

Factores bióticos y abióticos que determinan la seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma Cruzi* en el municipio de Palmar de Bravo, Puebla, México

Francisca Sosa-Jurado, MSP,⁽¹⁾ José Lino Zumaquero-Ríos, MC,⁽²⁾ Pedro A Reyes, Med,⁽³⁾
Abel Cruz-García, MSP,⁽⁴⁾Carmen Guzmán-Bracho, MC,⁽⁵⁾ Víctor M Monteón, DC.⁽³⁾

Sosa-Jurado F, Zumaquero-Ríos JL, Reyes PA,
Cruz-García A, Guzmán-Bracho C, Monteón VM.
Factores bióticos y abióticos que determinan
la seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*
en el municipio de Palmar de Bravo, Puebla, México.
Salud Pública Mex 2004;46:39-48.
El texto completo en inglés de este artículo está
disponible en: <http://www.insp.mx/salud/index.html>

Resumen

Objetivo. Determinar la prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* y su relación con los factores bióticos y abióticos en Palmar de Bravo, Puebla, México. **Material y métodos.** Estudio transversal efectuado en agosto de 2000 a septiembre de 2001, con una muestra aleatoria simple de 390 voluntarios residentes en Palmar de Bravo, Puebla, México. Se hizo determinación de anticuerpos contra *T cruzi* con técnicas serológicas validadas, búsqueda del vector y de reservorios domésticos, así como determinación de asociación entre caso positivo y factores de riesgo bióticos y abióticos. El análisis estadístico consistió en índice Kappa para las pruebas diagnósticas, empleando tabla de contingencia de 2 x 2; ji cuadrada corregida de Yates, exacta de Fisher y la razón de posibilidad para estimar la significancia de la asociación de factores bióticos y abióticos. **Resultados.** La seroprevalencia fue de 4% en la población humana estudiada y de los reservorios (equinos, porcinos y caninos), sólo 10% de los caninos resultaron reactivos. Los vectores identificados fueron *T barberi* y *T pallidipennis*, con índice de dispersión e índice de colonización de 55 y 40%, respectivamente. Los factores de

Sosa-Jurado F, Zumaquero-Ríos JL, Reyes PA,
Cruz-García A, Guzmán-Bracho C, Monteón VM.
Biotic and abiotic determinants
of seroprevalence of antibodies against *Trypanosoma cruzi*
in Palmar de Bravo, Puebla, Mexico.
Salud Pública Mex 2004;46:39-48.
The English version of this paper
is available at: <http://www.insp.mx/salud/index.html>

Abstract

Objective. To establish the relationship between seroprevalence for antibodies against *Trypanosoma cruzi* and its relationship with biotic and abiotic factors. **Material and Methods.** A cross-sectional study was conducted between August 2000 and September 2001. The study population consisted of a simple random sample of 390 volunteers residing in Palmar de Bravo, Puebla, Mexico. Sample and data collection procedures included assaying antibodies against *T cruzi* with validated assays, and searching for domestic reservoirs and triatomine bugs. The relationship between biotic and abiotic factors with seropositivity was assessed. Statistical analysis was conducted using Kappa values for diagnostic tests; statistical significance was assessed with 2 x 2 tables, chi-squared test with Yates' correction, Fisher exact test, and odds ratios. **Results.** The seroprevalence of *T cruzi* infection in humans was 4%; in domestic reservoirs (horses, pigs, and dogs) only 10% of canine reservoirs were positive. Vector species recognized were *T barberi* and *T pallidipennis*, with a Dispersion Area Index and a Colonization Index of 55% and 40%, respectively. The most important risk factors associated with positive serology were altitude

- (1) Hospital de especialidades, Centro Médico Nacional Manuel Avila Camacho. Instituto Mexicano del Seguro Social, Puebla, Puebla, México.
 (2) Laboratorio de Entomología de la Escuela de Biología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.
 (3) Laboratorio de Inmunoparasitología del Instituto Nacional de Cardiología, Dr Ignacio Chávez. México, DF, México.
 (4) Facultad de Medicina de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, Puebla, México.
 (5) Departamento de Parasitología del Instituto Nacional de Referencia Epidemiológica, México, DF, México.

Fecha de recibido: 10 de diciembre de 2002 • Fecha de aprobado: 4 de septiembre de 2003
 Solicitud de sobretiros: Víctor M Monteón. Instituto Nacional de Cardiología, Juan Badiano 1, colonia Sección XVI, 14080 México, DF.
 Correo electrónico: victormonteon@hotmail.com

riesgo más importantes fueron la altitud ($>2\,150$ y $<2\,180$ metros sobre el nivel del mar), los años de residencia, el pertenecer a un programa de asistencia social, la presencia de triatominos y la edad. **Conclusiones.** En localidades ubicadas a una altitud mayor a los 2 000 metros sobre el nivel del mar se reconocieron vectores infectados con *T cruzi*, casos humanos y probablemente reservorios domésticos. El texto completo en inglés de este artículo está disponible en: <http://www.insp.mx/salud/index.html>

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*; enfermedad de Chagas; seroprevalencia; vectores; reservorios; México

($>2\,150$ y $<2\,180$ meters above sea level), presence of triatomines, age, time of residence, and participation in a social assistance program. **Conclusions.** *T cruzi* infection was identified in human beings, vectors, and possibly in domestic reservoirs, in communities located over 2 000 meters above sea level. The English version of this paper is available at: <http://www.insp.mx/salud/index.html>

Key words: *Trypanosoma cruzi*; Chagas disease; seroprevalence; vectors; reservoirs; Mexico

La tripanosomosis americana (TA) es una enfermedad causada por el protozoario flagelado *Trypanosoma cruzi* que se anida y reproduce en los tejidos. La infección es transmitida principalmente por los insectos hemípteros hematófagos (triatominos) a través de sus deyecciones contaminadas con *trypanosomas* metacíclicos. La enfermedad cursa con una fase aguda parasitémica, seguida por una fase crónica indeterminada asintomática y silente que puede durar toda la vida, o por una crónica sintomática en 30% de los infectados. En esta fase crónica la parasitemia es difícil de demostrar y la serología es el recurso diagnóstico más importante.¹

El parásito *T cruzi* se ha detectado en humanos y en reservorios entre las latitudes 42° norte a la 46° sur del continente americano; la infestación de las viviendas por los vectores pone en riesgo de adquirir la infección a un mínimo de 90 millones de personas en el continente dentro de estas latitudes.²

La distribución de triatominos en México es muy amplia, se reconoce al vector en prácticamente todo el territorio y de las 31 especies reconocidas de *Triatominae*, la mayoría se han encontrado infectadas con *T cruzi*, por lo que el riesgo de infección, en la población rural del país, se estima en 370 000 individuos.³⁻⁵ Entre los animales domésticos el perro es el reservorio más importante de *T cruzi*,² ya que se ha comprobado que los perros infectados incrementan el riesgo de la transmisión doméstica de *T cruzi*.⁶

La infección por transfusión sanguínea es el segundo mecanismo de transmisión después de la vectorial, debido al incremento de la migración de personas de las zonas rurales endémicas a zonas urbanas donde no existen los triatominos,⁷⁻⁹ e incluso a zonas rurales no endémicas. De manera que la tripanosomosis americana (TA) es otra de las enfermedades sociales o de la pobreza, y en México se podría considerar como riesgo de salud emergente.

El diagnóstico serológico de la TA en su fase crónica es obligado, ya que es difícil la demostración del

parásito en circulación o en los tejidos, por lo que es importante la estandarización de las pruebas serológicas para demostrar los anticuerpos contra *T cruzi*.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) recomienda que se utilice más de un procedimiento serológico para reducir el error en el diagnóstico.¹⁰ La confirmación de un caso indeterminado de la tripanosomosis americana por diagnóstico serológico se establece cuando hay al menos dos pruebas serológicas positivas.¹¹

En México se han realizado varias encuestas seroepidemiológicas en población abierta y en donadores de sangre; en pocos casos se determinaron los factores de riesgo asociados a la prevalencia.¹²⁻¹⁴ El estudio de la Encuesta Nacional de Seroepidemiología (ENSE) encontró relación de la prevalencia con algunos factores de riesgo como el tipo de vivienda, los años de radicar en zona endémica y la edad.¹⁵

En este trabajo se estudiaron la seroprevalencia humana, la probable presencia de reservorios domésticos y los factores de riesgo probablemente asociados en una población rural ubicada a más de 2 000 metros sobre el nivel del mar (m snm). Para dar certeza del diagnóstico serológico se realizaron cuatro técnicas serológicas diferentes, en dos instituciones distintas, con una evaluación estadística de concordancia.

Material y métodos

Población estudiada

En el municipio de Palmar de Bravo, estado de Puebla, México, se estudiaron 15 localidades con una población en edad productiva de 15 253 personas; las siete comunidades más pequeñas tenían una población total entre 100 a 500 habitantes, y las dos más pobladas entre 5 000 y 7 500. (Datos del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática XII Censo General de Población y Vivienda 2000).

Se logró la cooperación de 390 de los habitantes, a través de los médicos y auxiliares de salud de cuatro clínicas de la Secretaría de Salud (SSA) y una del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Se reunió a las personas en las clínicas o en las casas de salud de cada localidad, entre los meses de agosto y septiembre de 2000, para informarles de la enfermedad de Chagas. Se emplearon medios audiovisuales, se les mostraron ejemplares de triatominos y se les explicó el objetivo del estudio, invitándolos a participar. A las personas voluntarias se les aplicó un cuestionario clínico-epidemiológico sobre datos personales, hábitos y costumbres, tipos de vivienda, manifestaciones clínicas y reconocimiento de los triatominos, y se les tomó una muestra de sangre y el suero se almacenó a -20 °C, hasta su uso.

Antígenos

En el Instituto Nacional de Cardiología (INC) se empleó como antígeno epimastigotes de *T. cruzi* cepa Niñoa; se obtuvieron extracto crudo soluble, para la realización de las técnicas de ELISA y WB (Ag-ECS-INC), y una suspensión de parásitos para la inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Ag-SP-INC).¹⁶

En el Instituto Nacional de Referencia Epidemiológica (INDRE) se empleó como antígeno epimastigotes de 15 aislamientos mexicanos (ocho de humanos y siete del vector); se obtuvieron extracto crudo soluble para el ensayo de ELISA (Ag-ECS-INDRE), una suspensión de parásitos para la IFI (Ag-SP-INDRE), y ECS con eritrocitos de pollo tratados con ácido tánico para hemaglutinación indirecta (HAI) Ag-(ECS-EP-INDRE).¹⁷

Ensayos serológicos

A las 390 muestras se les determinó anticuerpos contra *T. cruzi* empleando como prueba tamiz la ELISA en el INC^{9,16} con dilución 1:200 del suero, conjugado anti IgG humano-peroxidasa 1:25 000 y tiempo de incubación de 15 min a 37 °C. El valor de corte se estableció con una muestra de 30 sueros de sujetos sanos, la media más 5DS nos permitió establecer el valor de corte de DO > 0.240. En el INDRE la prueba tamiz fue la hemaglutinación indirecta HAI-INDRE¹⁸ que se considera positiva a diluciones > 1:8.

A los sueros positivos con alguna de las dos pruebas serológicas empleadas se les determinó anticuerpos contra *T. cruzi* con otras dos pruebas serológicas diferentes.

Por ELISA-INDRE¹⁷ a dilución de 1:50 del suero, conjugado anti IgG humano-peroxidasa 1:1 000 y tiempo de incubación de 1h a 37 °C con valor de corte DO > 0.220, la obtención del valor de corte fue similar a lo descrito anteriormente; y por IFI-INDRE,¹⁷ con dilución de la muestra sérica 1:32 y conjugado anti IgG humano-fluoresceina 1:10 y tiempo de incubación de 30 min a 37 °C, se consideraron muestras positivas las diluciones > 1:32.

La IFI-INC¹⁶ con dilución de la muestra sérica 1:32, conjugado anti IgG humano-fluoresceina 1:120, tiempo de incubación 30 min a temperatura ambiente, se consideró muestra positiva a diluciones > 1:32. El ensayo WB-INC⁹ en breve consistió en efectuar una electroforesis en gel (10%) de SDS-poliacrilamida de las proteínas antigenicas que fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa y puestas en contacto con el suero diluido 1:1 000, e incubadas con el conjugado anti IgG humano-peroxidasa diluido 1:2 000 durante 1h a 22 °C y, finalmente, la reacción enzimática se puso de manifiesto con 4-cloro-Naftol y H₂O₂. En todos los casos se corrieron de forma simultánea controles positivos y negativos.

Búsqueda de vectores y de reservorios

Se efectuaron tres campañas de captura de triatominos entre diciembre de 2000 y septiembre de 2001 en las cinco localidades donde se detectaron seropositivos, y se escogieron cuatro de las 10 donde no existió seroprevalencia. La captura fue manual, diurna, y se auxilió con guantes y lámparas de mano durante una hora/hombre/vivienda se buscaron chinches en cualquier estadio: huevo, ninfa y adulto. Los triatominos capturados se colocaron en un envase rotulado con el nombre de la localidad y del sitio de captura. Los triatominos capturados se identificaron y clasificaron con las claves de Lent y Wigodzinski.¹⁸

Para la búsqueda de hemoflagelados se obtuvieron heces por compresión del abdomen y se hizo observación en fresco además de tinción con Giemsa.

Durante la campaña de vacunación antirrábica efectuada en marzo de 2001, antes de ser vacunados y previo consentimiento de sus dueños, se tomó una muestra sanguínea a perros domésticos de las nueve comunidades anteriores; las muestras se identificaron según la localidad de origen de los animales y se efectuaron dos frotis de sangre que se tiñeron con Giemsa para la búsqueda de hemoflagelados, los sueros se almacenaron a -20 °C, hasta su uso. La determinación de anticuerpos séricos contra *T. cruzi* en perros se rea-

lizó con la técnica de HAI-INDRE,¹⁷ y se consideraron positivas las diluciones $\geq 1:16$.

Estadística

Obtención de índice de correlación de las pruebas serológicas

Para evaluar la eficacia de las pruebas tamiz como sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo e índice Kappa se empleó la tabla de contingencia 2 x 2 con los resultados emitidos, tanto por el INC y el INDRE.

Análisis de datos e índices de correlación

Los datos de las 390 encuestas, con 70 preguntas dicotómicas, fueron capturados en el programa Epi-Info 5 y se aplicó la prueba de ji cuadrada (χ^2) corregida de Yates y la exacta de Fisher, para determinar la significancia de las asociaciones observadas entre los factores bióticos y abióticos y los grupos de casos positivos y negativos, así como entre el grupo de individuos pertenecientes o no al programa de asistencia social y económica Progresa (Programa de Educación, Salud y Alimentación); el nivel de significancia se situó en $p < 0.05$; las variables sometidas a este procedimiento estuvieron dentro de la escala nominal. Para obtener la probabilidad de ser caso positivo y donador de sangre se empleó la prueba de razón de posibilidad.

Resultados

Pruebas diagnósticas

Al considerar como caso positivo aquel individuo con al menos dos pruebas serológicas positivas encontramos 17/390 individuos seropositivos para una prevalencia de 4.35%.

La eficacia de las pruebas serológicas tamiz HAI-INDRE mostró sensibilidad de 82.3%, y especificidad de 100%, VP+ 100% y VP- 99.35%; la prueba tamiz ELISA-INC tuvo sensibilidad de 76.4%, especificidad de 100%, VP+ de 100% y VP- de 99.19%. La concordancia entre las pruebas tamiz HAI-INDRE y ELISA-INC para detectar anticuerpos contra *T. cruzi* obtuvo un índice K= 0.73 (cuadro I).

Con HAI-INDRE 14 muestras fueron positivas y tres negativas, mientras que con ELISA-INC 13 fueron positivas y cuatro negativas. De las cuatro muestras negativas en ELISA-INC tres de ellas tuvieron valor de positividad límite en HAI-INDRE, con título de 1:8, y la otra de 1:32 (cuadro II). La concordancia entre las pruebas tamiz y las confirmatorias del INC (ELISA-

INC/IFI-INC) fue de índice K= 0.86, para una concordancia casi perfecta, ELISA-INC/WB-INC índice K= 0.78, concordancia sustancial.

La concordancia entre la prueba tamiz y las confirmatorias del INDRE (HAI-INDRE / ELISA-INC) fue de índice K= 0.89, concordancia casi perfecta, HAI-INDRE/ IFI-INDRE índice K= 0.89, concordancia casi perfecta.

La concordancia entre el INDRE y el INC fue de un índice K= 0.82, para una concordancia casi perfecta (cuadro I).

De las 17 muestras séricas positivas analizadas con IFI-INC se obtuvieron 15/17 positivas, y con WB-INC se obtuvieron 11/17 positivas; con los resultados de las tres pruebas serológicas empleadas en el INC se detectaron 13 casos positivos para una prevalencia de 3.33%. En el INDRE se obtuvieron 15/17 positivas por ELISA-INDRE y con IFI-INDRE 17/17 positivas, los resultados de las tres pruebas serológicas empleadas detectaron a 16 casos positivos, para una prevalencia de 4.10% (cuadro II).

Generales

Se estudiaron 15 localidades del municipio de Palmar de Bravo, Puebla. Cinco estuvieron a una altitud de 2 150 a 2 180 m snm y 10 dispersas entre sí a una altitud de 2 280 a 2 500 m snm.¹⁹ De las 15 localidades estudiadas en cinco de ellas se detectaron casos serológicos positivos humanos.

La población estudiada tuvo las siguientes características: 390 voluntarios, en edad productiva (15 a 65 años), 366 (93.8%) mujeres y 24 (6.2%) hombres, edad promedio de 36.6 años, con promedio 41.7 de años de residencia. El 38% campesinos, 56% dedicados a labores del hogar y temporalmente a labores del campo, 6% a otras actividades.

**Cuadro I
EVALUACIÓN DE LA CONCORDANCIA
DE LAS PRUEBAS SEROLÓGICAS PARA LA DETERMINACIÓN
DE ANTICUERPOS CONTRA *T. CRUZI*.
PALMAR DE BRAVO, PUEBLA, MÉXICO, 2000**

Pruebas serológicas	Valor del índice Kappa	Fuerza de concordancia
ELISA-INC / HAI-INDRE	0.73	Sustancial
ELISA-INC / IFI-INC	0.86	Casi perfecta
ELISA-INC / WB-INC	0.78	Sustancial
HAI-INFRE / ELISA-INDRE	0.89	Casi perfecta
HAI-INDRE / IFI-INDRE	0.89	Casi perfecta
INC / INDRE	0.82	Casi perfecta

Cuadro II

**RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *TRYPANOSOMA CRUZI* EN ENCUESTADOS
LOS CUALES CON DOS PRUEBAS SEROLÓGICAS POSITIVAS RESULTARON SER CASO INDETERMINADO DE
TRIPANOSOMOSIS AMERICANA. PALMAR DE BRAVO, PUEBLA, MÉXICO, 2000**

Folio	Instituto Nacional de Cardiología Dr Ignacio Chávez				Instituto de Referencia Epidemiológica Dr Manuel Martínez Báez			
	Prueba tamiz ELISA Dilución 1:200 v.c. 0.241	IFI $\geq 1:64$	Dilución 1:1 000	Caso indeterminado	Prueba tamiz HAI $\geq 1:8$	Dilución 1:50 v.c. 0.220	IFI $\geq 1:32$	Caso indeterminado
008	0.103	++	N	No	1:8	0.267	1:128	Sí
166	0.298	+	N	Sí	1:128	0.666	1:128	Sí
213	0.817	++	P	Sí	1:64	1.428	1:128	Sí
218	1.702	++	P	Sí	1:1024	2.676	1:512	Sí
253	0.528	+	P	Sí	-	0.205	1:32	No
259	1.203	++	P	Sí	1:1024	1.967	1:1024	Sí
278	0.454	+	P	Sí	-	0.350	1:64	Sí
284	0.323	+	P	Sí	1:8	0.700	1:128	Sí
304	0.717	+	P	Sí	1:64	1.609	1:128	Sí
317	0.125	-	N	No	1:8	0.203	1:32	Sí
318	0.193	+	N	No	1:32	0.364	1:64	Sí
324	0.138	+	N	No	1:8	0.249	1:128	Sí
326	0.402	+	P	Sí	1:64	1.226	1:128	Sí
353	0.358	D	P	Sí	1:32	1.320	1:128	Sí
363	0.463	+	P	Sí	1:32	1.249	1:128	Sí
379	0.424	+	P	Sí	-	0.427	1:128	Sí
381	0.382	+++	P	Sí	1:64	1.132	1:128	Sí
	13/390	15/17	12/17	13/390	14/390	15/17	17/17	16/390
Prevalencia	3.33%			3.33%	3.58%			3.84%

El 2% habitó en viviendas con paredes de paja, madera o láminas de cartón, 12% en casas con paredes de adobe o piedra, 86% en casas con paredes de ladrillos; 62% en viviendas con techo de láminas de asbesto, metálicas o de tejas, 37% de concreto y 1% de paja; 20% habitó en viviendas con piso de tierra y 85% en viviendas sin servicio de drenaje. El 66% convivió con perros, gatos o ambos, 70% criaron principalmente cerdos, pollos o ambos, 87% refirieron la presencia de ratas y ratones en sus viviendas, y 12% avistaron tlacuaches y conejos silvestres merodeándolas. Ciento noventa y dos (49%) pertenecieron al programa Progres.

El 16% reconoció a los triatominos. Ninguno refirió signo de Rómaña o chagoma de inoculación, no se identificaron enfermos. Aunque 5.8% refirió dificultad para deglutir, 2.5% disnea o cansancio y 5.1% tuvo historial de donación de sangre. (Datos no mostrados).

Vectores

En las tres colectas efectuadas fueron revisadas 306 viviendas y el entorno de las cinco comunidades con casos positivos humanos y cuatro comunidades en donde no se detectaron casos positivos humanos, en total nueve fueron las localidades analizadas para búsqueda de vectores y reservorios.

En las cinco comunidades en donde se detectaron casos positivos se obtuvieron los siguientes índices de infestación (cuadro II): para la localidad de Cuacnopalan, a 2 180 m snm, 1.51%, Palmar de Bravo, la cabecera municipal, a 2 180 m snm 1.66%, La Purísima, a 2 180 m snm 3.83%, Xaltepec, a 2 150 m snm 1.66% y Nazareno, a 2 150 m snm, 5.0%. Las localidades donde no se detectaron casos positivos fueron: Bellavista, a 2 280 m snm, Cuesta Blanca, a 2 380 m snm, Tehuitzo, a 2 380 m snm, y San Francisco Piletas, a 2 400 m snm.

El índice de dispersión del área (IDA) que comprendió a las nueve localidades donde se efectuaron capturas fue de 55.5%, y el índice de colonización (IC) fue de 20%. Se identificaron las especies *T. barberi* y *T. pallidipennis* y se obtuvo un índice de infección natural (IIN) de 10% en la especie *T. barberi* (cuadro III).

Reservorios

Se determinaron anticuerpos contra *T. cruzi* por HAI-INDRE a 94 muestras séricas de perros domésticos (*Canis familiaris*), de raza indeterminada y aparentemente sanos. De ellas, 10 resultaron reactivas contra *T. cruzi* (10.6%). Tres fueron a dilución baja de 1:16, cinco a dilución de 1:32 y sólo dos a 1:64. Las búsquedas de parásito circulante se realizaron en los frotis de sangre teñidos con Giemsa: todas resultaron negativas.

En humanos la dilución de corte es de 1:8; se consideró que para eliminar en lo posible reacciones cruzadas, que por lo general se observan a diluciones bajas, sólo muestras con títulos mayores o iguales a 1:16 serían positivos. De forma estricta, para establecer diagnóstico definitivo son necesarios los estudios parasitológicos como hemocultivo y/o xenodiagnóstico, pruebas que no pudieron llevarse a cabo por rechazo de los dueños.

Factores determinantes

Los factores bióticos o abióticos determinantes para ser caso positivo en este estudio fueron: a) habitar en localidades que están a una altitud entre los 2 150 a 2 180 m snm ($\chi^2=9.03$ con $p=0.002$); b) habitar en localidades donde se capturaron triatomíos ($\chi^2=9.03$ con $p=0.002$);

c) la edad ($\chi^2=46.25$ con $p=0.000$), d) los años de radicar en su localidad ($\chi^2=51.52$ con $p=0.000$); e) habitar en viviendas con paredes de paja, madera o láminas de cartón ($\chi^2=10.15$ con $p=0.013$); f) el tener como actividad ocupacional campesino ($\chi^2=8.06$ con $p=0.017$); g) el criar cerdos de traspatio ($\chi^2=5.40$ con $p=0.038$), y h) el pertenecer al Progresa ($\chi^2=5.28$ con $p=0.009$) (cuadro IV).

El 49% de los encuestados estuvieron integrados a Progresa; en este grupo se detectaron a 13/17 de los casos positivos para una prevalencia de 7%. Mientras que en el restante 51%, que no pertenecieron a este programa sólo se detectaron 4/17 para dar una prevalencia de 2%. Al comparar a estos dos grupos originarios del mismo municipio y de ámbito rural y relacionar los factores bióticos y abióticos determinantes, obtuvimos lo siguiente: los encuestados del grupo del Progresa tienen mayor grado de hacinamiento ($\chi^2=36.60$ con $p=0.0023$), habitan en las pocas viviendas construidas con materiales de paja, madera o láminas de cartón ($\chi^2=10.12$ con $p=0.001$), un tercio de ellos habitan en vivienda con piso de tierra ($\chi^2=26.07$ con $p=0.000$), dos terceras partes conviven con más de un perro ($\chi^2=10.25$ con $p=0.0013$) y 92% refirieron la presencia de ratas y ratones en sus viviendas o en el entorno de éstas ($\chi^2=4.93$ con $p=0.026$) (cuadro V).

Discusión

El municipio de Palmar de Bravo es de ámbito rural, se encuentra ubicado cerca de la zona del Xitletepelt (Pico de Orizaba) en el estado de Puebla. En un estudio de estratificación estatal de la mortalidad en México,²⁰ el estado de Puebla perteneció a la región de rezago extremo con una mortalidad infantil 1.9 veces más elevada que

Cuadro III
INDICADORES ENTOMOLÓGICOS DE NUEVE LOCALIDADES ESTUDIADAS EN EL MUNICIPIO DE
PALMAR DE BRAVO, PUEBLA, MÉXICO, 2000

Localidad	Altitud (m snm)	Especie de Triatomíos capturada	Índice de infestación (II)	Índice de dispersión del área (IDA) %	Índice de colonización (IC) %
Cuacnopalán	2 180	<i>T. barberi</i>	1.51		
La Purísima	2 180	<i>T. barberi</i>			
<i>T. pallidipennis</i>	3.84				
Palmar de Bravo	2 180	<i>T. barberi</i>	1.66		
San Miguel Xaltepec	2 150	<i>T. barberi</i>	1.62	55.5	40.0
Jesús Nazareno	2 150	<i>T. barberi</i>	5.00		
Cuesta Blanca	2 380	Ninguna	0.00		
San José Bellavista	2 270	Ninguna	0.00		
Tehuitzo	2 380	Ninguna	0.00		
San Francisco Piletas	2 400	Ninguna	0.00		

Cuadro IV
FACTORES BIÓTICOS Y ABIÓTICOS DETERMINANTES
PARA SER CASO DE TRYpanosomosis
AMERICANA EN EL MUNICIPIO DE PALMAR DE
BRAVO, PUEBLA, MÉXICO, 2000

Factor biótico o abiótico	Valor de χ^2	Valor de p
Habitar en localidades ubicadas entre los 2 150 a 21 800 m snm	9.03	0.0026
Habitar en localidades donde se capturaron triatomínos	9.03	0.0026
La edad del encuestado	46.25	0.0000
Años de radicar en la localidad del encuestado	51.52	0.0000
Habitar en viviendas con paredes de madera, palma o cartón	10.15	0.0013
Actividad ocupacional campesino	8.06	0.0170
Criar cerdos de traspatio	5.40	0.0385
Pertenecer al Progresa*	4.20	0.0090

m snm: metros sobre el nivel del mar

* Progresa: Programa de Educación, Salud y Alimentación

Cuadro V
RELACIÓN DE FACTORES BIÓTICOS Y ABIÓTICOS QUE FUERON DETERMINANTES PARA UNA MAYOR PREVALENCIA DE CASOS EN LOS ENCUESTADOS QUE PERTENECIERON AL PROGRESA, PALMAR DE BRAVO, PUEBLA, MÉXICO, 2000

	Grupo del Progresa*	Grupo no Progresa*
Número de casos	13/17	4/17
Prevalencia	6.80%	2.02%
Hacinamiento	mayor	menor
	$\chi^2 = 36.6$ con $p = 0.0023$	
Viviendas más precarias	mayor	menor
	$\chi^2 = 10.12$ con $p = 0.0010$	
Viviendas con piso de tierra	mayor	menor
	$\chi^2 = 26.07$ con $p = 0.0000$	
Conviven con más de un perro	mayor	menor
	$\chi^2 = 10.2$ con $p = 0.0013$	
Presencia de ratas y ratones dentro y fuera de las viviendas	mayor	menor
	$\chi^2 = 4.93$ con $p = 0.0260$	

* Progresa: Programa de Educación, Salud y Alimentación

los estados que pertenecieron a la región de transición avanzada, y una mortalidad en los adultos arriba del promedio nacional. En este estudio, empleando el méto-

do de Hanlon,²¹ encontramos que en los años de 1994 a 1998 los principales problemas de salud del municipio de Palmar de Bravo, Puebla, fueron la neumonía e influenza, las enfermedades infecciosas intestinales, las deficiencias de la nutrición en todos los grupos de edad, las afecciones en el periodo perinatal y los accidentes. En las zonas reconocidas como endémicas de la tripanosomosis americana se le ha detectado relacionada con las enfermedades llamadas sociales, y preferentemente dentro del ámbito rural.¹ En el anterior contexto realizamos la determinación de la relación de la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* y los factores de riesgo bióticos y abióticos del medio ambiente estudiado.

En las encuestas seroepidemiológicas hechas en población abierta en México sobre la tripanosomosis americana, que se han efectuado en zonas endémicas y no endémicas, la toma de muestra, tipos de muestreo, grupos etáreos, pruebas serológicas y antígenos (cepas de *T. cruzi*) han sido heterogéneos. En consecuencia, estas variables pueden tener efecto sobre los valores de seroprevalencia.¹²⁻¹⁴ Sólo dos encuestas realizadas, una en el estado de Jalisco²² y la Encuesta Nacional de Seroepidemiología (ENSE) consideraron los datos oficiales de población de las localidades o de los estados estudiados. La ENSE fue diseñada para detectar prevalencias nacionales, regionales y estatales de enfermedades con impacto en la salud pública de México; probablemente excluyó a localidades rurales de difícil acceso; salvo lo anterior, es representativa de la realidad nacional.¹⁵

El estudio actual utilizó un muestreo aleatorio simple, considerando en el diseño del tamaño de muestra la población censada en edad productiva en el municipio de Palmar de Bravo.

Otro factor que se ha observado influye de forma marginal en el valor de la seroprevalencia es el tipo de antígeno empleado para detectar anticuerpos contra *T. cruzi* en una zona determinada.¹⁴ En este estudio se utilizaron dos antígenos diferentes y cuatro pruebas serológicas para el análisis de 390 muestras séricas. A todas estas se les detectaron, primero, anticuerpos contra *T. cruzi* con las pruebas tamiz ELISA-INC y HAI-INDRE. La eficiencia de estas pruebas: sensibilidad, especificidad, VP+ y VP- estuvieron dentro de un rango aceptable, con un índice de correlación K de 0.73; se obtuvo una concordancia sustancial entre ellas ya que coincidieron en 10 muestras; cuatro de las muestras negativas en ELISA-INC, y positivas por la prueba tamiz HAI-INDRE, resultaron apenas positivas a diluciones de 1:8 en tres de los casos y sólo una dio positiva a 1:32. Las tres muestras que resultaron negativas por la prueba tamiz HAI-INDRE se ubicaron por ELISA-INC cercanas al valor de corte (cuadro II).

Los resultados obtenidos con las pruebas tamiz indicarían que la detección de casos con títulos muy bajos de anticuerpos y cercanos al límite de la prueba es un problema, ya que al ajustarlas a alta sensibilidad se incrementa el riesgo de falsos positivos, como al parecer es el caso, pues las muestras discordantes se ubicaron a diluciones bajas o a valores cercanos al límite de detección de las pruebas.

La concordancia entre la prueba serológica y las confirmatorias tamiz entre los dos institutos fue casi perfecta con un índice K 0.82, resultado que confirma un estudio previo entre ambos institutos, llevado a cabo con sueros de pacientes crónicos, donde la concordancia fue de K 0.83.²³ Los casos positivos así obtenidos tienen un alto grado de confiabilidad.

Las diferencias observadas pudieran deberse, entre otras causas, al método de preparación del antígeno que puede enriquecer algún componente inmunodominante no identificado, aunque esta variable pareciera no ser uno de los factores más importantes, ya que en los casos se utilizó tan sólo el extracto antigénico, proveniente de una cepa de *T. cruzi*, y otro en donde se utilizaron las mezclas de 15 cepas; en ambos existieron muestras no reconocidas por uno y otro extracto. Vale la pena resaltar que las muestras estudiadas en este trabajo provienen de individuos que viven en zonas de baja endemia para la infección y, en consecuencia, los títulos de anticuerpos específicos suelen ser más bajos que los de individuos que se encuentran en zonas de alta transmisión.* La mayoría de las encuestas seroepidemiológicas publicadas en México sobre la tripanosomosis americana han sido realizadas en localidades que están a menos de 2 000 m snm.²⁴

En este estudio se obtuvo una prevalencia de casos positivos de 7% entre 244 voluntarios habitantes de cinco localidades a una altitud entre los 2 150 a 2 180 m snm, con una temperatura promedio anual de 18 °C; además, en estas áreas se capturaron triatominos. Mientras que entre los 146 voluntarios de 10 localidades pequeñas y dispersas entre sí, las cuales estuvieron a una altitud entre los 2 280 a 2 500 m snm, con una temperatura promedio anual 14 °C, no hubo casos positivos ni se capturaron triatominos.

En otro estudio en una localidad rural de Puebla, localizada a una altitud de 1 800 m snm y con temperatura promedio de 22 °C, la prevalencia contra *T. cruzi* fue de 10%.¹⁴ Estas observaciones dan apoyo al concepto de que la altitud y el clima son factores importantes para la existencia del vector y el riesgo de infección por *T. cruzi* en humanos y reservorios.

Los indicadores entomológicos obtenidos en este trabajo pueden tener sesgo por factores culturales de la población, debido a que en las capturas no todos los residentes permitieron buscar al vector en sus viviendas. No obstante, las especies de triatominos reconocidas en este estudio fueron *T. barberi*, capturado en cinco localidades, y *T. pallidipennis*, capturado en una localidad. Además, se colectaron ninfas y huevecillos de *T. barberi* que indicaban colonización reciente e índice de infestación natural con *T. barberi*, lo que supone transmisión vectorial de *T. cruzi* a humanos y reservorios. En México la presencia de los triatominos ha sido reconocida en todo el país preferentemente por debajo de los 2 000 m snm²⁴ pero el *T. barberi* es capaz de vivir en zonas elevadas de clima templado a frío siendo uno de los principales vectores de importancia epidemiológica en México.³

Habitar en viviendas con paredes de paja, láminas de cartón o madera fue un factor abiótico determinante para ser caso positivo con una RM de 1:6, asociación similar a la encontrada en la ENSE que a escala nacional tuvo una RM de 1:3.¹⁵

Los años de radicar en el municipio fueron un factor abiótico determinante directo: a más años de residencia mayor riesgo. Puede ser que exista mayor oportunidad de reinfección al residir en localidades donde existen triatominos y animales infectados con *T. cruzi*.

El grupo etáreo de los voluntarios fue un factor biótico determinante para ser caso positivo; la seroprevalencia aumentó con la edad; en el rango de 15 a 25 años la prevalencia fue de 2.1%, y aumentó entre la tercera y cuarta década, cerca de 7%, observación que coincide con los hallazgos en la ENSE.¹⁵ La edad promedio de nuestros casos positivos fue de 41.4 años y los mayores de 36 años reconocieron a los ejemplares de triatominos.

La TA está presente en poblaciones humanas del medio rural.² En este estudio el ser campesino fue otro factor abiótico determinante para ser caso positivo con un RM de 1:4, tal vez porque estas personas están, además, expuestas a los triatominos silvestres.

El Progresa atiende población en pobreza extrema. El estar integrado a éste fue un factor abiótico determinante con un RM de 1:4. Se detectaron en el grupo Progresa a 13/17 casos positivos; este grupo de población se distingue de los restantes (51%) voluntarios también, pobladores de este municipio de ámbito rural, porque sus viviendas son las más precarias, conviven en forma directa con un reservorio importante de *T. cruzi* como son los perros⁶ e indirectamente con ratas y ratones.²⁵ Además, observamos que el tamaño de los terrenos en los que habitan las familias integradas al Progresa no son de tamaño suficiente para albergar

* Monteón et al. Artículo en preparación

a la vez vivienda, corrales de animales y almacenar paja o leña en el patio; estos terrenos están juntos unos de otros formando manzanas en localidades que además carecen de servicios públicos.

Los perros domésticos han sido implicados como el segundo reservorio más importante de *T. cruzi*, y son muy relevantes en el ciclo doméstico por su fuerza de infectividad.⁶ En este trabajo, de 94 perros domésticos analizados 10.6% fueron serorreactivos a *T. cruzi*, cohabitaron en las localidades donde también hubo casos humanos positivos y triatominos. En este estudio los perros resultaron ser reservorios domésticos importantes ($p=0.0013$).

La infección por *T. cruzi* la pudieron haber adquirido, ya sea por ingestión de insectos o roedores infectados, puesto que duermen en pajares y su fuente de proteína son tuzas y ratones de campo.

Los estudios con perros como el segundo reservorio más importante de *T. cruzi* ha sido reconocido ampliamente en Argentina.^{6,26}

En México, por lo tanto, los perros también pudieran ser considerados como un probable reservorio dentro del ciclo doméstico de la TA, por lo cual debiera investigarse esta posibilidad más ampliamente.

La razón de probabilidad de ser caso positivo fue de 1:20, la de tener historial de donación de 1:25 y la razón de probabilidad de que estas dos características se den en un solo individuo fue de 1:11. Datos importantes, ya que los individuos seropositivos asintomáticos son los responsables de la urbanización de la TA donde no existen vectores.

En este estudio demostramos que en el municipio de Palmar de Bravo, Puebla, del ámbito rural, y ubicado a más de 2 000 m snm, existen humanos seropositivos (4%), un probable reservorio doméstico, los perros de los que 10.6 % fueron reactivos a anticuerpos contra *T. cruzi*. Se encontró, además, la presencia de vectores como *T. barberi* y *T. pallidipennis*. Los factores de riesgo más importantes fueron la presencia de triatominos, la altitud (no mayor a los 2 200 m snm), la pobreza extrema, habitación precaria, y la convivencia con reservorios. Los restantes factores que resultaron también determinantes para ser caso positivo, por lo general son comunes al ámbito rural del país.

El empleo de varias técnicas serológicas asegura la confiabilidad de los resultados, y los extractos anti-génicos utilizados, ya sea provenientes de una cepa o varias, parecen no influir el resultado final; sin embargo, será necesario ampliar este tipo de estudios con una muestra de sujetos indeterminados, y así verificar estos hallazgos iniciales, que sugieren que la cepa de *T. cruzi* influye de forma sólo marginal en el resultado.²⁷

Agradecimientos

Dra Manuela Vázquez de la Unidad de Salud de Cuesta Blanca, Dr Delfino Díaz Jiménez de Palmar de Bravo, Dr Jesús Ortiz Castro de Cuacnopalan y MPS Armando Velásquez Merino de San Miguel Xaltepec y a los auxiliares de salud de cada una de estas unidades por su colaboración en reunir a los pobladores y en la toma de muestras. Así como al Lic Pedro Barojas de Rosas, presidente municipal de Palmar de Bravo en 2000, al Dr Jesús Salazar Alba, síndico municipal y a la Sra Patricia Simón, auxiliar de salud de la localidad de Nazareno por su colaboración en las colectas de triatominos, y muestreo a perros. A la bióloga Ma Concepción Moreno Zenteno por su amplia colaboración en este estudio.

Referencias

1. Acha P, Szyfres-Boris. Zoonosis y enfermedades transmisibles al hombre y a los animales: enfermedad de Chagas. Washington, DC: OPS/OMS, 1992: 590-601.
2. Pinto-Dias JC, Wendel S, Brener Z, Camargo ME, Rassi A. Epidemiology of Chagas disease. Sao Paulo: Ed ISBT, 1992:1-5.
3. Guzmán-Bracho C. Epidemiology of Chagas disease in México: An update. Trends Parasitol 2001; 17:372-376.
4. Zárate LG, Zárate RA. Checklist of the Triatominae (Hemiptera:Reduviidae) of Mexico. Int J Entomol 1985; 27:102-127.
5. Vidal-Acosta V, Ibáñez-Bernal S, Martínez-Campos C. Infección natural de chinches Tratominæ con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. Salud Pública Mex 2000; 42(6):496-503.
6. Gurtler RE, Cáceres MC, Rubel DN, Petersen RM, Schweigman NI, Lauricella MA et al . Chagas disease in north-west Argentina: Infected dogs as a risk factor for the domestic transmission of *Trypanosoma cruzi*. Trans R Soc Trop Med Hyg 1991; 85:741-745.
7. Wendel S, Brener Z, Camargo ME, Rassi A. Chagas disease (American trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine. Sao Paulo, Ed. ISBT; 1992:1-3.
8. Guzmán-Bracho C, García-García L, Florián-Verdugo J, Guerrero-Martínez S, Torres-Cosme M, Ramírez-Melgarejo et al . Riesgos de transmisión de *T. cruzi* por transfusión de sangre. Rev Panam Salud Pública 1998; 4(2):590-601.
9. Monteo-Padilla VM, Hernández-Becerril N, Guzmán-Bracho C, Rosales-Encinas JL, Reyes-López PA. American tripanosomiasis (Chagas disease) and blood banking in Mexico City: Seroprevalence and its potential transfusional transmission risk. Arch Med Res 1999; 30:393-398.
10. Camargo ME, Segura EL, Kagan IG, Pacheco-Souza JM, Carvalheiro JR, Yanowsky JF. Normalización del diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en Las Américas: evaluación de tres años de colaboración. Bol Oficina Sanit Panam 1987;102(5):449-463.
11. Secretaría de Salud. PROY-NOM-032-SSA2-2000. Para la vigilancia, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector. México DF: Diario Oficial de la Federación, 21 Nov 2000. 2a sección.
12. Salazar-Schettino PM, Tay ZJ, Ruiz-Hernández AL, De Haro CI, Jiménez J, García-Yáñez Y et al . Seropositividad a *Trypanosoma cruzi* en

- cuatro grupos de población del estado de Oaxaca. Salud Pública Mex 1984; 26(6):589-595.
13. Ruegger-Gutiérrez L, Monteón-Padilla VM, Marcuschamer J, Reyes-López PA. Tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas) encuesta clínico-serológica en un municipio rural oaxaqueño. Arch Inst Cardiol Mex 1993; 63:341-346.
 14. Pérez-Fuentes R, Sánchez-Guillén MC, González-Alvarez C, Monteón-Padilla VM, Reyes-López PA, Rosales-Encinas JL. Humoral nitric oxide levels and antibody immune response of symptomatic and indeterminate Chagas disease patients to commercial and autochthonous *Trypanosoma cruzi* antigen. Am Soc Trop Med Hyg 1998; 58(6):715 -720.
 15. Velasco-Castrejón O, Valdespino JL, Tapia-Conyer R, Salvatierra B, Guzmán-Bracho MC, Magos C et al. Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en México. Salud Pública Mex 1991; 34(2):186-196.
 16. Monteón-Padilla VM, Sosa T, Reyes-López PA. Serological test for American trypanosomiasis: A comparative study. Rev Lat Microbiol Mex 1989; 31:35-38.
 17. Guzmán BC, Floriani VJ, Guerrero MS, Ramírez NA, Hernández MG, Cuauhtécatl HA. Manual de procedimientos de laboratorio del InDRE: diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas. México, DF: InDRE, SSA, 1999:19-37.
 18. Lent H, Wigodzinsky P. Revision of the triatominae (Hemiptera: Reduviidae), and their significance as vector of Chagas disease. Bull Am Mus Nat Hist 1979; 163:124-520.
 19. Sistema Estatal de Protección Civil, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Información Nomenclátor para el estado de Puebla. Localidades, instalaciones diversas, orografía, hidrografía y formas costeras y marítimas. México, DF: INEGI, 1995.
 20. Frenk MJ, Lozano R. Observatorio de la salud: necesidades, servicios y políticas. México DF: Ed Fundación México para la Salud, 1997:28-31.
 21. Pineault R, Daveluy C. La planificación sanitaria: conceptos, métodos, estrategias. 2a ed. Madrid: Masson, 1994:236-239.
 22. Velasco-Castrejón O, Ramírez J, Sánchez B, Trujillo F, Guzmán BC. La enfermedad de Chagas en Jalisco, México. Rev Mex Parasitol 1989; 2:29-32.
 23. Monteón PVM, Guzmán BC, Floriani VJ, Ramos EA, Velasco CO, Reyes LPA. Diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas: autosuficiencia y concordancia interlaboratorios. Salud Pública Mex 1995; 37(3): 232-235.
 24. Vallejo AM, Reyes-López PA. La Trypanosomosis americana ¿Un problema socio médico en México? Arch Inst Cardiol Mex 1996; 66:95-97.
 25. Solís-Franco RR, Romo-Zapata JA, Martínez-Ibarra A. Wild reservoirs infected by *Trypanosoma cruzi* in the Ecological Park "El Zapotal" Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. Mem Inst Oswaldo Cruz 1997; 92(2):163-164.
 26. Gurtler RE, Petersen RM, Lauricella MA, Wisnivesky-Colli C. Infectivity to the vector *Triatomina infestans* of dogs infected with *Trypanosoma cruzi* in north-west Argentina. Ann Trop Med Parasitol 1992; 86(2):111-119.
 27. Monteón-Padilla VM, Ramos EA, Reyes-López PA. Reactividad de sueros de pacientes chagásicos crónicos con extractos de aislamientos mexicanos de *Trypanosoma cruzi*. Rev Biol Trop 1993; 41(3):861-865.