



COMITÉ DE EDUCACIÓN CONTINUA Y CONTINUADA
COORDINADORA: DRA ANA CLAUDIA PERÓN

PROGRAMA CONSULTA AL EXPERTO
COORDINADORA: DRA GRACIELA LEÓN DE GONZÁLEZ

“UNA AGENDA INCOMPLETA: TAMIZAJE DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN DONANTES DE SANGRE”

PROFESORES INVITADOS:

- **DR HÉCTOR ALFREDO BAPTISTA GONZÁLEZ** ^{1,2*} ORCID 0000-0003-0340-0942
- **QBP CINTHYA MARTÍNEZ REYES** ² ORCID 0009-0007-5590-3142
- **MC AURA PATRICIA HERNÁNDEZ OLCÓN** ^{2,3} ORCID 0000-0002-4730-3522
- **DR LUIS RAMÓN CARREÑO DURÁN** ³ ORCID 0000-0003-1815-0907.

¹Hematología-Perinatal, Instituto Nacional de Perinatología ²Medicina Transfusional y Banco de Sangre, Hospital Médica Sur ³Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México, México.

baptistagh@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Chagas (EC) constituye un logro científico único, realizado por el Dr. Carlos Chagas quien describió los aspectos clínicos de la enfermedad, caracterizó su agente etiológico (*Trypanosoma cruzi*) e identificó al vector (vinchuca). La EC o tripanosomiasis americana es un padecimiento crónico causado por el parásito protozooario flagelado *T. cruzi*, que vive y afecta diversos órganos y tejidos. Este parásito puede infectar al humano, contribuyendo a su mantenimiento en la naturaleza a través de tres ciclos distintos e interrelacionados: salvaje o selvático (*enzoótico*), peridoméstico y doméstico. La EC apareció cuando los humanos invadieron el ciclo silvestre de *T. cruzi* y se infectaron. Desde entonces, la transmisión del parásito evolucionó hasta establecerse entre especies de mamíferos reservorios, vectores y seres humanos (1).

El *T. cruzi* ingresa al cuerpo humano a través de micro lesiones que se han contaminado con heces del vector, esto sucede cuando las personas se laceran la piel al rascarse por el prurito que produce la picadura, aunque eventualmente puede atravesar las membranas mucosas intactas. Otras formas de transmisión incluyen la transfusión sanguínea, trasplante de órganos, accidentes de laboratorio, contaminación oral, lactancia materna y la transmisión vertical de madre a hijo (2).

La vía de transmisión sanguínea fue sospechada inicialmente por Mazza en 1930 en Argentina. Tras los primeros estudios serológicos que alertaron sobre el riesgo de transmisión de la EC por transfusión sanguínea y con las primeras comprobaciones serológicas, este mecanismo se convirtió en el segundo en importancia al identificarse donantes de sangre portadores del parásito. Posteriormente, se identificaron receptores infectados demostrándose en pacientes hemofílicos poli-transfundidos una tasa mayor de seroprevalencia contra *T. cruzi* (3) y en pacientes con depresión inmunológica (4).

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

Desde la década de los ochenta, el tamizaje del suministro de sangre ha sido un pilar fundamental de las cuatro iniciativas subregionales para el control de la enfermedad de Chagas. En Brasil, el Programa de Control de la EC se implementó en todas las áreas endémicas y, en 1991, se creó la Iniciativa del Cono Sur, cuyo objetivo era controlar la transmisión de la enfermedad mediante la eliminación del *Triatoma infestans* y el control de los bancos de sangre. Bajo estas intervenciones, la prevalencia serológica contra *T. cruzi* en donantes se redujo del 4.4% en la década de 1980 al 0.2% en 2005 (5).

La transmisión de la EC por transfusión sanguínea se controló en la mayoría de los países latinoamericanos (20 de 21) en 2015(6), y la transmisión vectorial se ha interrumpido en varios países y regiones endémicas. Actualmente, la infección congénita por *T. cruzi* constituye la primera causa de nuevos casos de EC, con una tasa de transmisión madre-hijo de aproximadamente 5% (IC 95%: 4% a 6%) en los países endémicos (7).

En México, la incidencia de la tripanosomiasis americana aumentó de 46,600 a 86,500 casos por año (8, 9, 10). La transmisión congénita se estima en 3.7% (11) y por transfusión sanguínea en 7,800 casos al año de acuerdo con lo reportado por la Comisión Coordinadora de los Institutos Nacionales de Salud y Hospitales de Alta Especialidad, Programa de Acción Específica Seguridad de la Sangre y de las Células Troncales 2013-2018.

Sin embargo, los casos adquiridos por transfusión sanguínea provienen principalmente de reportes en países de baja endemicidad para la EC (Estados Unidos, Canadá y España). Al analizar las características de los donantes, productos y pacientes asociadas con infecciones transmitidas por transfusión, se estima la infectividad de los componentes en donantes con evidencia serológica de infección. La infección por *T. cruzi* en receptores de transfusiones se ha relacionado con donantes confirmados serológicamente y los casos clínicos índice se han descrito principalmente en pacientes inmunocomprometidos.

Todas las transmisiones por transfusión adecuadamente documentadas han involucrado a unidades de plaquetas de aféresis o derivadas de sangre total, incluyendo productos leucorreducidos e irradiados. No existe evidencia de transmisión por glóbulos rojos o productos congelados, mientras que la transmisión por transfusión de sangre total sigue siendo una posibilidad. El seguimiento de los receptores revela una baja infectividad general de los componentes de donantes infectados confirmados serológicamente (1.7%, IC 95%: 0.7-3.5%), siendo mayor para plaquetas (13.3%, IC 95%: 5.6-25.7%) y nula para glóbulos rojos (0.0%, IC 95%: 0.0-1.5%) y plasma/crioprecipitado (0.0%, IC 95%: 0-3.7%). Esto abre la posibilidad de realizar la detección selectiva de *T. cruzi* en donaciones de plaquetas y sangre total (7).

En algunos países de baja endemicidad, probablemente debido a la migración humana y a los cambios ecológicos que facilitan el desplazamiento del vector, cada vez es más frecuente el reporte de casos autóctonos (12).

CRITERIOS DE TAMIZAJE Y DIAGNÓSTICO

Es un criterio generalizado usar únicamente como evento centinela, la identificación peridomiliar de la presencia actual del vector como principal indicador de exposición, a pesar de que el contacto con el vector, en más del 95% de los casos prevalentes, ocurrió 20 a 30 años antes. La herramienta más empleada es la búsqueda serológica de anticuerpos anti-*T. cruzi* en diferentes grupos poblacionales.

Existe una importante heterogeneidad en la prevalencia registrada oficialmente debido a la falta de sistemas de información y vigilancia oportuna. La detección de casos no considera la búsqueda intencionada en personas con exposición previa al vector y se restringe al tamizaje parcial de sangre transfusional. La evidencia sugiere una amplia variación en la sensibilidad de las pruebas según la ubicación geográfica y una alta tasa de discordancia entre los resultados de las pruebas serológicas, particularmente en México (13, 14).

OBJETIVOS

Los objetivos de la presente revisión son:

1. Analizar sistemáticamente la precisión de las pruebas diagnósticas disponibles para la EC, considerando:
 - La variabilidad en la condición geográfica de América.
 - El predominio del vector.
 - La variabilidad genética del protozooario.
2. Identificar las brechas que deben ser atendidas desde la perspectiva del tamizaje de donantes para la detección del *T. cruzi*, para:
 - Contribuir a la mejora y eficacia del diagnóstico de EC.
 - Facilitar su incorporación a las políticas públicas en salud.

LA AGENDA INCOMPLETA.

La EC representa un problema complejo que afecta la salud y la vida cotidiana de las personas y las comunidades. Su etiología, impacto y distribución generalizada están estrechamente relacionados con la migración humana, los cambios en el ecosistema, la pobreza (reflejada en las condiciones de vivienda, las características sociológicas y ambientales de la población expuesta), la falta de atención del sistema de salud en cuanto al tamizaje, diagnóstico, tratamiento farmacológico, intervenciones comunitarias necesarias para el control del vector y el seguimiento de contactos familiares o comunitarios.

Estos factores se interrelacionan con intensidad variable y características particulares en cada región, país y sistema de salud. La migración de las personas, inherente a la condición humana, es determinante para las nuevas manifestaciones de la EC. En la década de los setenta, al agudizarse el deterioro de las condiciones políticas y económicas de Latinoamérica, se acrecentó la migración interna y externa. Pronto aparecieron en países como Estados Unidos y Europa, informes que iban desde reportes de casos hasta estudios serológicos de *T. cruzi* en grupos migrantes latinoamericanos, con prevalencia de hasta 4.2% (IC 95%: 2.2-6.7), siendo los migrantes de Bolivia el grupo con mayor prevalencia, como es el caso en Alemania (15,16,17).

RESERVORIOS

Los primeros habitantes de América entraron en contacto con los vectores y el *T. cruzi* en el ciclo selvático de la enfermedad hace aproximadamente 9,000 años (18). Existen evidencias de la EC en momias exhumadas tanto en Perú como en Chile (19), al identificar el DNA del cinetoplasto de

T. cruzi infectando tanto a humanos como animales (20). Las culturas indígenas de América conocieron bien a los triatomíneos y los diferenciaron de las chinches depredadoras. Es probable que conocieran su capacidad vectorial, aunque este conocimiento se perdió con la destrucción de códices indígenas.

Aunque todas las especies de triatomíneos presentes en las Américas (21) se consideran vectores potenciales de *T. cruzi*, existen amplias variaciones locales y regionales. De las más de 154 especies de triatomíneos (subfamilia *Triatominae*), alrededor de 20 especies de *Panstrongylus megistus*, *Psammolestes*, *Rhodnius prolixus* y *Triatoma infestans* son las más relevantes epidemiológicamente en la transmisión a humanos, principalmente por la contaminación fecal de estas chinches hematófagas, vinchucas o "chinches besuconas" (22, 23).

Se ha identificado la presencia de *T. cruzi* en una amplia variedad de animales, tanto en condiciones silvestres como domesticadas. Se han descrito las preferencias alimentarias del *T. barberi* en roedores, gatos, perros y vacas (24). Después de Brasil, México posee la variedad más abundante de especies en América. Los vectores han sido colectados desde el nivel del mar hasta los 2,400 metros de altitud (21).

Aunque la distribución geográfica del vector se limitó originalmente al continente americano, desde la región de Mesoamérica hasta la Patagonia, esto ha cambiado en los últimos 100 años. La creciente urbanización y la alteración de las condiciones naturales y ambientales de toda la región, acentuadas por la característica inherente al ser humano (y también a muchas formas de vida) que es la migración, son condiciones que han acelerado la exposición a enfermedades transmitidas por vectores. Esto no se limita a la EC, pues incluye también al paludismo, la fiebre amarilla y a la leishmaniasis que han afectado históricamente a la región, y en las últimas décadas ha sido el caso del dengue, la chikunguña y el zika (25). La prevención y el control inadecuados aumentan la incidencia y la carga de la EC.

Trypanosoma cruzi

Es un parásito intracelular que pertenece al reino *Protista* de la clase *Kinetoplastea*, familia *Trypanosomatidae*, caracterizado por la presencia de un solo flagelo y una única mitocondria. Su genoma se encuentra ordenado en una compleja y compacta región dentro de la propia mitocondria, cerca de la base del flagelo, denominada cinetoplasto.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y EVOLUCIÓN

El parásito presenta tres formas de involución: Amastigota, Epimastigota y Tripomastigota (forma alargada con el cinetoplasto localizado posterior al núcleo)

Esta última se encuentra en la sangre de los mamíferos, es la forma infectante y ya no presenta división ulterior. El análisis filogenético indica que los tripanosomas salivares, que agrupa a

aquellos que se transmiten por mordeduras (*T. brucei*), divergieron de los tripanosomas que se transmiten por contaminación fecal (*T. cruzi*) hace aproximadamente 100 millones de años (26).

Hace unos 200 millones de años, cuando Pangea se dividió en dos nuevos continentes, Laurasia (formada por los actuales continentes de América del Norte, Europa y Asia) y Gondwana (formada por los actuales continentes de la Antártida, Australia, África y América del Sur), bajo la hipótesis del supercontinente austral, es posible que *T. cruzi* y los tripanosomas relacionados evolucionaran de forma aislada en los primeros mamíferos terrestres (27,28).

T. cruzi evolucionó a partir de un tripanosoma de murciélago, un escenario conocido como la hipótesis de siembra de murciélagos (27). Este ha sido detectado únicamente en murciélagos sudamericanos con un genotipo específico, TcBat (28). A su vez, TcBat está más estrechamente relacionado con TcI de *T. cruzi*, que se asocia principalmente con zangüeyas y chinches del género *Rhodnius* (27). Los murciélagos infectados con tripanosomas colonizaron Sudamérica hace unos 7-10 millones de años (29).

Posteriormente, varios linajes independientes de tripanosomas de murciélagos cambiaron de huésped a otros mamíferos, facilitados por vectores que se alimentaban tanto de murciélagos como de mamíferos terrestres (30). Uno de estos cambios dio origen a *T. cruzi* en el Plioceno (31). La diversificación de *T. cruzi* en los linajes de unidades de tipificación discreta (DTU) actuales (TcI-TcVI y TcBat) es más reciente, ocurrida hace aproximadamente entre 1-3 millones de años (30).

DIVERSIDAD GENÉTICA

T. cruzi presenta una marcada diversidad genética intraespecífica (32), y se ha intentado identificar las asociaciones entre esta diversidad y la presentación clínica de la EC (32). La estructura genética de la población de *T. cruzi* es predominantemente clonal, inicialmente propuesta como reproducción asexual por fisión binaria junto con intercambio genético ocasional. Sin embargo, existe evidencia de recombinación frecuente por reproducción sexual en las poblaciones naturales, lo que explica la heterogeneidad genética del parásito.

UNIDADES DE TIPIFICACIÓN DISCRETAS (DTU)

El *T. cruzi* se ha estudiado con diferentes herramientas moleculares a lo largo de los años y ha recibido designaciones distintas. Actualmente se emplea el concepto de unidades de tipificación discretas o DTU (33), que se define como el conjunto de poblaciones genéticamente más relacionadas entre sí e identificables mediante marcadores moleculares comunes que actúan como etiquetas. Inicialmente, las DTU se dividieron en dos grupos denominados *T. cruzi* I (TcI) y TcII; posteriormente se describieron seis DTU, de TcI a TcVI.

Los individuos de diferentes regiones endémicas están infectados con distintas poblaciones de parásitos, clasificadas en seis DTU, designadas como *T. cruzi* I (TcI) a *T. cruzi* VI (TcVI) (34). Estas fueron inicialmente definidas como los conjuntos de cepas genéticamente más relacionadas

entre sí que con cualquier otra cepa, identificables por marcadores genéticos, moleculares o inmunológicos comunes (35). Probablemente están involucradas de manera diferente en las manifestaciones clínicas y la gravedad de la enfermedad (36).

Una séptima variante DTU es *TcBat*, encontrada principalmente en murciélagos en Colombia, Panamá, Chile, Ecuador y Brasil. Con el abordaje molecular, existe evidencia adicional de la estructura poblacional de *T. cruzi* y de la variabilidad de subgrupos relevantes en las especies, presentando correlaciones más específicas entre la genética del parásito y las propiedades biológicas, clínicas y epidemiológicas de la EC (33).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS DTU

Todas las DTU se identifican en América del Sur, aunque *TcI* es la principal causa de la enfermedad de Chagas en el norte de América del Sur y América Central, siendo la más común en ciclos silvestres en todo el continente (37). Las distribuciones específicas incluyen:

- En Colombia: el genotipo la está asociado con la infección humana y el vector domiciliado *Rhodnius*.
- En la península de Yucatán, México: el principal vector involucrado en la transmisión de *T. cruzi* es *Triatoma dimidiata*, predominantemente a través de ciclos selváticos y peri domiciliados. *TcI* circula tanto en la península de Yucatán en el vector *T. dimidiata* como en la región noroeste de México (38).
- En Brasil: el estudio de aislamientos de vectores selváticos de *TcI* muestra una amplia diversidad genética y asociación geográfica (39).

ASOCIACIÓN GEOGRÁFICA Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Ciertas cepas aisladas en una región particular pueden representar introducciones al área como resultado del movimiento del huésped. *TcI* se ha asociado con brotes de transmisión oral en el norte de la Amazonia, mientras que en otras regiones de América del Sur *TcII*, *TcV* y *TcVI* están más relacionados con la infección crónica. En el Cono Sur predominan *TcII*, *TcV* y *TcVI*, mientras que *TcIII* y *TcIV* son predominantes en los ciclos selváticos (40).

TcII es la principal DTU detectada en pacientes brasileños de las regiones central y sudoriental, donde también hay registros de *TcVI* como DTU secundaria de *T. cruzi* (33). En el ciclo doméstico de la infección por *T. cruzi*, *TcI* fue ampliamente prevalente en pacientes de América del Norte y Central, Colombia y Venezuela. Mientras que *TcI*, *TcII* y *TcIV* se identificaron en América del Norte, solo *TcI* y *TcIV* se detectaron en los huéspedes y vectores de América Central y algunos casos identificados en Chile y Argentina. *TcI* es la DTU más ampliamente distribuida en Las Américas y está presente tanto en ciclos domésticos como selváticos (32).

CORRELACIÓN CLÍNICA Y BIOLÓGICA

La variación en la parasitemia y el tropismo tisular se correlacionan con la morfología de las formas de *T. cruzi*, ya que diferentes cepas tienen números variables de cada forma (33). Esto constituye evidencia del impacto en las características biológicas y bioquímicas entre subpoblaciones de *T. cruzi*. En estudios de aislamientos en tres áreas geográficas se encontró:

- Venezuela: Donde son menos frecuentes los casos de la EC asociada a cardiomegalia y síndromes mega-visceral.
- Brasil: la miocardiopatía y los megasíndromes son comunes.
- Cuenca del Amazonas brasileño: *T. cruzi* es silvestre y la infección humana es rara.
- Centro y este de Brasil: la infección por *T. cruzi* se asocia comúnmente con síndromes mega-visceral (41).
- Argentina: *TcV* y *TcVI* se asocian más a las formas digestivas de la EC (42).

Sin embargo, aún no existen factores pronósticos que permitan una definición concluyente de los pacientes infectados con *T. cruzi* que desarrollarán formas clínicas sintomáticas (43). En la Tabla 1 se resumen las características antes mencionadas.

Tabla 1. Asociación de las UTD del *T. cruzi* con la presentación clínica y la respuesta inmune (33, 44).

DTU	Transmisión	Presentación clínica	Respuesta inmune
<i>Tcl</i> Colombiana	Selvática y doméstica	Cardiomiopatía y meningoencefalitis, patogénica con parasitemia	TNF, IL2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN-gamma en células cardíacas humanas. TNF- α plasmático más alto en pacientes crónicos vs controles sanos.
<i>TcII/Y</i>	Doméstica	Síndrome mega-visceral o en algunos casos miocardiopatía	Altos niveles de IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, UL-5, IL-6, IL-7A, IL-8. Diversos factores que afectan al sistema inmune.
<i>TcIII/QMM3</i>	Selvática	Síndrome mega-visceral, cardiomiopatía	Variante muy rara en la infección humana.
<i>TcIV/4167</i>	Selvática	Síndrome mega-visceral, cardiomiopatía	In vitro valores aumentados de TNF e IFN- γ .

TcVI/CL	Doméstica	Síndrome mega-visceral y cardiomiopatía	Forma poco agresiva para miocardiopatía. Induce valores elevados de IL-7 en cultivo de células mononucleares periféricas.
TcBat	Selvática	Muertes antropogénicas reportadas en Colombia y Brasil.	Está en evaluación el potencial zoonótico de este genotipo.

LA ENFERMEDAD

La infección por *T. cruzi* presenta dos etapas clínicas evolutivas, separadas por un período indeterminado (18). La fase aguda es más común en niños y se caracteriza por síntomas poco específicos como: fiebre anorexia, taquicardia, manifestaciones cutáneas, signo de *Romaña* (característico pero infrecuente) y conjuntivitis (ocasional); otras manifestaciones son la miocarditis chagásica aguda y la meningoencefalitis y pueden causar una mortalidad de aproximadamente el 5 al 10%. En esta fase se documenta una elevada parasitemia, al cabo de unos meses, los síntomas desaparecen y la enfermedad permanece silenciosa, con dificultad para la detección del parásito en sangre, cuyo diagnóstico se realiza mediante la titulación de anticuerpos anti-*T. cruzi*. Posteriormente hay un periodo indeterminado que precede a la fase crónica, donde la infección puede manifestarse como alteraciones neurológicas, cardíacas, digestivas y cardiodigestivas (45); más del 80 % de los sujetos son asintomáticos. El 10-20 % de los pacientes de la fase crónica presentan síndromes mega viscerales e incluyen megacolon, megaesófago y enteropatía Chagásica (46).

CONSIDERACIONES CLÍNICAS ESPECIALES

La mayoría de los pacientes con EC son diagnosticados durante la forma crónica indeterminada asintomática (ECI). Existen evidencias indirectas en la identificación de los mecanismos mediante los cuales el paciente con EC desarrolla cardiopatía chagásica, síndromes mega viscerales y bien permanece asintomático (hasta en el 80% de los casos), los factores asociados con la progresión de la forma indeterminada a trastornos cardíacos o digestivos están aún en proceso de identificación.

TRASPLANTE DE ÓRGANOS

El trasplante de órganos en pacientes con EC crónica y el uso de órganos de donantes infectados ha sido tema de debate durante muchos años. El creciente número de personas infectadas que ahora viven en regiones no endémicas ha aumentado la posibilidad de que se conviertan en candidatos a trasplante o donantes de órganos. Los reportes en donantes y receptores, tanto con

reactividad serológica como de transmisión de la EC incluyen con mayor frecuencia los casos de trasplante de órganos como riñón y corazón (47).

EVOLUCIÓN SEROLÓGICA Y TRATAMIENTO

La evolución serológica de los sujetos tratados con infección crónica por *T. cruzi* es variable, la tasa de negatividad serológica después del tratamiento es entre el 60-70% en niños tratados antes de los quince años y entre el 30-50% en adultos después de quince a veinte años de seguimiento (48). Hay discrepancias para determinar si posterior al tratamiento con fármacos tripanocidas, se afecta el comportamiento clínico-serológico en los pacientes con EC sintomática en etapa avanzada (49).

MÉTODOS DE LABORATORIO PARA ESTUDIO DEL *T. cruzi*

Existen diversos métodos diagnósticos disponibles orientados a identificar a las personas infectadas, los cuales se clasifican en tres categorías:

- **Métodos directos:** Basados en la detección del parásito mediante microscopía en diferentes muestras clínicas.
- **Métodos indirectos, inmunológicos o serológicos:** Detectan la presencia de anticuerpos específicos contra antígenos del parásito.
- **Métodos moleculares:** Detectan secuencias específicas del material genético del parásito.

La selección del método analítico dependerá de la etapa de la enfermedad, las características clínicas del paciente bajo estudio y el uso previsto de la prueba; el tamizaje en población de baja prevalencia serológica de anticuerpos anti-*T. cruzi*, tamizaje en población de bajo riesgo de exposición al vector, diagnóstico en sujetos inicialmente reactivos y estudio de pacientes.

La Organización Panamericana de la Salud (77) recomienda seleccionar entre las siguientes opciones:

- **Para etapa aguda y pacientes inmunocomprometidos:** Métodos directos que incluyen micro método y gota gruesa, así como la identificación con métodos moleculares.
- **Para etapa crónica y pacientes inmunocompetentes:** se utilizan los métodos indirectos que contemplan:
 - **Métodos altamente sensibles:** Pueden dar resultados falsos positivos, los más empleados son la hemaglutinación, el ensayo inmuno-enzimático (ELISA), la quimioluminiscencia y la electro-quimioluminiscencia.
 - **Métodos sensibles y altamente específicos:** Se utilizan para confirmar la detección de anticuerpos e incluyen la Inmunofluorescencia indirecta y la Inmunolectrotransferencia.

VALIDACIÓN ANALÍTICA Y DESAFÍOS DIAGNÓSTICOS

Un tema central es la incertidumbre que ocurre en la validación analítica de los métodos de laboratorio para el uso previsto del reactivo (comercial o casero), como puede ser los utilizados para el tamizaje de donantes para la integración en el diagrama del caso inicialmente reactivo o la definición del diagnóstico de la EC.

En la actividad de tamizaje en donantes de sangre, los casos verdaderamente positivos se encuentran en la fase crónica que dura toda la vida y son predominantemente asintomáticos, por lo que la información clínica es de poca utilidad para identificar a las personas infectadas. En las etapas indeterminada y crónica, la parasitemia es extremadamente baja y los métodos parasitológicos o moleculares muestran baja sensibilidad y utilidad en los escenarios del tamizaje del donante de sangre.

ESCENARIOS DE RESULTADOS

Como es propio del comportamiento de las pruebas de laboratorio cualitativas, se plantean diferentes escenarios de resultado:

- **Muestra no reactiva o negativa para la EC:** Por consenso sería suficiente para descartar el diagnóstico (50) y por ende proceder a la liberación de la unidad de sangre u órgano sólido, pero se debe señalar el estado del donante sin factor de exposición de riesgo.
- **Muestra con resultados no concluyentes:** Es una discrepancia entre dos pruebas iniciales o entre dos pruebas iniciales reactivas y una tercera prueba no reactiva.
- **Muestra reactiva:** Es aquella que presenta reactividad persistente en al menos dos pruebas con blanco antigénico distinto.

El empleo de dos o más pruebas para definir al caso reactivo o no concluyente puede deberse a diversos factores preanalíticos, pero nos centraremos en esta sección en el desempeño de los métodos con precisión heterogénea (sensibilidad y especificidad) de las pruebas disponibles comercialmente. No existe una prueba de referencia para todas las fases y escenarios clínicos, ya que las pruebas comerciales han demostrado una alta tasa de resultados falsos positivos (51).

Como se puede observar en la Tabla 2, el rendimiento analítico en la comparación de diferentes reactivos comerciales muestra una variabilidad significativa en sensibilidad y especificidad según el fabricante y el país de origen.

Tabla 2. Rendimiento analítico en la comparación de diferentes reactivos comerciales (52).

Prueba		Sen (IC 95%)	Esp (IC95%)	Fabricante/país
ELISA				
Chagatek ELISA		99.40 (96.7-100)	99.24 (97.3-99.9)	Lemos/Argentina
Chagatest ELISA		98.81 (95.8-99.9)	99.62 (97.9-100)	Wiener Lab/Argentina
Chagas ELISA		97.62 (94.0-99.3)	97.71 (95.1-99.2)	Ebram/Brasil
Bioelisacruzi		98.21 (94.2-99.6)	99.24 (97.3-99.9)	Biolab-Mérieux/Brasil
Bioelisa Chagas		100 (97.8-100)	99.24 (97.3-99.9)	Werfen OEM
ABBOTT Chagas EIA		99.40 (96.2-100)	98.09 (95.6-99.4)	ABBOT Labs./EUA
Chagas Hemagen		100 (97.8-100)	95.56 (93.6-98.4)	Hemagen Diag/EUA
Hemaglutinación				
Chagas Imunoserum	HAI	97.62 (94.0-99.3)	78.62 (77.2-83.4)	Polichaco/Argentina
Teste Chagas-HAI		88.09	59.92 (53.7-65.9)	Ebram/Brasil
Imuni-HAI Chagas		100 (97.2-100)	95.80 (92.6-97.9)	WAMA/Brasil
Hemacruzi		99.40 (96.7-100)	97.33 (94.6-98.9)	Biolab-Mérieux/Brasil
Aglutinación				
Serodia-Chagas		100 (97.2-100)	97.70 (95.1-99.2)	Fujireibo/Japón
ID-Chagas test	antibody	97.02 (93.2-99.0)	99.62 (97.9-100)	DiaMed/Suiza
Pruebas rápidas				
Chagas Stat-Pak		94.08 (89.1-97.3)	95.75 (92.1-98.0)	ChemBio Syst./EUA Diagn.

Confirmatorias

RIPA	100 (97.8-100)	100 (98.6-100)	University of Iowa/EUA
IB	98.2 (94.9-99.6)	97.3 (94.6-98.9)	Innogenetics/Bélgica
WB	100 (97.8-100)	97.3 (94.6-98.9)	BioMérieux (Brasil)
IFI	98.2 (94.9/99.6)	98.0 (96.7-99.8)	BioMérieux (Brasil)

IB: Inmunoblot. IFI: inmunofluorescencia. RIPA: Radioinmunoprecipitación. WB: western-blot. Sen: sensibilidad. Esp: especificidad.

ANÁLISIS DE CAUSAS DETERMINANTES DEL DESEMPEÑO ANALÍTICO

En el análisis de las causas determinantes o contribuyentes para explicar las diferencias en el desempeño analítico de las pruebas de laboratorio para la EC, se destacan:

Estadio clínico de la enfermedad: que se dividen en la fase aguda la cual permite detectar directamente el parásito mediante técnicas de biología molecular y técnicas parasitológicas (*xenodiagnóstico*) y en la fase crónica se observa una parasitemia baja e intermitente (53, 54, 55).

Evolución serológica: La infección aguda conduce a seroconversión y las inmunoglobulinas específicas anti-*T. cruzi* (IgG, IgM e IgA) son detectables por largos períodos mediante métodos serológicos como: ELISA, fijación del complemento, técnica de anticuerpos fluorescentes, hemaglutinación, ensayo de radioinmunoprecipitación (RIPA), pruebas rápidas (inmunocromatografía de flujo lateral, ICFL), western blot (55)

CRITERIOS DE LA OMS Y VALIDACIÓN DE PRUEBAS

La Organización Mundial de la Salud (56, 58, 77) estableció que el diagnóstico de casos crónicos debe implicar dos métodos serológicos de plataforma distinta y con antígenos diferentes, la sensibilidad de las técnicas de ELISA debe ser >99% y para otras metodologías entre 96-98% considerando que los falsos negativos en sujetos infectados deben ser entre 1.6-2.5% (56).

Los resultados falsos positivos pueden deberse a reacciones cruzadas con otras enfermedades parasitarias, especialmente la *Leishmania spp* o *T. rangeli*. En caso de resultados ambiguos o discordantes, se debe utilizar una tercera técnica para confirmar la infección, lo que genera un mayor costo, pérdida en el seguimiento de los pacientes y demoras en el inicio del tratamiento (58).

Como se muestra en la Tabla 2 (rendimiento analítico en la comparación de diferentes reactivos comerciales), un estudio colaborativo de los centros de sangre de América Latina y la OMS evaluó 19 ensayos de detección entre 2001 y 2005 (52), encontrando que 61.0% de muestras

caracterizadas como positivas, 2% como negativas, 2% como no concluyentes (excluidas del análisis), presentan una variación considerable en sensibilidad (88-100%) y especificidad (60-100%). En general los inmunoensayos enzimáticos tuvieron mejor desempeño, cuatro EIA alcanzaron parámetros superiores al 99%. De los ensayos confirmatorios, solo el RIPA mostró 100% de concordancia.

La Tabla 3 presenta una compilación de los principales antígenos identificados entre 1985 y 2001, información crucial para entender la variabilidad en las pruebas diagnósticas.

Tabla 3. Principales antígenos serológicos de *Trypanosoma cruzi* identificados entre 1985 a 2001. (57).

Antígeno, función/localización	Cepa/linaje de <i>T. cruzi</i>	Tc	Homologías de secuencias	GenBank
1F8	Y (TcII)	-		X02838
Ag1, -2, -7, -13, -30, -36	Miranda/76 (TcI)	-		M21330 (Ag1); M21582 (Ag7/SAPA); M21331 (Ag36)
FCaBP (proteína flagelar que se une al calcio)	ADNc de Sylvio X-10/4 (TcI)	1F8		L26971
FRA (antígeno flagelar)	repetitivo Dm28c (TcI)		Ag1 (FRA);	L09564 (FRA);
CRA (antígeno citoplasmático)	repetitivo		Ag30 (CRA)	J04016 (CRA)
JL7, -9	ADNc del epimastigote de Tulahuen 2 (TcVI)		Ag1 (JL7); Ag36 (JL9)	
SAPA (antígeno de fase aguda desprendido; región de repetición C-terminal de trans-sialidasa)	Miranda/76 (TcI)	Ag7		M21582

Antígeno, función/localización	Cepa/linaje de <i>T. cruzi</i>	Tc	Homologías de secuencias	GenBank
TCR27, -39, -69	Silvio X-10/4 (Tcl)		Ag30 (TCR27); Ag2 (TCR39)	
MAP (proteína asociada a microtúbulos)	ADNc del epimastigote de Tulahuen 2 (TcVI)		Ag36; JL9	AF158722
TcD (proteína tripomastigote)	Tulahuen (TcVI)		Ag13	M82834
CA-2	CA-1/65 (TCI)		Ag2	M92049
B13 (membrana superficial del tripomastigote)	Y (TcII)		Ag2; TCR39	AY325808
H49 (región de unión del flagelo)	G (Tcl)		Ag1; JL7; FRA	U16294
F29 (proteína transportadora de calcio)	Miranda/76 (Tcl)		1F8; FCaBP	Z54193
Tc40	G (Tcl)		TCR69	U24190
TcE, TcLo1.2, TcF	No indicado		TCR69; T40 (TcE); TcF es la fusión de Ag2 /TcD (Ag1 3) / TcE (TCR69)	
KMP-11 (proteína de membrana cinetoplástica)	ADNc del epimastigote (TcII)	Y -		AJ000077

ARG, Argentina; BOL, Bolivia; BRA, Brasil; CHI, Chile; COL, Colombia; ECU, Ecuador; SAL, El Salvador; VEN, Venezuela; USA, originarias de regiones endémicas.

RENDIMIENTO DE PRUEBAS POR REGIÓN GEOGRÁFICA

La sensibilidad para las pruebas de las marcas comerciales de Ortho, Wiener y Hemagen tendió a ser más baja en las muestras de los sujetos nacidos en México y más alta en las de América del Sur, las muestras de América Central mostraron resultados intermedios. Los análisis de reactividad de anticuerpos fueron consistentes con estos resultados, y la reactividad más baja se observó en las muestras de México. Como se observa en la Tabla 4, los análisis de reactividad de anticuerpos fueron consistentes con estos resultados, observándose la reactividad más baja en las muestras de México.

Tabla 4. Desempeño de diferentes pruebas para la detección de anticuerpos IgG contra T. cruzi en diferentes etapas clínicas (58)

Prueba	Desempeño	Donante		Consenso		México*	América Central*	América del sur*
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo			
Hemagen ELISA	Sen	88.0 (84.8-90.7)		90.7 (87.7-93.1)		82.9	93.1	93.1
	Esp	100 (98.8-100)		99.6 (98.2-99.9)		(74.1-89.2)	(80.3-93.7)	(84.9-97.0)
	VPP	100 (99.1-100)		99.7 (98.7-99.9)				
	VPN	83.3 (79.0-87.0)		87.5 (83.6-90.7)				
Ortho ELISA	Sen	92.4 (89.7-94.7)		95.2 (92.9-96.9)		85.1	95.4	97.2
	Esp	100 (99.7-100)		99.7 (98.2-99.9)		(76.5-90.9)	(88.8-98.2)	(90.5-99.5)
	VPP	100 (99.2-100)		99.7 (98.8-99.9)				
	VPN	88.7 (84.9-91.9)		93.2 (89.9-95.6)				
Wiener ELISA	Sen	94.0 (91.5-95.9)		96.2 (94.1-97.7)		91.4	96.5	98.6
	Esp	99.3 (97.6-99.9)		98.1 (95.9-99.3)		(84.1-95.6)	(90.4-99.0)	(92.6-99.9)
	VPP	99.5 (98.4-99.9)		98.7 (97.2-99.5)				
	VPN	99.8 (87.2-94.7)		94.5 (91.4-96.7)				
InBios CDP	Sen	97.4 (95.9-98.6)		99.1 (97.9-99.7)		97.8	98.8	98.6
	Esp	92.3 (88.8-95.0)		90.5 (86.7-93.5)		(92.5-99.6)	(93.8-99.9)	(92.6-99.9)
	VPP	95.4 (93.3-97.1)						
				94.1 (91.7-96.0)				



VPN	95.5 (92.4-97.5)	98.6 (96.5-99.6)
-----	------------------	------------------

Valores presentados en mediana e intervalo de confianza del 95 %. Sen. Sensibilidad (%). Esp. Especificidad (%), VPP. Valor predictivo positivo (%). VPN. Valor predictivo negativo (%). *Reporte de donantes de sangre, se reporta únicamente sensibilidad.

CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO DE PRUEBAS

El uso simultáneo de dos pruebas optimiza los parámetros de sensibilidad y especificidad, y puede ser rentable en entornos de alta prevalencia. Sin embargo, cuando hay baja prevalencia la realización de pruebas universales mediante dos ensayos no es práctica, por lo que la mayoría de los programas utilizan una prueba como tamizaje inicial y una segunda prueba solo para resultados positivos del tamizaje.

Para el establecimiento del orden de las pruebas es crucial una prueba de detección de alta sensibilidad inicial y eventualmente con especificidad alta para evitar falsos positivos, por ejemplo: en una población con prevalencia del 1.5% la especificidad debe ser >98.5% para evitar que los falsos positivos superen a los verdaderos positivos (59).

DESAFÍOS REGIONALES

Se han reportado altas tasas de discordancia en México (60, 14) con resultados falsos negativos y con menor reactividad de anticuerpos. La revisión de la literatura sobre la diversidad genética de *T. cruzi* en vectores triatominos y huéspedes mamíferos, incluyendo casos humanos en EUA (32), revela que hay una alta proporción de infecciones en migrantes mexicanos. El *Tcl* que predomina en México está ampliamente distribuido en América predominando en infecciones humanas en Norte de América del Sur y América Central (61).

La baja reactividad en América Central en comparación con América del Sur puede estar relacionada con diferencias entre *Tcl* y *TcII*, *TcV* y *TcVI*, pero la reactividad marcadamente menor en los especímenes mexicanos no fue únicamente resultado del predominio de *Tcl*. Las diferencias entre las cepas son poco entendidas dentro de las DTU de *Tcl* y también pueden ser responsables de la variabilidad geográfica observada en la respuesta inmunitaria (62).

Además, las pruebas basadas en lisados de parásitos completos o antígenos crudos son mucho menos reproducibles y más difíciles de estandarizar que las basadas en antígenos recombinantes.

La plataforma analítica de ELISA es el método más utilizado y su versatilidad ha permitido múltiples modificaciones de ensayos permite acomodar varios antígenos, como lisado de células de *T. cruzi*, antígenos purificados, antígenos recombinantes y antígenos excretados-secretados de tripomastigotes. Esta característica explica los numerosos ELISA identificados. Son escasos los reactivos comerciales de ELISA anti-*T. cruzi* aprobados por la FDA (63). Las pruebas de ELISA de antígenos recombinantes, identificadas en el 50% de las pruebas de ELISA disponibles

comercialmente en esta revisión, muestran una mejor especificidad contra *T. cruzi* y previenen la reactividad cruzada.

Entre las desventajas de las pruebas de ELISA se encuentran la técnica manual, mayor tiempo de respuesta, necesidad de personal capacitado y equipo especializado, interpretación compleja de los datos y resolución de problemas que requiere mucho tiempo. Además, su uso se limita principalmente al diagnóstico de Chagas crónico y al tamizaje de donantes. Las pruebas de ELISA son factibles y de costo relativamente bajo, con un buen rendimiento y con sensibilidades que oscilan entre el 77.4% y el 100%, con especificidades que oscilan entre el 84.2% y el 100%.

Para las plataformas de quimioluminiscencia (CMIA) que emplean antígenos recombinantes, se han emitido recomendaciones para su empleo en donantes (56). En la evaluación de reactivos CMIA comerciales que utilizan diferentes antígenos blancos, han sido valorados en diferentes poblaciones con EC crónica, pero no bajo un protocolo específico de verificación en donantes de sangre. La sensibilidad media es del 91.1% y la especificidad media es del 99.8% (63).

Si bien la OPS favorece las pruebas de ELISA y CMIA para donantes debido a las imprecisiones mínimas y los ahorros sustanciales de costos (58), las complejidades regulatorias también pueden impedir la implementación de las pruebas de diagnóstico rápido (PDR).

Pruebas de diagnóstico rápido (PDR)

En el reporte de estudios de PDR en muestras de donantes de sangre, las pruebas disponibles comercialmente utilizan antígenos recombinantes, sin presentar detalle sobre los antígenos por ser de propiedad industrial. En general, el rendimiento de las pruebas en la etapa crónica reveló una sensibilidad media del 94.6% y una especificidad media del 91.7% (63), aunque hay reactivos de PDR con especificidad baja (78.5%), en general se mantienen por encima del 90%.

Métodos moleculares

Los métodos moleculares permiten la detección de variantes específicas, pero dependen de la presencia del parásito, lo que limita su utilidad a los niveles de parasitemia (64). Hay distintos protocolos de PCR con resultados desiguales, probablemente debido a diferencias en el volumen de sangre procesada, el procedimiento de extracción de DNA o la región de DNA de *T. cruzi* amplificada. Los métodos moleculares permiten la identificación directa del parásito al detectar la presencia de material genético (65, 63). Mediante métodos de PCR cuantitativa (66), la sensibilidad de la PCR varía de 0.8 parásitos/mL (tasa de aciertos positivos del 50%) a 2.0 parásitos/mL (tasa de aciertos positivos del 95%), con especificidad del 100% y concordancia con otros métodos de PCR hasta del 90%. Dependiendo de los métodos de PCR y de la fase de la enfermedad (63), la sensibilidad varía del 58.88 al 100%, mientras que la especificidad media varía del 68.8% al 100%.

El diagnóstico de la EC es complejo debido a la dinámica de la parasitemia en las fases clínicas de la enfermedad. Las pruebas moleculares detectan el parásito en todas las fases clínicas, siendo la etapa aguda donde se encuentra la mayor parasitemia, mientras que en la etapa crónica es escasa. En un estudio con pacientes de la región de Atacama en Chile, con EC en diferentes etapas clínicas (67), se les realizó PCR *T. cruzi* a 64 pacientes, con resultado positivo en 35 (54.7%), de los cuales 10 (28.6%) fueron asintomáticos y 25 (71.4%) sintomáticos; la PCR dio negativa en 16 (55.2%) asintomáticos y 13 (44.8%) sintomáticos. Con respecto al compromiso orgánico, los que tuvieron PCR positiva 32% fue colon, 12% esófago y 32% de corazón y con PCR negativa colon 31%, 23% esófago y 31% colon, el resto de los pacientes tuvo compromiso en dos órganos. (Tabla 5). Se detectó parasitemia en 38.4% y 65.7% de los pacientes asintomáticos (en fase indeterminada de la enfermedad) y enfermos (en etapas avanzadas de infección), respectivamente

Tabla 5. Estudio clínico y determinación de la parasitemia en pacientes infectados por *Trypanosoma cruzi* (67).

Condición	PCR positiva (%)	PCR negativa (%)
Asintomático	28.6	55.2
Sintomático	71.4	44.8
Compromiso orgánico		
Colon	32	31
Esófago	12	23
Corazón	32	31

En un estudio de cohorte de pacientes de Colombia en fases aguda y crónica de la EC (68,69), se evaluó el desempeño de las pruebas moleculares (PCR convencional y en tiempo real) para la detección de DNA de *T. cruzi*, cargas parasitarias y DTU. Las cargas parasitarias medianas detectadas fueron 4.69 y 1.33 equivalentes parásitos/mL para las fases aguda y crónica respectivamente. Hay suficiente evidencia que señala el mejor desempeño y utilidad clínica de las pruebas moleculares en sujetos en la etapa aguda de la EC que en aquellos en la etapa crónica (68). Un reporte de metaanálisis mostró una alta heterogeneidad entre los métodos moleculares reportados para la EC cuando se compara su desempeño analítico, en muestras obtenidas en sujetos en fase crónica, donde se supondría se encuentra la mayoría de los donantes de sangre que muestran reactividad serológica (70).

Estos resultados están por debajo de lo deseable para un método analítico habitual, no permiten seleccionar el protocolo óptimo de método molecular para el estudio de la infección por *T. cruzi* en ninguna de sus fases y ha sido obstáculo para la aprobación por parte de las autoridades

regulatorias de diferentes países (63). Ningún método molecular está incluido en el tamizaje de donantes de sangre.

Métodos diversos

Las pruebas de hemaglutinación indirecta (HAI) no están aprobadas por la FDA en el tamizaje de donantes (63). Sin embargo, sin contar con la validación para este uso previsto, algunos países latinoamericanos, incluyendo México, las han aprobado por sus autoridades regulatorias dentro del diagrama de flujo del donante con discrepancia en los resultados del tamizaje o como prueba confirmatoria para el diagnóstico de EC crónica. La sensibilidad media es del 95.5% y la especificidad media del 91.3%. El sesgo de lectura y las muestras con menor reactividad llevan a resultados discrepantes, por lo que se debe considerar cuidadosamente su uso, especialmente en la detección de donantes en grandes centros (52)

Las pruebas de inmunofluorescencia indirecta están disponibles bajo autorización de la Unión Europea (63), sin haber reportes en el abordaje del donante de sangre; siendo una técnica serológica que la OMS (58) ha incluido como parte del estándar de referencia para el diagnóstico de la EC crónica, sin estudios analíticos recientes que revaloren su desempeño analítico.

Existen pruebas comerciales y caseras, bajo el principio de Inmunolectrotransferencia (WB), algunas con licencia expedida por autoridades sanitarias para la confirmación diagnóstica de la EC crónica, pero fuera del contexto del diagrama de estudio de donantes de sangre. No hay estudios comparativos de esta plataforma (63).

Comparación de métodos

Aunque existe experiencia reportada en la comparación de diferentes métodos (58) para evaluar el desempeño de las pruebas, en éstas se muestra sesgo de selección al incluir muestras de sujetos con EC crónica e individuos no infectados, sin especificar si fueron donantes de sangre (Tabla 2).

En la estimación de la validez de diferentes métodos de prueba, si bien las pruebas de ELISA y las PDR tienen alta validez para el diagnóstico de EC crónica, las limitaciones incluyen la falta de diseños comparativos, diferente prevalencia de la EC en la población bajo estudio, ausencia de un estándar de referencia, diferentes tipos de ensayos con diferentes valores de sensibilidad y especificidad y la dificultad de detectar el parásito en la fase crónica de la enfermedad. Resalta el uso previsto de la prueba, pues se mezclan donantes de sangre, con muestras obtenidas de otros centros de atención, hasta pacientes (71). Es decir, se consideran indistintamente el uso como prueba de tamizaje a donantes con el uso de la prueba como herramienta de diagnóstico.

Lo mismo ocurre cuando se aplica el criterio de utilizar dos pruebas convencionales para el diagnóstico de la EC crónica, basadas en principios diferentes y en la detección de antígenos diferentes. A pesar de comparar tres o más pruebas, los resultados son difícilmente comparables

en la población de donantes de sangre, pues en el proceso de validación analítica no se incluye a esta población de nuestro interés (53, 72).

La agenda incompleta

La carga de la enfermedad es un indicador que permite estimar las pérdidas en salud a través de la comprobación de todas las causas de muerte: de aquellas que conducen a la muerte prematura y que pueden ser evitadas, de las que provocan discapacidad (no letales), de atribuibles a diferentes factores de riesgo (prevenibles) y de las enfermedades que nos hacen perder años de vida saludables. Bajo esta perspectiva se ha analizado la carga de la enfermedad en las diferentes expresiones y etapas clínicas de la EC. Un impacto en particular se deriva de la falta de reconocimiento y registro de la EC. En México hay alrededor de 1,1 millones de personas infectadas con *T. cruzi* y 29.5 millones en riesgo de infección (73). Sin embargo, se han propuesto estimaciones más altas de hasta 6 millones de casos (74). Las amplias diferencias regionales en la prevalencia o casos notificados pueden interpretarse como el reflejo real de las condiciones ecoepidemiológicas, la amplia diversidad de especies de triatominos, hábitats y condiciones socioeconómicas, o si existen sesgos en la vigilancia de enfermedades entre regiones (75).

La EC representa un problema complejo que afecta la salud y la vida cotidiana de las personas y las comunidades, cuya etiología, impacto y distribución generalizada, está estrechamente relacionada con la migración humana y a los cambios en el eco-ambiente, y estrechamente relacionado a la pobreza de las personas (condiciones de la vivienda), características sociológicas, ambientes de la población expuesta y a la falta de atención del sistema de salud, en cuanto al tamizaje, diagnóstico y tratamiento farmacológico de la EC, así como con las intervenciones comunitarias, urbanas y rurales, necesarias para el control del vector, los contactos familiares o comunitarios.

Estos temas se interrelacionan con intensidad variable y características particulares en cada región. Se debe abandonar la perspectiva biomédica de la EC como elemento único o preponderante, pues esta visión limitada resulta insuficiente para describir, comprender y abordar este problema, que es más profundo y requiere intervenciones distintas.

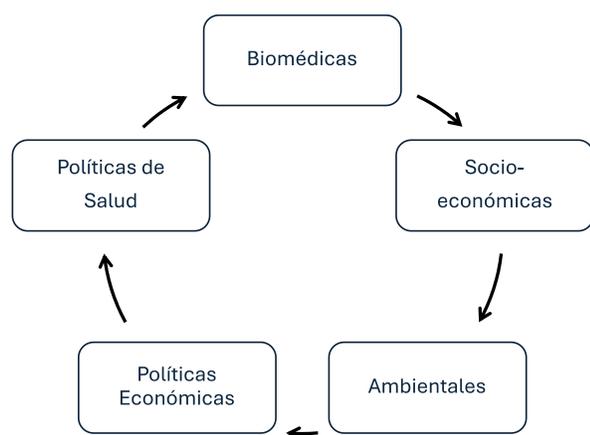


Figura 1. Definición multidimensional de la enfermedad de Chagas en dimensiones socioeconómicas, ambientales y de salud (75. 78).

La fenomenología epidemiológica de la EC (como enfermedad crónica e infección transmitida por vector, la interacción medio ambiente y condiciones socioeconómicas), aunada a la deficiente gestión en la atención primaria para la EC, ha impedido la búsqueda sistemática y la definición diagnóstica de casos con los antecedentes de exposición epidemiológica (signos y síntomas tempranos, reconocimiento domiciliario del vector, enfermos diagnosticados en el mismo domicilio), armonización en los criterios para definición de caso a partir del tamizaje contra *T. cruzi* en donantes de sangre, un sistema eficiente de referencia para diagnóstico y tratamiento de estos casos (76), la definición de caso a partir del tamizaje de transfusiones sanguíneas; la identificación y seguimiento de casos a partir de los otros mecanismos de transmisión del protozooario, como los estudios centinela en gestantes (2), seguimiento de sus hijos, criterios de reactividad para *T. cruzi* en la selección de donantes de órganos sólidos y de células progenitoras hematopoyéticas. Es decir, todas las variables mencionadas anteriormente definen la intención clínica o epidemiológica del estudio serológico, así como la sensibilidad y especificidad y demás rendimiento analítico de las pruebas autorizadas para el tamizaje o diagnóstico del sujeto con anticuerpos contra *T. cruzi*.

Papel del tamizaje a donantes en su incorporación a las políticas públicas.

Según el reporte de la OPS, para el periodo 2018-2020, en las Américas se reportó la recolección de 27.371.775 unidades de sangre y sus componentes (Suministro de sangre para transfusiones en los países de América Latina y el Caribe 2018-2020. OPS/IMT/QR/23-000). Si a este dato se le agrega que la tasa de rechazo o diferimiento de donantes es altamente variable (7-21%, promedio 14%), se traduce que poco más de 31 millones de habitantes de las Américas son tamizados en estado de salud, prácticas de riesgo, presencia de anemia, de marcadores infecciosos. Para el caso de México, en el 2023, casi dos millones de sujetos adultos fueron evaluados en este proceso, cifra superior a la población incluida en las encuestas nacionales de salud. Algunos de estos resultados se incorporan a políticas públicas como es el caso de los sujetos con VIH/SIDA, pues



los estados nacionales cuentan con programas de acción específicos para ello. Otros, como es el caso de VHC, algunos países están en proceso de incorporación de la oferta gratuita del tratamiento para esta infección viral.

Existen diferentes propuestas que, de manera tangencial, señalan la importancia de este tamizaje poblacional, en su caso con la identificación de los casos reactivos y, a partir de esta información, establecer las acciones a seguir en la atención de las necesidades de la región de las Américas (76).

Una parte de la agenda incompleta es que los resultados de ese tamizaje de la EC a donantes, y en su caso la confirmación diagnóstica que tienen establecidas algunas normativas nacionales, no están integrados a un programa o plan nacional específico de acción que consideren la valoración del donante de sangre para que pueda ser segura y eficaz la donación de sangre o componentes. Debe pasar por una serie de etapas, desde las que competen al sujeto y la comunidad para ser donante seguro, hasta las que tienen que ver con el concepto de sangre segura, esfuerzos realizados en los centros de atención a donantes y servicios de sangre que incluyen la valoración clínica, hematológica y de los marcadores infecciosos. Todos los resultados del tamizaje global deben constituirse en fuentes de información confiable y accesible para las autoridades de salud para su incorporación a las políticas públicas del estado. Es imperioso sistematizar la utilidad de los escenarios que genera el tamizaje de *T. cruzi*; la definición en las interpretaciones posibles de un resultado (no reactivo, indeterminado o reactivo), donde se deriva el estado final de la unidad (liberada o destino final) y la consejería al donante ante el resultado reactivo como detonante para el seguimiento sanitario.

REFERENCIAS

1. Bezerra CM, Cavalcanti LP, Souza Rde C, Barbosa SE, Xavier SC, Jansen AM et al. Domestic, peridomestic and wild hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Caatinga area colonised by *Triatoma brasiliensis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014 Nov;109(7):887-98. doi: 10.1590/0074-0276140048. Epub 2014 Aug 22.
2. Chakravarti I, Miranda-Schaeubinger M, Ruiz-Remigio A, Briones-Garduño C, Fernández-Figueroa EA, Villanueva-Cabello CC, et al. Chagas Disease in Pregnant Women from Endemic Regions Attending the Hospital General de Mexico, Mexico City. *Trop Med Infect Dis*. 2022 Jan 11;7(1):8. doi: 10.3390/tropicalmed7010008.
3. Cerisola JA, Rabinovich A, Alvarez M, Di Corleto CA, Pruneda J. Enfermedad de Chagas y la transfusión de sangre [Chagas' disease and blood transfusion]. *Bol Oficina Sanit Panam*. 1972 Sep;73(3):203-21.
4. Almeida EA, Mendes FSNS, Ramos Júnior AN, Sousa AS, Pavan TBS, Mediano MFF, et al. Guidelines for *Trypanosoma cruzi*-HIV Co-infection and other Immunosuppressive Conditions: Diagnosis,

-
- Treatment, Monitoring, and Implementation from the International Network of Care and Studies - 2023. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2023 Dec 8;56:0549. doi: 10.1590/0037-8682-0549-2023.
5. Bello Corassa R, Aceijas C, Alves PAB, Garelick H. Evolution of Chagas' disease in Brazil. Epidemiological perspective and challenges for the future: a critical review. *Perspect Public Health.* 2017 Sep;137(5):289-295. doi: 10.1177/1757913916671160. Epub 2016 Oct 10.
 6. Benjamin RJ, Stramer SL, Leiby DA, Dodd RY, Fearon M, Castro E. Trypanosoma cruzi infection in North America and Spain: evidence in support of transfusion transmission. *Transfusion.* 2012 Sep;52(9):1913-21; quiz 1912. doi: 10.1111/j.1537-2995.2011.03554.x. Epub 2012 Feb 10.
 7. Howard EJ, Xiong X, Carlier Y, Sosa-Estani S, Buekens P. Frequency of the congenital transmission of Trypanosoma cruzi: a systematic review and meta-analysis. *BJOG.* 2014 Jan;121(1):22-33. doi: 10.1111/1471-0528.12396. Epub 2013 Aug 7.
 8. Arnal A, Waleckx E, Rico-Chávez O, Herrera C, Dumonteil E. Estimating the current burden of Chagas disease in Mexico: A systematic review and meta-analysis of epidemiological surveys from 2006 to 2017. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019 Apr 9;13(4):e0006859. doi: 10.1371/journal.pntd.0006859.
 9. Shelly EM, Acuna-Soto R, Ernst KC, Sterling CR, Brown HE. A Critical Assessment of Officially Reported Chagas Disease Surveillance Data in Mexico. *Public Health Rep.* 2016 Jan-Feb;131(1):59-66. doi: 10.1177/003335491613100112.
 10. Newton-Sánchez OA, Espinoza-Gómez F, Melnikov V, Delgado-Enciso I, Rojas-Larios F, Dumonteil E et al. Seroprevalence of Trypanosoma cruzi (TC) and risk factors in Colima, Mexico. *Gac Med Mex.* 2017 Mar-Apr;153(2):179-184.
 11. López-Monteon A, Montero H, González-Constantino RS, Limón-Flores AY, Varela-Cardoso M, et al. Seroprevalence of Trypanosoma cruzi Infection in Pregnant Women Suggests a High Risk for Congenital Transmission in Central Veracruz, Mexico. *Acta Parasitol.* 2020 Sep;65(3):661-668. doi: 10.2478/s11686-020-00197-z. Epub 2020 Apr 16
 12. Lynn MK, Dye-Braumuller KC, Beatty NL, Dorn PL, Klotz SA, Stramer SL, et al. Evidence of likely autochthonous Chagas disease in the southwestern United States: A case series of Trypanosoma cruzi seropositive blood donors. *Transfusion.* 2022 Sep;62(9):1808-1817. doi: 10.1111/trf.17026. Epub 2022 Jul 27.
 13. Verani JR, Seitz A, Gilman RH, LaFuente C, Galdos-Cardenas G, Kawai V, et al. Geographic variation in the sensitivity of recombinant antigen-based rapid tests for chronic Trypanosoma cruzi infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2009 Mar;80(3):410-5.
 14. Guzmán-Gómez D, López-Monteon A, de la Soledad Lagunes-Castro M, Álvarez-Martínez C, Hernández-Lutzon MJ et al. Highly discordant serology against Trypanosoma cruzi in central

-
- Veracruz, Mexico: role of the antigen used for diagnostic. *Parasit Vectors*. 2015 Sep 17;8:466. doi: 10.1186/s13071-015-1072-2.
15. Requena-Méndez A, Aldasoro E, de Lazzari E, Sicuri E, Brown M, Moore DA, et al. Prevalence of Chagas disease in Latin-American migrants living in Europe: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015 Feb 13;9(2):e0003540. doi: 10.1371/journal.pntd.0003540.
 16. Guggenbühl Noller JM, Froeschl G, Eisermann P, Jochum J, Theuring S, Reiter-Owona et al. Describing nearly two decades of Chagas disease in Germany and the lessons learned: a retrospective study on screening, detection, diagnosis, and treatment of *Trypanosoma cruzi* infection from 2000 - 2018. *BMC Infect Dis*. 2020 Dec 3;20(1):919. doi: 10.1186/s12879-020-05600-8.
 17. Sequeira-Aymar E, Cruz A, Serra-Burriel M, di Lollo X, Gonçalves AQ, Camps-Vilà L, et al. CRIBMI (IS-MiHealth) Working Group. Improving the detection of infectious diseases in at-risk migrants with an innovative integrated multi-infection screening digital decision support tool (IS-MiHealth) in primary care: a pilot cluster-randomized-controlled trial. *J Travel Med*. 2022 Nov 4;29(7):taab100. doi: 10.1093/jtm/taab100.
 18. Lidani KCF, Andrade FA, Bavia L, Damasceno FS, Beltrame MH, Messias-Reason JJ et al. Chagas Disease: From Discovery to a Worldwide Health Problem. *Front Public Health*. 2019 Jul 2;7:166. doi: 10.3389/fpubh.2019.00166. PMID: 31312626;
 19. Guhl F, Jaramillo C, Vallejo GA, Yockteng R, Cárdenas-Arroyo F, Fornaciari G, et al. Isolation of *Trypanosoma cruzi* DNA in 4,000-year-old mummified human tissue from northern Chile. *Am J Phys Anthropol*. 1999 Apr;108(4):401-7. doi: 10.1002/(SICI)1096-8644(199904)108:4<401:AID-AJPA2>3.0.CO;2-P.
 20. Aufderheide AC, Salo W, Madden M, Streitz J, Buikstra J, Guhl F, Arriaza B et al. A 9,000-year record of Chagas' disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Feb 17;101(7):2034-9. doi: 10.1073/pnas.0307312101. Epub 2004 Feb 6.
 21. Cucunubá ZM, Gutiérrez-Romero SA, Ramírez JD, Velásquez-Ortiz N, Ceccarelli S, Parra-Henao G et al. The epidemiology of Chagas disease in the Americas. *Lancet Reg Health Am*. 2024 Sep 13;37:100881. doi: 10.1016/j.lana.2024.100881.
 22. Monteiro FA, Weirauch C, Felix M, Lazoski C, Abad-Franch F. Evolution, Systematics, and Biogeography of the Triatominae, Vectors of Chagas Disease. *Adv Parasitol*. 2018;99:265-344. doi: 10.1016/bs.apar.2017.12.002.
 23. Gómez-Ochoa SA, Rojas LZ, Echeverría LE, Muka T, Franco OH. Global, Regional, and National Trends of Chagas Disease from 1990 to 2019: Comprehensive Analysis of the Global Burden of Disease Study. *Glob Heart*. 2022 Aug 24;17(1):59. doi: 10.5334/gh.1150.

-
24. Zárate LG, Zárate RJ, Tempelis CH, Goldsmith RS. The biology and behavior of *Triatoma barberi* (Hemiptera: Reduviidae) in Mexico. I. Blood meal sources and infection with *Trypanosoma cruzi*. *J Med Entomol*. 1980 Mar 31;17(2):103-16. doi: 10.1093/jmedent/17.2.103.
25. Wilke ABB, Farina P, Ajelli M, Canale A, Dantas-Torres F, Otranto D et al. Human migrations, anthropogenic changes, and insect-borne diseases in Latin America. *Parasit Vectors*. 2025 Jan 9;18(1):4. doi: 10.1186/s13071-024-06598-7.
26. Stevens JR, Noyes HA, Dover GA, Gibson WC. The ancient and divergent origins of the human pathogenic trypanosomes, *Trypanosoma brucei* and *T. cruzi*. *Parasitology*. 1999 Jan;118 (Pt 1):107-16. doi: 10.1017/s0031182098003473.
27. Hamilton PB, Teixeira MM, Stevens JR. The evolution of *Trypanosoma cruzi*: the 'bat seeding' hypothesis. *Trends Parasitol*. 2012 Apr;28(4):136-41. doi: 10.1016/j.pt.2012.01.006. Epub 2012 Feb 25.
28. Marcili A, Lima L, Cavazzana M, Junqueira AC, Veludo HH, Maia Da Silva F, et al. A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. *Parasitology*. 2009 May;136(6):641-55. doi: 10.1017/S0031182009005861. Epub 2009 Apr 16.
29. Stadelmann B, Lin LK, Kunz TH, Ruedi M. Molecular phylogeny of New World *Myotis* (Chiroptera, Vespertilionidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA genes. *Mol Phylogenet Evol*. 2007 Apr;43(1):32-48. doi: 10.1016/j.ympev.2006.06.019. Epub 2006 Jul 14.
30. Steverding D. The history of Chagas disease. *Parasit Vectors*. 2014 Jul 10;7:317. doi: 10.1186/1756-3305-7-317.
31. Flores-López CA, Machado CA. Analyses of 32 loci clarify phylogenetic relationships among *Trypanosoma cruzi* lineages and support a single hybridization prior to human contact. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011 Aug;5(8):e1272. doi: 10.1371/journal.pntd.0001272. Epub 2011 Aug 2.
32. Llovera A, Abras A, Fernández-Arévalo A, Ballart C, Heras S, Muñoz et al. Genetic Diversity of *Trypanosoma cruzi* in the United States of America: The Least Endemic Country for Chagas Disease. *Life (Basel)*. 2024 Jul 19;14(7):901. doi: 10.3390/life14070901.
33. Silvestrini MMA, Alessio GD, Frias BED, Sales Júnior PA, Araújo MSS, Silvestrini CMA et al. New insights into *Trypanosoma cruzi* genetic diversity, and its influence on parasite biology and clinical outcomes. *Front Immunol*. 2024 Apr 9;15:1342431. doi: 10.3389/fimmu.2024.1342431.
34. Zingales B, Andrade SG, Briones MR, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, et al; Second Satellite Meeting. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009 Nov;104(7):1051-4. doi: 10.1590/s0074-02762009000700021.

-
35. Tibayrenc M. Integrated genetic epidemiology of infectious diseases: the Chagas model. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1998 Sep-Oct;93(5):577-80. doi: 10.1590/s0074-02761998000500003.
36. Zingales B, Miles MA, Campbell DA, Tibayrenc M, Macedo AM, Teixeira MM et al. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol*. 2012 Mar;12(2):240-53. doi: 10.1016/j.meegid.2011.12.009. Epub 2011 Dec 27.
37. Miles MA, Llewellyn MS, Lewis MD, Yeo M, Baleela R, Fitzpatrick S, et al. The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on *Leishmania*: looking back and to the future. *Parasitology*. 2009 Oct;136(12):1509-28. doi: 10.1017/S0031182009990977. Epub 2009 Aug 20.
38. Monteón V, Triana-Chávez O, Mejía-Jaramillo A, Pennington P, Ramos-Ligonio Á, Acosta K et al. Circulation of Tc Ia discrete type unit *Trypanosoma cruzi* in Yucatan Mexico. *J Parasit Dis*. 2016 Jun;40(2):550-4. doi: 10.1007/s12639-014-0499-2. Epub 2014 Jul 27.
39. Roman F, Iñiguez AM, Yeo M, Jansen AM. Multilocus sequence typing: genetic diversity in *Trypanosoma cruzi* I (TcI) isolates from Brazilian didelphids. *Parasit Vectors*. 2018 Feb 22;11(1):107. doi: 10.1186/s13071-018-2696-9.
40. Duffy T, Cura CI, Ramirez JC, Abate T, Cayo NM, Parrado R, et al. Analytical performance of a multiplex Real-Time PCR assay using TaqMan probes for quantification of *Trypanosoma cruzi* satellite DNA in blood samples. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(1):e2000. doi: 10.1371/journal.pntd.0002000. Epub 2013 Jan 17.
41. Miles MA, Cedillos RA, Póvoa MM, de Souza AA, Prata A, Macedo V. Do radically dissimilar *Trypanosoma cruzi* strains (zymodemes) cause Venezuelan and Brazilian forms of Chagas' disease? *Lancet*. 1981 Jun 20;1(8234):1338-40. doi: 10.1016/s0140-6736(81)92518-6.
42. Monje-Rumi MM, Florida-Yapur N, Zago MP, Ragone PG, Pérez Brandán CM, Nuñez S et al. Potential association of *Trypanosoma cruzi* DTUs TcV and TcVI with the digestive form of Chagas disease. *Infect Genet Evol*. 2020 Oct;84:104329. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104329. Epub 2020 Apr 24.
43. Nielebock MAP, Moreira OC, Xavier SCDC, Miranda LFC, Lima ACB, Pereira TOJS et al. Association between *Trypanosoma cruzi* DTU TcII and chronic Chagas disease clinical presentation and outcome in an urban cohort in Brazil. *PLoS One*. 2020 Dec 2;15(12):e0243008. doi: 10.1371/journal.pone.0243008.
44. Rangel-Gamboa L, López-García L, Moreno-Sánchez F, Hoyo-Ulloa I, Vega-Mémije ME, Mendoza-Bazán N et al. *Trypanosoma cruzi* infection associated with atypical clinical manifestation during

-
- the acute phase of the Chagas disease. *Parasit Vectors*. 2019 Oct 30;12(1):506. doi: 10.1186/s13071-019-3766-3.
45. Echavarría NG, Echeverría LE, Stewart M, Gallego C, Saldarriaga C. Chagas Disease: Chronic Chagas Cardiomyopathy. *Curr Probl Cardiol*. 2021 Mar;46(3):100507. doi: 10.1016/j.cpcardiol.2019.100507. Epub 2019 Dec 1.
46. Suárez C, Nolder D, García-Mingo A, Moore DAJ, Chiodini PL. Diagnosis and Clinical Management of Chagas Disease: An Increasing Challenge in Non-Endemic Areas. *Res Rep Trop Med*. 2022 Jul 22;13:25-40. doi: 10.2147/RRTM.S278135. PMID: 35912165;
47. Salvador F, Sánchez-Montalvá A, Sulleiro E, Moreso F, Berastegui C, Caralt M et al. Prevalence of Chagas Disease among Solid Organ-Transplanted Patients in a Nonendemic Country. *Am J Trop Med Hyg*. 2018 Mar;98(3):742-746. doi: 10.4269/ajtmh.17-0735. Epub 2018 Feb 1.
48. Sguassero Y, Cuesta CB, Roberts KN, Hicks E, Comandé D, Ciapponi A et al. Course of Chronic *Trypanosoma cruzi* Infection after Treatment Based on Parasitological and Serological Tests: A Systematic Review of Follow-Up Studies. *PLoS One*. 2015 Oct 5;10(10):e0139363. doi: 10.1371/journal.pone.0139363.
49. Vallejo M, Reyes PP, Martínez García M, González Garay AG. Trypanocidal drugs for late-stage, symptomatic Chagas disease (*Trypanosoma cruzi* infection). *Cochrane Database Syst Rev*. 2020 Dec 11;12(12):CD004102. doi: 10.1002/14651858.CD004102.pub3.
50. Andrade JP, Marin Neto JA, Paola AA, Vilas-Boas F, Oliveira GM, Bacal F et al. I Latin American Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas' heart disease: executive summary. *Arq Bras Cardiol*. 2011 Jun;96(6):434-42. E. doi: 10.1590/s0066-782x2011000600002.
51. Brossas JY, Griselda B, Bisio M, Guihenneuc J, Gulin JEN, Jauréguiberry S et al. Evaluation of the Chagas Western Blot IgG Assay for the Diagnosis of Chagas Disease. *Pathogens*. 2021 Nov 10;10(11):1455. doi: 10.3390/pathogens10111455.
52. Otani MM, Vinelli E, Kirchhoff LV, del Pozo A, Sands A, Vercauteren G et al. WHO comparative evaluation of serologic assays for Chagas disease. *Transfusion*. 2009 Jun;49(6):1076-82. doi: 10.1111/j.1537-2995.2009.02107.x. Epub 2009 Mar 5.
53. Lozano D, Rojas L, Méndez S, Casellas A, Sanz S, Ortiz L et al. Use of rapid diagnostic tests (RDTs) for conclusive diagnosis of chronic Chagas disease - field implementation in the Bolivian Chaco region. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 Dec 19;13(12):e0007877. doi: 10.1371/journal.pntd.0007877.
54. Sánchez-Vega JT, Almanza-Mackintoy A, Luna-Santillán AV, De La Sancha-Solares T. A case report of Chagas disease in acute phase diagnosed by xenodiagnosis. *Parasitol Int*. 2020 Aug;77:102121. doi: 10.1016/j.parint.2020.102121. Epub 2020 Apr 10.

-
55. Alonso-Padilla J, Cortés-Serra N, Pinazo MJ, Bottazzi ME, Abril M, Barreira F et al. Strategies to enhance access to diagnosis and treatment for Chagas disease patients in Latin America. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2019 Mar;17(3):145-157. doi: 10.1080/14787210.2019.1577731. Epub 2019 Feb 13.
56. Sáez-Alquezar A, Junqueira ACV, Durans ADM, Guimarães AV, Corrêa JA, Provance DW Jr et al. Application of WHO International Biological Reference Standards to evaluate commercial serological tests for chronic Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2020;115:e200214. doi: 10.1590/0074-02760200214. Epub 2020 Jul 24. PMID: 32725060;
57. Bhattacharyya T, Murphy N, Miles MA. Diversity of Chagas disease diagnostic antigens: Successes and limitations. *PLoS Negl Trop Dis.* 2024 Oct 1;18(10):e0012512. doi: 10.1371/journal.pntd.0012512.
58. Rivero R, Santini MS, Lopez-Albizu C, Rodriguez M, Calbosa A, Oliveto D et al. Comparative evaluation of four rapid diagnostic tests that detect human *Trypanosoma cruzi*-specific antibodies to support diagnosis of Chagas Disease in urban population of Argentina. *PLoS Negl Trop Dis.* 2024 Mar 15;18(3):e0011997. doi: 10.1371/journal.pntd.0011997.
59. Whitman JD, Bulman CA, Gunderson EL, Irish AM, Townsend RL, Stramer SL et al. Chagas Disease Serological Test Performance in U.S. Blood Donor Specimens. *J Clin Microbiol.* 2019 Nov 22;57(12):e01217-19. doi: 10.1128/JCM.01217-19.
60. Sosa-Estani S, Gamboa-León MR, Del Cid-Lemus J, Althabe F, Alger J, Almendares O et al; Working Group. Use of a rapid test on umbilical cord blood to screen for *Trypanosoma cruzi* infection in pregnant women in Argentina, Bolivia, Honduras, and Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 2008 Nov;79(5):755-9.
61. Messenger LA, Miles MA, Bern C. Between a bug and a hard place: *Trypanosoma cruzi* genetic diversity and the clinical outcomes of Chagas disease. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2015 Aug;13(8):995-1029. doi: 10.1586/14787210.2015.1056158.
62. Medina-Lopes M das D. Transmissão do *Trypanosoma cruzi* em um caso, durante aleitamento, em área não endêmica [Transmission of *Trypanosoma cruzi* in a case, during lactation, in a non-endemic area]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1988 Jul-Sep;21(3):151-3. doi: 10.1590/s0037-86821988000300010.
63. Ascanio LC, Carroll S, Paniz-Mondolfi A, Ramírez JD. In vitro diagnostic methods of Chagas disease in the clinical laboratory: a scoping review. *Front Microbiol.* 2024 Apr 30;15:1393992. doi: 10.3389/fmicb.2024.1393992.

-
64. Majeau A, Murphy L, Herrera C, Dumonteil E. Assessing *Trypanosoma cruzi* Parasite Diversity through Comparative Genomics: Implications for Disease Epidemiology and Diagnostics. *Pathogens*. 2021 Feb 16;10(2):212. doi: 10.3390/pathogens10020212.
65. Ibañez CF, Affranchino JL, Macina RA, Reyes MB, Leguizamón S, Camargo ME et al. Multiple *Trypanosoma cruzi* antigens containing tandemly repeated amino acid sequence motifs. *Mol Biochem Parasitol*. 1988 Jul;30(1):27-33. doi: 10.1016/0166-6851(88)90129-6.
66. Piron M, Fisa R, Casamitjana N, López-Chejade P, Puig L, Vergés M et al. Development of a real-time PCR assay for *Trypanosoma cruzi* detection in blood samples. *Acta Trop*. 2007 Sep;103(3):195-200. doi: 10.1016/j.actatropica.2007.05.019. Epub 2007 Jun 23.
67. Carrasco M, Andrade W, Jercic MI, Fernández J, Miranda C, Rivera J et al. Estudio clínico y determinación de la parasitemia en un grupo de pacientes infectados por *Trypanosoma cruzi* de la región de Atacama, Chile [Clinical study of measure of parasitemia in patients infected with *Trypanosoma cruzi* in Atacama, Chile]. *Rev Med Chil*. 2003 Aug;131(8):881-6.
68. Hernández C, Cucunubá Z, Flórez C, Olivera M, Valencia C, Zambrano P et al. Molecular Diagnosis of Chagas Disease in Colombia: Parasitic Loads and Discrete Typing Units in Patients from Acute and Chronic Phases. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Sep 20;10(9):e0004997. doi: 10.1371/journal.pntd.0004997. Erratum in: *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Oct 28;10(10):e0005112. doi: 10.1371/journal.pntd.0005112.
69. Sánchez-Camargo CL, Albajar-Viñas P, Wilkins PP, Nieto J, Leiby DA, Paris L et al. Comparative evaluation of 11 commercialized rapid diagnostic tests for detecting *Trypanosoma cruzi* antibodies in serum banks in areas of endemicity and nonendemicity. *J Clin Microbiol*. 2014 Jul;52(7):2506-12. doi: 10.1128/JCM.00144-14. Epub 2014 May 7.
70. Pascual-Vázquez G, Alonso-Sardón M, Rodríguez-Alonso B, Pardo-Lledías J, Romero Alegría A et al. Molecular diagnosis of Chagas disease: a systematic review and meta-analysis. *Infect Dis Poverty*. 2023 Oct 16;12(1):95. doi: 10.1186/s40249-023-01143-7.
71. Caicedo Díaz RA, Forsyth C, Bernal OA, Marchiol A, Beltrán Duran M, Batista C et al. Comparative evaluation of immunoassays to improve access to diagnosis for Chagas disease in Colombia. *Int J Infect Dis*. 2019 Oct;87:100-108. doi: 10.1016/j.ijid.2019.07.022. Epub 2019 Jul 26.
72. Imai K, Murakami T, Misawa K, Fujikura Y, Kawana A, Tarumoto N et al. Optimization and evaluation of the ARCHITECT Chagas assay and in-house ELISA for Chagas disease in clinical settings in Japan. *Parasitol Int*. 2021 Feb;80:102221. doi: 10.1016/j.parint.2020.102221. Epub 2020 Oct 31.

-
73. Hotez PJ, Dumonteil E, Betancourt Cravioto M, Bottazzi ME, Tapia-Conyer R, Meymandi S, Karunakara U, Ribeiro I, Cohen RM, Pecoul B. An unfolding tragedy of Chagas disease in North America. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 Oct 31;7(10):e2300. doi: 10.1371/journal.pntd.0002300.
74. Cruz-Reyes A, Pickering-López JM. Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years--a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006 Jun;101(4):345-54. doi: 10.1590/s0074-02762006000400001.
75. Sanmartino M, Forsyth CJ, Avaria A, Velarde-Rodriguez M, Gómez I Prat J et al. The multidimensional comprehension of Chagas disease. Contributions, approaches, challenges and opportunities from and beyond the Information, Education and Communication field. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2022 Jun 1;117:e200460. doi: 10.1590/0074-02760200460.
76. Sanmartino M, Forsyth CJ, Avaria A, Velarde-Rodríguez M, Gómez I Prat J et al. The multidimensional comprehension of Chagas disease. Contributions, approaches, challenges and opportunities from and beyond the Information, Education and Communication field. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2022 Jun 1;117:e200460. doi: 10.1590/0074-02760200460.
77. Organización Panamericana de la Salud. Uso de pruebas de diagnóstico rápido de la enfermedad de Chagas en las Américas: Protocolo genérico para garantizar estudios de alta calidad. Washington, D.C.: OPS; 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.37774/9789275329382>.
78. Rivera DJ, Barrientos GT, Oropeza AC. Síntesis sobre políticas de salud. Propuestas basadas en evidencia. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2