiento a los objetivos planteados.

### **Consideraciones éticas**

No será necesario permisos de un comité de bioética porque al tratarse de una investigación de revisión bibliográfica no se trabajará con muestras biológicas de humanos, plantas, ni animales.

### **Procesamiento estadístico**

En la presente investigación se recolectaron datos cualitativos publicados en artículos científicos relacionados con el tema y la cual permitió desarrollar la recopilación de técnicas parasitológicas e inmunológicas de especies *Trypanosoma*.

## Extracción de datos

La búsqueda de información se realizó a través de buscadores de revistas científicas las mismas que se encontraron en idiomas español e inglés, también se aplicó criterios de inclusión y exclusión, dentro de los criterios de inclusión se encuentra que los libros y artículos científicos deben cumplir una norma de vigencia de 10 años, artículos científicos que incluyen la caracterización microscópica del *Trypanosoma*, artículos científicos que incluyen la caracterización inmunológica de *Trypanosoma* y criterios de exclusión como: artículos con información de estudios con más de diez años de publicación, artículos sin autoría y artículos con datos que no contienen información referente al tema de estudio. Las palabras estratégicas de búsqueda fueron: “*Trypanosoma*”, “*Trypanosoma cruzi*”, “*Trypanosoma rangeli*”, “Diagnóstico de *Trypanosoma*”, “*T. brucei gambiense*”, “*T. brucei rhodesiense*”, “Enfermedad de Chagas”, “tripanosomiasis Americana”, “tripanosomiasis Africana”, “Enfermedad del Sueño”, “Diagnóstico microscópico de *T. cruzi*”, “Diagnóstico inmunológico de *T. cruzi*”, “tripanosomiasis Africana Humana”, “transmisión de *Trypanosoma*”, “Etapas de la enfermedad de Chagas”, “Epidemiología de la Enfermedad de Chagas”, “Tratamiento de la Enfermedad de Chagas”, “Prevención de la enfermedad de Chagas”, “Enfermedad de Chagas en Ecuador”. Los artículos encontrados fueron evaluados mediante los lineamientos emitidos por la carrera de manera que se obtuvieron datos de buscadores de revistas científicas PubMed 2020:4; 2019:5; 2018:2; 2017:3; 2015:2; 2012:1; 2013:2, Scielo 2020:1; 2019:1; 2018:2; 2017:1, Elsevier 2019:2, BMC 2020:2, INSPILIP 2020:1, Google Académico 2020:1; 2018:1 2017:2 2016:4; 2015:2; 2013:1 2011:3 cumpliendo los criterios de búsqueda, obteniendo múltiples artículos y estudios realizados sobre la temática de estudio. En el siguiente diagrama se detalla la búsqueda realizada para el presente trabajo.

## DIAGRAMA DE FLUJO PARA BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA

Caracterización del tripanosoma por técnicas

Búsqueda de fuentes de información

Bases de datos científicas:  
Google Académico,  
Pubmed, Lilacs, Scielo,  
Elsevier, BVS, NCBI,  
INSPILIP.

### Cumple con los criterios de inclusión:

Contiene información útil para el desarrollo del proyecto, entre 5-10 años de publicada, 5 años para artículos científicos (95%) y hasta 10 años libros (5%), deben ser de base de datos reconocida y que contengan resultados de pruebas de diagnóstico.

Pubmed 2020:4; 2019:4; 2018:2; 2017:3; 2015:2; 2012:1; 2013:2  
Scielo 2020:1; 2019:1; 2018:2; 2017:1  
Elsevier 2019:2  
BMC 2020:2  
INSPILIP 2020:1  
Google Académico 2020:1; 2018:1  
2017:2 2016:4; 2015:2; 2013:1 2011:3  
Total, seleccionadas: 42

Análisis y parafraseo de la información y cita con normas Vancouver

Recopilar información de técnicas microscópicas e inmunológicas utilizadas en el diagnóstico de *Trypanosoma*, mediante la búsqueda y revisión de literatura de fuentes primarias y secundarias que sirva para actualizar el diagnóstico del parásito.

Palabras clave: "*Trypanosoma*", "*Trypanosoma cruzi*", "*Trypanosoma rangeli*", "Diagnóstico de *Trypanosoma*", "*Trypanosoma brucei gambiense*", "*Trypanosoma brucei rhodesiense*", "Enfermedad de Chagas", "tripanosomiasis americana",

Elección del idioma: español e inglés

REVISADAS: 116

PubMed: 50 artículos  
Scielo: 20 artículos  
Elsevier: 20 artículos  
Google Académico: 15 artículos  
Bvs: 10 artículos  
INSPILIP: 1 artículo

Aplicar criterios de inclusión y exclusión para la selección de artículos y libros

### No cumple con los criterios de inclusión:

No contiene información útil para el desarrollo del proyecto, más de 5 años los artículos científicos y más de 10 años los libros, no incluyen resultados de pruebas diagnósticas.

Artículos excluidos:  
30 por el año de publicación, 15 artículos que no contienen información referente al tema, 5 no incluían al autor, 8 presentaban estudios de otro tipo de parásitos.

Descartar artículos: 58

## CAPÍTULO III

### DESARROLLO

La tripanosomiasis representa un grave problema de salud a nivel mundial, con un alto índice de prevalencia en las diferentes zonas endémicas y no endémicas alrededor del mundo. La diversidad de especies, reservorios y vectores han sido los principales protagonistas del difícil control y eliminación, intervienen también factores como el desconocimiento por parte de la población al no conocer sobre la enfermedad y su diagnóstico temprano.

Las personas que viven en zonas endémicas generalmente son áreas empobrecidas son las más afectadas al tener un difícil acceso a la atención sanitaria y a la implementación de medidas de control. La infección congénita está ganando importancia como vía de transmisión de *T. cruzi* en países endémicos y se cree que se representa el 22% de casos nuevos: además de que la mayoría de las embarazadas con patología de Chagas están en etapa crónica y generalmente no presentan cuadro clínico, pero tienen la posibilidad de presentar mayor riesgo de muerte fetal. Debido a que el embarazo es una contraindicación para el tratamiento antiparasitario con fármacos (benznidazol o nifurtimox) debido al posible efecto teratogénico.

El diagnóstico de Laboratorio puede ser realizado por diferentes métodos: Inmunológico, Parasitológico y Biología Molecular en donde se aplican diferentes técnicas para identificar el agente específico que causa la tripanosomiasis. El diagnóstico de *Trypanosoma* se confirma por el diagnóstico clínico, epidemiológico y de Laboratorio. El médico basa el diagnóstico presuntivo en la clínica y la probabilidad de acuerdo con la procedencia de áreas endémicas, mientras que, el laboratorio lo comprueba con la visualización directa del parásito y las pruebas serológicas complementarias dando el diagnóstico definitivo.

Se evaluaron las diferentes bibliografías y se seleccionó 42 artículos que mencionan las Técnicas Parasitológicas e Inmunológicas esto representa un 72% y 16 artículos que no mencionan las Técnicas, pero si mencionan información útil para cumplir con los demás objetivos, sobre el tema esto representa un 28%. De los 42 artículos seleccionados como muestra para análisis, 12 en el contenido mencionan las Técnicas Parasitológicas e

Inmunológicas, 12 de ellos solo mencionan Técnicas Parasitológicas, 6 solo mencionan Técnicas Inmunológicas y 12 que en su contenido nombran las Técnicas Parasitológicas e Inmunológicas, pero no las detallan, pero sí mencionan información útil para cumplir con los demás objetivos.

En la Tabla 1, se presenta las Técnicas Parasitológicas e Inmunológicas para la detección de especies de *Trypanosoma*.

**Tabla 1:** Técnicas Parasitológicas e Inmunológicas para la detección de especies de *Trypanosoma*.

<b>Técnicas Parasitológicas e Inmunológicas para la detección de especies de <i>Trypanosoma</i>.</b>			
<b>Autor</b>	<b>Especies detectadas</b>	<b>Técnicas utilizadas</b>	<b>Observación</b>
Kivali et al. <sup>1</sup>	<i>T. b. rhodesiense</i> , <i>T. vivax</i>	Técnicas parasitológicas: frotis delgados y espesos.	La prevalencia estimada de especies de tripanosomas detectadas por microscopía fue del 4,17%
Maxfield et al. <sup>2</sup>	<i>T. b. gambiense</i> , <i>T. brucei rhodesiense</i>	Técnicas parasitológicas: examen en fresco, microhematocrito	
Palmezano et al. <sup>5</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: examen en fresco, frotis, microhematocrito, método strout, xenodiagnóstico y hemocultivo.	

		Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI, HAI.	
Maiguashca et al. <sup>6</sup>	<i>T. rangeli, T. cruzi</i>	Técnica molecular: PCR	Infección por <i>T. rangeli</i> (3%), 8 infecciones por <i>T. cruzi</i> (23,5%) y 25 coinfecciones por <i>T. cruzi</i> + <i>T. rangeli</i> (73,5%),
Godínez et al. <sup>8</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: frotis, hemocultivo, método strout. Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI, HAI.	
Zabala et al. <sup>9</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI.	La seroprevalencia de la infección por <i>T. cruzi</i> utilizando dos pruebas de diagnóstico serológico como lo recomienda la OMS, fue de 6,50 %.
Calvopiña et al. <sup>10</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: Frotis gruesos y delgados de sangre	Se le diagnosticó infección por <i>T. cruzi</i> mediante el examen microscópico de frotis gruesos y delgados de sangre periférica.

Cayla et al. <sup>12</sup>	<i>T. b. gambiense, T. b. rhodesiense, T. vivax, T. congolense</i>	No mencionan las técnicas	Revisión bibliográfica
Mehlitz et al. <sup>13</sup>	<i>T. brucei gambiense</i>	No mencionan las técnicas	Revisión bibliográfica
Naves et al. <sup>14</sup>	<i>T. rangeli, T. cruzi</i>	No mencionan las técnicas	Revisión bibliográfica
OMS et al. <sup>17</sup>	<i>T. b. gambiense</i>	No mencionan las técnicas	Revisión bibliográfica
Vera et al. <sup>20</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: microhematocrito	El método de rotación fue más fácil, más rápido y sensible que los otros con un 100% de especificidad.
Bonnet et al. <sup>21</sup>	<i>T. b. gambiense, T. b. rhodesiense</i>	Técnicas parasitológicas: microhematocrito	
Bonney et al. <sup>23</sup>	<i>T. cruzi</i>	No mencionan las técnicas	Revisión bibliográfica
Moreno et al. <sup>24</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI, HAI.	
Malik et al. <sup>25</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: examen en fresco	
Murillo et al. <sup>26</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: método Strout Técnicas Inmunológicas: ELISA, HAI.	



Maxfield et al. <sup>27</sup>	<i>T. b. gambiense, T. b. rhodesiense</i>	Técnicas parasitológicas: examen en fresco	
Molina et al. <sup>28</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: frotis, microhematocrito, método strout, xenodiagnóstico. Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI, HAI	
Bern et al. <sup>29</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: frotis, microhematocrito	
Bustos et al. <sup>30</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: frotis, microhematocrito	
Antinori et al. <sup>31</sup>	<i>T. cruzi</i>	No mencionan las técnicas	
Messenger et al. <sup>34</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: microhematocrito	Las muestras de neonatos de mujeres infectadas se analizaron mediante microscopía (micrométodo). Como resultados la sensibilidad fue deL 16,7% y la especificidad deL 100%.
Pereira et al. <sup>38</sup>	<i>T. cruzi</i>	No mencionan las técnicas	

Gómez et al. <sup>39</sup>	<i>T. cruzi</i>	No mencionan las técnicas	Revisión sistemática
OPS et al. <sup>40</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: frotis, microhematocrito, método strout, xenodiagnóstico. Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI, HAI	
Pérez et al. <sup>41</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: frotis, microhematocrito, método strout Técnicas Inmunológicas: ELISA	
Jaramillo et al. <sup>42</sup>	<i>T. cruzi</i>	No mencionan las técnicas	Revisión bibliográfica
Morales et al. <sup>43</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: examen directo Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI, HAI.	
Meymandi et al. <sup>44</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: examen directo Técnicas Inmunológicas: ELISA	
Murcia et al. <sup>45</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: frotis,	

		microhematocrito, método strout, xenodiagnóstico. Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI, HAI	
MSP et al. <sup>46</sup>	<i>T. cruzi</i>	No mencionan las técnicas	
Riera et al. <sup>47</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: frotis, examen en fresco microhematocrito, método strout, xenodiagnóstico	
Maldonado et al. <sup>48</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: frotis, microhematocrito, método strout, xenodiagnóstico. Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI, HAI	
Cañadas et al. <sup>49</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI, HAI	
Villasante et al. <sup>50</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: microhematocrito, método strout, examen en fresco. Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI, HAI	

Rocha et al. <sup>51</sup>	<i>T. cruzi</i>	No mencionan las técnicas	
Dávila et al. <sup>52</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: hemocultivo	
Malik et al. <sup>53</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas parasitológicas: frotis Técnicas Inmunológicas: ELISA, IFI, HAI	
Ferraresso et al. <sup>54</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas Inmunológicas: ELISA, HAI	
Echeverría et al. <sup>55</sup>	<i>T. cruzi</i>	No mencionan las técnicas	Revisión sistemática
Whitman et al. <sup>56</sup>	<i>T. cruzi</i>	Técnicas Inmunológicas: ELISA	

**Elaborado por:** Diana Pulloasi

De acuerdo con el curso de su desarrollo en el vector, los tripanosomas, en general, se han clasificado en dos grandes grupos: Stercoraria: *T. cruzi* y Salivaria: *T. brucei*, *T. rangeli*. En esta investigación se hizo énfasis en proporcionar información de las especies *T. cruzi*, *T. b. gambiense*, *T. b. rhodesiense*, y *T. rangeli*.

De los 42 artículos seleccionados para especificar las especies y subespecies de *Trypanosoma*, 33 artículos mencionan *T. cruzi*, 6 mencionan *T. b. gambiense*, *T. b. rhodesiense*, 2 mencionan *T. rangeli*, 1 mencionan *T. vivax*.

## Discusión

Antinori et al.,<sup>31</sup> se basa en datos recientes de la OMS, en el cual destaca que los países con mayor prevalencia de *T. cruzi* son Bolivia (6,1%), Argentina (3,6%) y Paraguay (2,1%). Además, en su estudio indica la detección de la parasitemia mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), describe que en el 44% de las embarazadas seropositivas para *T. cruzi*.

Los recién nacidos con infección congénita tienen altos niveles de parasitemia y se puede confirmar el diagnóstico de enfermedad de Chagas por la demostración microscópica de tripomastigotes móviles de *T. cruzi* en el cordón o sangre periférica después de una concentración con el procedimiento de microhematocrito. En la investigación que se presentó anteriormente en la Tabla 1, se concluyó que se puede confirmar el diagnóstico de enfermedad de Chagas por visualización directa de los tripomastigotes de *T. cruzi* lo cual concuerda con el estudio realizado por Calvopiña et al.,<sup>10</sup>

Así mismo, Calvopiña et al.,<sup>10</sup> en la presentación de un caso clínico da valor a la prueba de ELISA. El paciente tenía un historial de 22 días de fiebre alta, escalofríos y malestar. Se le diagnosticó infección por *T. cruzi* mediante el examen microscópico de frotis gruesos y delgados de sangre periférica donde se confirmó la presencia de *T. cruzi*. Las pruebas serológicas de IgG e IgM anti- *T. cruzi* (Chagatest ELISA recombinante, Versión 3.0. Wiener-Argentina) fueron negativas, el paciente se encontraba en fase aguda, por la duración de los síntomas y la ausencia de anticuerpos IgM e IgG anti- *T. cruzi*.

La ausencia de anticuerpos se explicaría porque, para desarrollar anticuerpos detectables, generalmente se necesitan al menos de 3 a 4 semanas. Otra explicación podría deberse a los diferentes antígenos utilizados en las técnicas de ELISA realizadas de forma interna, con el antígeno deslipidado específico utilizando epimastigotes de *T. cruzi*, con los que detectaría anticuerpos rápidos en lugar de utilizar el método ELISA comercial Chagatest ELISA recombinante, Versión 3.0. Wiener-Rosario, Argentina, basado en seis proteínas recombinantes.

Zabala et al.,<sup>9</sup> realizó un estudio en mujeres puérperas y sus neonatos, para determinar la prevalencia de la infección de *T. cruzi* mediante pruebas de ELISA e IFI. Los resultados que se obtuvieron para determinar la seroprevalencia de la infección por *T. cruzi* en las mujeres puérperas, se tuvieron en cuenta los 74 sueros positivos por ELISA y cuatro sueros que resultaron positivos por ELISA e IFI. Por lo tanto, la seroprevalencia de la infección por *T. cruzi* en las mujeres evaluadas utilizando dos pruebas de diagnóstico serológico como lo recomienda la OMS, fue de 6,50 %.

Así mismo, Kivalli, et al.,<sup>1</sup> en su estudio realizado, da valor al diagnóstico microscópico en frotis de sangre gruesos y delgados para determinar la presencia de *Trypanosoma*. Además, se realizó una prueba de PCR convencional para especies específicas en el ADN extraído para la detección de *T. b. brucei*, *T. congolense*, *T. vivax*. El análisis microscópico de tripanosomas es una técnica de bajo costo, sencilla y se emplea fácilmente en el campo. Se ha demostrado que tiene baja sensibilidad. Sin embargo, en este estudio, la microscopía proporcionó un importante paso previo a la selección y permitió una evaluación comparativa de los resultados obtenidos.

Estudios anteriores han demostrado que la PCR tiene una alta especificidad y sensibilidad al diagnosticar infecciones por *Trypanosoma*. El uso de la PCR aumentó el número total de casos positivos identificados de 22 a 37, y el diagnóstico de los casos de *T. brucei* mejoró. La prevalencia estimada fue del 4,17% por PCR en comparación con el 2,48% por microscopía.

Vera-ku et al.,<sup>20</sup> en su estudio compara la idoneidad, la sensibilidad, la especificidad y el número óptimo de tubos utilizados para detectar y cuantificar los parásitos de *T. cruzi* en la sangre en tres metodologías diferentes de TCMH: (Método de rotación), (Método de inmersión en aceite), (Método de montaje húmedo). Como resultados el método de rotación fue más fácil, más rápido y sensible que los otros, con una especificidad del 100%. El autor comprueba y da valor al examen de (mHCT), que es un método relativamente sencillo, fácil y barato para detectar parásitos vivos en sangre, es muy importante por su mayor sensibilidad que otros métodos como el examen microscópico de muestras de sangre fresca, frotis de sangre fija o frotis grueso.

Messenger et al.,<sup>34</sup> en la investigación la infección por *T. cruzi* se confirmó en 476 (25,7%) de 1851 mujeres examinadas; 465 mujeres infectadas tuvieron hijos únicos y 11 tuvieron gemelos, lo que dio lugar a 487 bebés en riesgo de infección. Las muestras de bebés de mujeres infectadas se analizaron mediante microscopía (micrométodo). Como resultados en sangre de cordón, las sensibilidades / especificidades de 16,7% / 100%, respectivamente. Una ventaja de la utilidad del micrométodo es que los lactantes con signos clínicos tenían una mayor carga de parásitos y tenían una probabilidad significativamente mayor de ser detectados por micrométodo.

Los ensayos serológicos de IgG Hemagen, Ortho y Wiener y una prueba rápida InBios, han sido de utilidad para el diagnóstico de *T. cruzi* en fase crónica. Ninguna prueba tuvo características de rendimiento óptimas, a pesar de las altas cifras de sensibilidad y especificidad informadas en sus solicitudes de aprobación. Whitman et al.,<sup>56</sup> en su estudio utilizando el ELISA de Wiener que se basan en proteínas recombinantes, utiliza antígenos de fase aguda eliminados por tripomastigotes (SAPA) y antígenos de epimastigotes recombinantes 1, 2, 13, 30 y 36 reportan una sensibilidad alta de 94% a 97,1% pero una especificidad baja de 96,7% a 99,3%.

Los estudios obtenidos por Whitman et al.,<sup>56</sup> y Lozano et al.,<sup>57</sup> en la prueba de InBios, destacan la confiabilidad de estas pruebas, debido a que ambos presentan altos porcentajes de sensibilidad y especificidad en la detección de *T. cruzi*.

Por otra parte, Lozano et al.,<sup>57</sup> en los resultados obtenidos en su investigación apoyan el uso combinado de PDR con las de ELISA, de acuerdo con la recomendación actual, para entregar un diagnóstico inmediato de la enfermedad de Chagas en la región, Sin embargo, esto debe ser reconsiderado, aunque las casas comerciales informen de alta sensibilidad y especificidad en sus kits, los analistas deben ser cuidadosos y no confiar en esta información sin probarla, porque ponen en riesgo la vida del paciente.

En el estudio realizado por Egüez et al.,<sup>58</sup> se hace una comparación con la PDR, fáciles de usar para su implementación en áreas remotas como una alternativa a las pruebas convencionales. No necesitan electricidad, ni cadena de frío, pueden devolver resultados en menos de una hora y

algunos incluso trabajan con sangre, sin necesidad de centrifugar. En las pruebas usando Chagas Stat-Pak (ChemBio Inc.) y Chagas Detect Plus (InBIOS Inc.) los fabricantes describen una sensibilidad de 100% y una especificidad del 99,3%, sin embargo deben hacerse estudios comparativos con técnicas de inmunodiagnóstico de ELISA e IFI, para tener resultados más certeros.

De la información que se obtuvo durante la investigación las principales técnicas encontradas tanto parasitológicas como inmunológicas son muy importantes para el diagnóstico de *Trypanosoma* y como la OMS indica que, para el diagnóstico de la tripanosomiasis americana, deben realizarse simultáneamente tres pruebas y reconocer la positividad del paciente cuando al menos dos de ellas resulten positivas. En la fase crónica, la detección directa de parásitos se logra mediante la microscopia, el diagnóstico del parásito se realiza mediante la detección de anticuerpos a través de pruebas inmunológicas como ELISA, IFI o HAI. Estas técnicas requieren laboratorios equipados y personal capacitado y no están disponibles en todos los Laboratorios de rutina, especialmente los ubicados en el medio rural o regiones distantes de las ciudades.

El diagnóstico convencional y de primera mano en la mayoría de los centros de atención primaria de salud, se pueden decir que, la más usada es el examen directo o fresco de la sangre, que permite la visualización directa de los parásitos por su movimiento entre las células sanguíneas, aunque esta prueba es imprescindible, tiene una baja sensibilidad. Por lo que se deben realizar confirmaciones con las pruebas inmunológicas de alta sensibilidad como ELISA.



## CONCLUSIONES:

- Esta investigación aplicó una búsqueda estricta de documentos científicos mediante el uso de bases de datos, la información recolectada permitió conocer las técnicas microscópicas e inmunodiagnósticas aplicadas para el diagnóstico de *Trypanosoma*, evidenciando que, para el diagnóstico correcto, es necesario aplicar técnicas de alta sensibilidad y especificidad que sean confiables y no están al alcance de los laboratorios de rutina del medio rural donde prevalecen los casos de tripanosomiasis.
- Las diferentes especies de *Trypanosoma*, que afectan al ser humano, haciendo especial énfasis en *Trypanosoma cruzi*, especie de importancia en las Américas, causante de la enfermedad de Chagas. Para *T. rangeli* se puntualizó la diferencia morfológica con respecto a *T. cruzi*, para diferenciarlos en el diagnóstico por visualización microscópica. Es importante advertir que, *T. rangeli* puede causar la producción de anticuerpos que reaccionan de forma cruzada con los antígenos de *T. cruzi*, lo que puede llevar a un diagnóstico erróneo de la enfermedad de Chagas. La especie *T. brucei* con la subespecie *T. brucei gambiense* y *T. brucei rhodesiense*, causantes de la tripanosomiasis africana, se tocaron de forma sucinta, debido a que están restringidos al continente africano.
- Los métodos parasitológico e inmunológicos utilizados para el diagnóstico de *Trypanosoma* en los diferentes estudios, conducen a que algunas técnicas como la visualización directa de *Trypanosoma* es una técnica económica y factible de realizar, pero poseen baja sensibilidad y además si no se cuenta con personal capacitado este método no resulta confiable para su diagnóstico mientras que, las pruebas inmunológicas como ELISA son de mayor complejidad, tienen una mayor sensibilidad para identificar toda la variedad de especies existentes del parásito, requiere de personal capacitado para su realización y aunque sea costosa es la prueba es confirmatoria que permite cuantificar la concentración de inmunoglobulinas específicas contra antígenos de *T. cruzi*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kivali V, Kiyong'a A, Fyfe J, Toye P, Fèvre E, Cook E. Spatial Distribution of *Trypanosomes* in Cattle From Western Kenya. *Front. Vet. Sci* [Internet]. 2020 [Consultado 14 Feb 2021]; 7(554). Disponible en: <file:///C:/Users/Uno/Desktop/perfi%20proyecto%202021/trypanosoma%20articulos/fvets.2020.00554.pdf>
2. Maxfield L, Bermúdez R. tripanosomiasis. *StatPearls* [Internet]. 2020 [Consultado 14 Feb 2021]; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535413/>
3. Özbilgin A, Sergeant İ, Nuraydın A, Özel Y. The Production of *Trypanosoma Brucei Rhodesiense*, Cause of African Sleeping Sickness, and *Trypanosoma Cruzi*, Cause of American Chagas Disease, on Different Medias and Testing a New Media. *Turkiye Parazitol Derg* [Internet]. 2020 [Consultado 14 Feb 2021]; 44 (1). Disponibl en: [http://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article\\_36524/TPD-44-7-En.pdf](http://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article_36524/TPD-44-7-En.pdf)
4. Bayão T, Cupertino M, Mayers N, Siqueira R. Una revisión sistemática de los aspectos diagnósticos y el uso de *Trypanosoma rangeli* como inmunógeno para Infección por *Trypanosoma cruzi*. *Rev Soc Bras Med Tro* [Internet]. 2020 [Consultado 14 Feb 2021]; 53 (e20190608) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7491552/>
5. Palmezano J, Plazas L, Rivera K, Rueda V. Enfermedad de Chagas: realidad de una patología frecuente en Santander, Colombia. *MÉD.UIS* [Internet]. 2020 [Consultado 16 Feb 2021]; 28(1) Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/muis/v28n1/v28n1a08.pdf>
6. Maignashca J, Beffi S, Schwabl P, Grijalva M, Llewellyn M, Costales J. Diversidad genética notable de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli* en dos localidades del sur de Ecuador identificadas mediante secuenciación profunda de amplicones de genes de mini-exón. *Vectores*

de parásitos [Internet]. 2020 [Consultado 16 Feb 2021]; 13(252) Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04079-1>

7. Velasco M, Gimeno L, Molina I, et al. Cribado de la infección por *Trypanosoma cruzi* en inmigrantes y refugiados: revisión sistemática y recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Euro Surveill [Internet]. 2020 [Consultado 16 Feb 2021]; 25 (8) Disponible en <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.8.1900393>

8. Murillo Godínez G. Enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Med Int Méx [Internet]. 2018 [Consultado 17 Feb 2021]; 34(6) Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/mim/v34n6/0186-4866-mim-34-06-959.pdf>

9. Zabala N, Berrizbeitia M, Jorquera A, Rodríguez J, Romero L. Infección por *Trypanosoma cruzi* en mujeres puérperas y sus neonatos en Barcelona, estado Anzoátegui, Venezuela. Biomédica [Internet]. 2019 [Consultado 17 Feb 2021]; 39(769-84) Disponible en: <https://doi.org/10.7705/biomedica.4606>

10. Calvopiña M, Segovia G, Cevallos W, et al. Enfermedad de Chagas aguda mortal por *Trypanosoma cruzi* DTU TcI, Ecuador. BMC Infect Dis [Internet]. 2020 [Consultado 18 Feb 2021]; 20(143) Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4851-0>

11. Aregawi W, Agga G, Abdi R, Büscher P. Systematic review and meta-analysis on the global distribution, host range, and prevalence of *Trypanosoma evansi*. Parasites & vectors [Internet]. 2019 [Consultado 19 Feb 2021]; 2(67) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6357473/>

12. Cayla M, Rojas F, Silvester E, Venter F, Matthews K. African trypanosomes. Parasit Vectors [Internet]. 2019 [Consultado 19 Feb 2021]; 12(1) Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31036044/>

13. Mehlitz D, Molyneux D. The elimination of *Trypanosoma brucei gambiense*? Challenges of reservoir hosts and transmission cycles. Expect the unexpected: Parasite Epidemiol Control

[Internet]. 2019 [Consultado 20 Feb 2021]; 6(e00113) Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2019.e00113>

14. Naves L, Vinícius M, Fajardo E, Bernardes R, Bernardelli F, Rodríguez V, et al. DNA content analysis allows discrimination between *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. PLOS ONE [Internet]. 2017 [Consultado 2 Mar 2021]; 12(12) Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189907>

15. Kessler R, Contreras V, Marlière N, Aparecida A, Villamizar L, Camacho G, et al. Recently differentiated epimastigotes from *Trypanosoma cruzi* are infective to the mammalian host. Mol Microbiol [Internet]. 2017 [Consultado 26 Feb 2021]; 104(5): Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28240790/>

16. Aksoy S, Caccone A, Galvani A, Okedi L. Las poblaciones de *Glossina fuscipes* proporcionan información sobre la transmisión de la tripanosomiasis africana humana en Uganda. Tendencias Parasitol [Internet]. 2013 [Consultado 26 Feb 2021]; 29 (8) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3772539/>

17. World Health Organization. Control and surveillance of human African trypanosomiasis. World Health Organ Tech Rep Ser [Internet]. 2013 [Consultado 26 Feb 2021]; 984 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24552089/>

18. Franco J, Simarro P, Diarra A, Jannin J. Epidemiology of human African trypanosomiasis. Clin Epidemiol [Internet]. 2014 [Consultado 26 Feb 2021]; 6(6) Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25125985/>

19. Sekhar G, Watson C, Fidanboyly M, Sanderson L, Thomas S. Delivery of antihuman African trypanosomiasis drugs across the blood-brain and blood-CSF barriers. Adv Pharmacol [Internet]. 2014 [Consultado 26 Feb 2021]; 71 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25307219/>

20. Vera M, Meza G, Carlier Y, Truyens C, Gamboa R. Comparación de metodologías para la detección de parásitos *Trypanosoma cruzi* mediante observación microscópica de tubos capilares de microhematocrito. Rev. Soc. Bras. Medicina. Trop [Internet]. 2019 [consultado el

26 de febrero de 2021]; 52: e20180505. Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822019000100671&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822019000100671&lng=en). Publicación electrónica 27 de junio de 2019. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0505-2018>

21. Bonnet J, Boudot C, Courtioux B. Descripción general de los métodos de diagnóstico utilizados en el campo de la tripanosomiasis africana humana: ¿Qué podría cambiar en los próximos años?. *Biomed Res Int* [Internet]. 2015 [Consultado 26 Feb 2021]; 2015(583262) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4609347/>

22. Bocchi E, Bestetti R, Scanavacca M, Cunha E, Issa V. Chronic Chagas Heart Disease Management. From Etiology to Cardiomyopathy Treatment. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2017 Sep 19; [Consultado 05 Mar 2021]; 70(12):1510-1524. Disponible en: doi: 10.1016/j.jacc.2017.08.004.

23. Bonney K, Luthringer D, Kim S, Garg N, Engman D. Patología y patogenia de la cardiopatía de Chagas. *Annu Rev Pathol* [Internet]. 2019 [Consultado 05 Mar 2021]; 14: 421-447. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7373119/>

24. Moreno Vanegas C. “Prevalencia de Chagas en donantes del banco de sangre del Hospital Carlos Andrade Marín en el periodo enero – julio 2016” Quito [Internet]. UCE; 2016. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9780/1/T-UCE-0006-106.pdf>

25. Malik L, Singh G, Amsterdam E. Chagas Heart Disease: An Update. *Am J Med* [Internet]. 2015 [Consultado 07 Mar 2021]; 128(11):1251e7-9. Disponible en: [https://www.amjmed.com/article/S0002-9343\(15\)00447-7/fulltext#articleInformation](https://www.amjmed.com/article/S0002-9343(15)00447-7/fulltext#articleInformation)

26. Murillo Godínez G. Enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). *Med Int Méx* [Internet]. 2018 [consultado el 07 de marzo de 2021]; 34(6):959-970. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/mim/v34n6/0186-4866-mim-34-06-959.pdf>

27. Maxfield L, Bermúdez R. tripanosomiasis. StatPearls Publishing LLC [Internet]. 2020 [consultado el 08 de marzo de 2021]; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535413/>

28. Molina I, Salvador F, Montalvá A. Actualización en enfermedad de Chagas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2016 [consultado el 12 de febrero de 2021]; 34(2):132–138 Disponible en: <http://www.saei.org/documentos/biblioteca/biblioteca-capitulo-358-capitulos-96985.pdf>
29. Bern C, Martin D, Gilman R. Enfermedad de Chagas aguda y congénita. En: Prensa académica, Elsevier. *Enfermedad de Chagas, Parte A*. First Ed. Baltimore: ISSN; 2011. p. 19-47
30. Bustos P, Milduberger N, Volta B, Perrone A, Laucella S, Bua J. *Trypanosoma cruzi* Infección en la interfaz materno-fetal: implicaciones de la carga parasitaria en la transmisión congénita y desafíos en el diagnóstico de recién nacidos infectados. *Microbiol frontal* [Internet] 2019; [citado 2021 Mar 27]; 10:1250. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6568191/>
31. Antinori S, Galimberti L, Bianco R, Grande R, Galli M, Corbellino M. Chagas disease in Europe. A review for the internist in the globalized world: *Eur J Intern Med* [Internet] 2017 [citado 2021 Mar 27]; 43:6-15. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28502864/>
32. Picado A, Cruz I, Redard M, Schijman A, Torrico F, Sosa S, et al. La carga de la enfermedad de Chagas congénita y la implementación de herramientas de diagnóstico molecular en América Latina. *BMJ Glob Health* [Internet] 2018 [citado 2021 Mar 27]; 3(5): e001069. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6195131/>
33. Howard E, Xiong X, Carlier Y, Sosa S, Buekens P. Frecuencia de la transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi*: una revisión sistemática y un metanálisis. *BJOG* [Internet] 2014 [citado 2021 Mar 27]; 121 (1): 22-33. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3914719/>
34. Messenger LA, Gilman RH, Verastegui M, et al. Hacia la mejora del diagnóstico precoz de la enfermedad de Chagas congénita en un entorno endémico. *Clin Infect Dis* [Internet] 2017 [citado 2021 Mar 27]; 65 (2): 268-275. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5848221/>

35. Liempi A, Castillo C, Carrillo I, et al. A local innate immune response against *Trypanosoma cruzi* in the human placenta: The epithelial turnover of the trophoblast. *Microb Pathog* [Internet]. 2016 [citado 2021 Mar 27]; 99:123-129 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27554274/>
36. Gómez L, Carolina Amieva. El Chagas en la actualidad de Latinoamérica: viejos y nuevos problemas, grandes desafíos. *Aposta. Revista de Ciencias Sociales* [Internet]. 2014 [citado 2021 Mar 27]; 62:1-19 Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4959/495950258006.pdf>
37. Carlier Y, Truyens C. Congenital Chagas disease as an ecological model of interactions between *Trypanosoma cruzi* parasites, pregnant women, placenta and fetuses. *Acta Trop* [Internet]. 2015 [citado 2021 Mar 28]; 151:103-115. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26293886/>
38. Pereira M, Wistremundo D, Morillo C, Encina J, Ribeiro A, et al. La enfermedad de Chagas. *Revista del Colegio Americano de Cardiología* [Internet]. 2013 [citado 2021 Mar 28]; 62 (9), 767–776. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23770163/>
39. Gómez L, Gutiérrez F, Peñuela O. Infección por *Trypanosoma cruzi* en medicina transfusional. *Hematol Transfus Cell Ther* [Internet]. 2019 [citado 2021 Mar 29]; 41 (3): 262-267. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6732405/>
40. Organización Panamericana de la Salud. Información General: Enfermedad de Chagas. [OPS]. Whashington: OPS. [Internet]. [Consultado 25 Mar 2021]. Disponible en: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5856:2011-informacion-general-enfermedad-chagas&Itemid=40370&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5856:2011-informacion-general-enfermedad-chagas&Itemid=40370&lang=es)
41. Pérez J, Molina I. La Enfermedad de Chagas. *The Lancet Trop* [Internet]. 2017 [citado 2021 Mar 27]; S0140-6736(17)31612-4. Disponible en: [https://sci-hub.mkxa.top/10.1016/S0140-6736\(17\)31612-4](https://sci-hub.mkxa.top/10.1016/S0140-6736(17)31612-4)
42. Jaramillo L, Ruiz C, Martínez L, Vera S. Enfermedad de Chagas: una mirada alternativa al tratamiento *Rev Cubana Med Trop* [Internet]. 2017 Ago [citado 2021 Mar 30]; 69(2): 01-13.

Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S037507602017000200009&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037507602017000200009&lng=es).

43. Morales D, Quinatoa P, Sánchez D, Cagua J, Veloz H. Manual de vigilancia y control de la enfermedad de Chagas en el Ecuador: Quito. [Internet]. INSPI; 2020. Disponible en: [https://www.inspilip.gob.ec/wp-content/uploads/2020/10/Manual-de-vigilancia-y-control-de-Chagas\\_05102020\\_dm-1.pdf](https://www.inspilip.gob.ec/wp-content/uploads/2020/10/Manual-de-vigilancia-y-control-de-Chagas_05102020_dm-1.pdf)

44. Meymandi S, Hernández S, Park S, Sánchez D, Forsyth C. Tratamiento de la enfermedad de Chagas en los Estados Unidos. *Curr Treat Options Infect Dis* [Internet] 2018 [citado 2021 Mar 30]; 10 (3): 373-388. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6132494/>

45. Murcia L, Carrileroa B, Saura D, et al. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Chagas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2016 [consultado el 26 de febrero de 2021]; 31(Supl 1):26-34 Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/parasitologia/ccs-2011-parasitologia.pdf>

46. MINISTERIO DE SALUD. “Guías de Diagnóstico, Tratamiento y Prevención de la Enfermedad de Chagas”. Guía Clínica [Internet]. 2011 [consultado el 08 de marzo de 2021]; Disponible en: [https://www.paho.org/panaftosa/index.php?option=com\\_docman&view=download&category\\_slug=zoonosis-779&alias=207-guia-enfermedad-chagas-7&Itemid=518](https://www.paho.org/panaftosa/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=zoonosis-779&alias=207-guia-enfermedad-chagas-7&Itemid=518)

47. Riera C. Diagnóstico de Laboratorio de la Enfermedad de Chagas [Internet].2016 [consultado el 10 de Mar de 2021]; Disponible en: <file:///C:/Users/Uno/Desktop/titulacion%20FINAL%20INFORME%202021/cita%2023%20parte%202.pdf>

48. Maldonado J, Villa M, Moncada M, Carvajal V, Díaz C, Acostamadiedo J, et al. Enfermedad de Chagas: Bogotá. [Internet]. ILADIBA; 2013. Disponible en: [https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/Memorias\\_chagas.pdf](https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/Memorias_chagas.pdf)



49. Cañadas L, Gómez A. Diagnóstico Inmunológico de la tripanosomiasis [Internet]. 2017 [consultado el 12 de Mar de 2021]; Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/LOURDES%20CA%C3%91ADAS%20FERNANDEZ.pdf>
50. Villasante M, Hernández P. El diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Centre for Neglected Tropical Diseases [Internet] 2015; [citado 2021 Mar 27]; 11(3):141-145 Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/275583955\\_Novedades\\_en\\_el\\_diagnostico\\_de\\_la\\_enfermedad\\_de\\_Chagas](https://www.researchgate.net/publication/275583955_Novedades_en_el_diagnostico_de_la_enfermedad_de_Chagas)
51. Rocha D, dos Reis M, Romano A, Lima S, Antunes V, Tostes S, et al. In Situ Expression of Regulatory Cytokines by Heart Inflammatory Cells in Chagas Disease Patients with Heart Failure: Clin Dev Immunol [Internet]. 2012 [consultado el 26 de febrero de 2021]; 2012(2012):1-7 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3397162/>
52. Dávila D, Galvão L, Sousa G, Britto C, Moreira O, Chiari E. Monitoring the parasite load in chronic Chagas disease patients: comparison between blood culture and quantitative real time PCR. PLOS ONE [Internet]. (2018) [consultado el 26 de febrero de 2021]; 13(11): e0208133. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208133>
53. Malik L, Singh G, Amsterdam E. Epidemiología, manifestaciones clínicas y manejo de la cardiopatía de Chagas. Clin Cardiol [Internet] 2015 [citado 2021 Abr 05]; 38 (9): 565-569 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6490782/>
54. Ferraresso M, Torre A, Martínez M, Barcan L. Reactivación de la enfermedad de Chagas: manifestaciones cutáneas en un paciente trasplantado. Anais Brasileiros de Dermatología [Internet] 2018 [citado 2021 Abril 05]; 93(6) pg. 890-892 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0365059620305572?via%3Dihub>
55. Echeverría L, Marcus R, Novick G, Sosa S, Ralston K, Zaidel E, et al. WHF IASC Roadmap on Chagas Disease. Glob Heart [Internet] 2020 [citado 2021 Abril 06]; 15(1):26. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7218776/>

56. Whitman J, Bulman C, Gunderson E, Irish A, Townsend R, Stramer S, et al. Rendimiento de la prueba serológica de la enfermedad de Chagas en muestras de donantes de sangre de EE. UU. *J Clin Microbiol* [Internet] 2019 [citado 2021 abril 08]; 57 (12): e01217-19. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6879282/>
57. Lozano D, Rojas L, Méndez S, Casellas A, Sanz S, Ortiz S, et al. Uso de pruebas de diagnóstico rápido (PDR) para el diagnóstico concluyente de la enfermedad de Chagas crónica - implementación de campo en la región del Chaco boliviano. *PLOS Negl Trop Dis* [Internet] 2019 [citado 2021 abril 10]; 13 (12): e0007877. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6922313/>
58. Egüez K, Padilla A, Terán C, Chipana Z, García W, Torrico F, et al. Dúo de pruebas de diagnóstico rápido como alternativa a las pruebas serológicas convencionales para el diagnóstico concluyente de la enfermedad de Chagas. *PLOS Negl Trop Dis* [Internet] 2017 [citado 2021 abril 15]; 11 (4): e0005501. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5391121/>