Antígeno nativo y no nativo para determinar la seroprevalencia de *Trypanosoma cruzi* en mujeres embarazadas en el estado de Morelos, México

Native and non-native antigen to determine the seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* in pregnant women from the state of Morelos, Mexico

Miguel A. Sánchez-Alemán[1], Karla P. Matías-Guzmán[2], Verónica Chávez-López[1], Cruz Portugal-García[1], Celso Ramos-García[1], Antonia Herrera-Ortiz[1], Santa García-Cisneros[1] y María Olamendi-Portugal[1]

[1]Centro de Investigación sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Morelos, México.
[2]Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México.

Financiamiento para la toma de muestras: Laboratorio Silanes S.A de C.V.
Los autores declaran que no hubo conflicto de interés.

Recibido: 23 de julio de 2021 / *Aceptado*: 18 de diciembre de 2021

Resumen

Introducción: La enfermedad de Chagas es una infección parasitaria crónica sistémica, de importancia global, causada por *Trypanosoma cruzi*. *Objetivo*: Determinar la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en mujeres embarazadas en el estado de Morelos, México. *Materiales y Métodos:* Se analizaron 1.620 sueros de mujeres embarazadas mediante dos pruebas serológicas: ELISAc (antígeno crudo nativo) y ELISAr (antígeno recombinante, no nativo). Las muestras reactivas se analizaron posteriormente mediante hemaglutinación indirecta (HAI). Se utilizaron dos enfoques de detección, en paralelo (son positivas las muestras reactivas por cualquier método) y en serie (son positivas las muestras confirmadas por HAI). Se evaluaron factores sociodemográficos y de salud asociados a la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* mediante razones de momios al 95%. *Resultados*: Se obtuvo una seroprevalencia de 4,87% con el diagnóstico en paralelo y de 0,43% en serie. A partir de los resultados en paralelo las mujeres que fueron atendidas en los hospitales generales de Tetecala y Jojutla tuvieron, respectivamente, 2,2 y 2,0 veces mayor posibilidad de presentar anticuerpos contra *T. cruzi* con respecto a las mujeres que fueron atendidas en el Hospital General de Cuautla. *Conclusión*: La prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en mujeres embarazadas en el estado de Morelos fluctuó entre 0,43 y 4,87%, según el antígeno y el abordaje utilizado. Es necesario continuar con la vigilancia de la seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en mujeres embarazadas en el estado de Morelos, México, con las técnicas de mayor sensibilidad y especificidad disponibles.

Palabras clave: seroprevalencia; mujeres embarazadas; *Trypanosoma cruzi*; ELISA; hemaglutinación indirecta.

Abstract

Background: Chagas disease is a globally important chronic systemic parasitic infection caused by *Trypanosoma cruzi*. *Aim:* To determine the prevalence of antibodies against *T. cruzi* in pregnant women from the state of Morelos, México. *Methods:* 1,620 sera from pregnant women were analyzed using two serological tests: ELISAc (native crude antigen) and ELISAr (recombinant, non-native antigen). Reactive samples were subsequently analyzed by indirect hemagglutination (IHA). Two detection approaches were used, in parallel (reactive samples by any method are positive) and serial (samples confirmed by IHA are positive). Sociodemographic and health factors associated with the presence of antibodies against *T. cruzi* were evaluated using 95% odds ratios. *Results:* A seroprevalence of 4.87% was obtained with parallel diagnosis and 0.43% in series. From the parallel results, the women who were attended at the general hospitals of Tetecala and Jojutla had respectively 2.2 and 2.0 times greater chance of presenting antibodies against *T. cruzi* compared to the women who were attended at the General Hospital of Cuautla. *Conclusion:* The prevalence of antibodies against *T. cruzi* in pregnant women from the state of Morelos fluctuated between 0.43 and 4.87%, depending on the antigen and the approach used. It is necessary to continue with the surveillance of the seroprevalence of antibodies against *T. cruzi* in pregnant women from the state of Morelos, Mexico, using the techniques with the highest sensitivity and specificity available.

Keywords: seroprevalence; pregnant women; *Trypanosoma cruzi*; enzyme-linked immunosorbent assay; indirect hemagglutination.

Correspondencia a:
María Olamendi Portugal
molamendi@insp.mx

Introducción

La enfermedad de Chagas (EC) es considerada como la tercera infección parasitaria más común en todo el mundo y es la más importante en América Latina, donde 21 países son endémicos, incluido México[1]. El agente etiológico es el hemoflagelado *Trypanosoma cruzi (T. cruzi)* siendo su principal mecanismo de transmisión el vectorial; sin embargo, la transfusión sanguínea y congénita están adquiriendo especial importancia[2].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica a la EC como una enfermedad tropical desatendida[3]. En el mundo se reportan cada año 41.000 casos nuevos y 12.000 muertes; sólo en América se calculan entre 6-7 millones de personas infectadas, incluyendo dos millones de mujeres en edad reproductiva[4-6] y estas últimas son consideradas como potenciales transmisores de infección congénita. La prevalencia de la infección por *T. cruzi* en mujeres embarazadas presenta una gran variación entre países[7,8], áreas geográficas y localidades urbanas y rurales, que van de 0,7 a 70,5%[1,9], mientras que la frecuencia de la transmisión congénita varía desde 0,7 a 18,2%[10-12]. En el año 2015 la OMS estimó en 1.788 el número de casos de transmisión congénita en México[13].

En el estado de Morelos, México, se han realizado diversos estudios de seroprevalencia de EC en población general, pero ninguno en mujeres embarazadas. La infección congénita puede surgir en las fases aguda y crónica de la infección materna, repetirse en cada embarazo y observarse de una generación a otra[14]. Por otra parte, las mujeres gestantes con *T. cruzi* tienen un riesgo mayor de parto prematuro, de tener recién nacidos con bajo peso o muerte fetal[10,13]. Esto señala a la infección congénita por *T. cruzi* como un importante problema de salud pública.

La transmisión congénita es una forma de continuidad de la EC en línea materna y para poder eliminar este mecanismo de transmisión, una de las principales estrategias es tamizar a todas las mujeres embarazadas[15]. En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en mujeres embarazadas, utilizando una prueba convencional con antígeno nativo de Morelos y una prueba no convencional (con antígeno recombinante, no nativo), así como determinar factores sociodemográficos y de salud asociados a la infección.

Materiales y Métodos

Diseño del estudio

Durante los años 2006 al 2009, se llevó a cabo un estudio transversal en mujeres embarazadas y puérperas para el diagnóstico de sífilis congénita[16]. Fue aprobado por los comités de Ética, Investigación y Bioseguridad del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) (Protocolo N° 313/88-6112). El estudio se realizó en cuatro hospitales generales de Morelos: Hospital General de Cuautla "Dr. Mauro Belaunzarán Tapia" (HG Cuautla), Hospital General de Jojutla "Dr. Ernesto Meana San Román" (HG Jojutla), Hospital General de Axochiapan "Dr. Ángel Ventura Neri" (HG Axochiapan) y Hospital General de Tetecala "Dr. Rodolfo Becerril de la Paz" (HG Tetecala). Las mujeres embarazadas firmaron una carta de consentimiento informado, contestaron un cuestionario sobre características sociodemográficas y atención prenatal y proporcionaron una muestra de sangre, la que se mantuvo a -20˚C hasta su procesamiento. Un total de 2.331 mujeres embarazadas fueron incluidas en el análisis del estudio sobre sífilis congénita; para el presente estudio de seroprevalencia de EC se dispuso de 1.620 sueros.

Técnicas serológicas

La detección de anticuerpos se basó en las recomendaciones dadas por la OMS, de realizar dos pruebas serológicas con principios diferentes[17]. Se utilizó un ELISA convencional (ELISAc) con antígeno nativo del estado de Morelos y un ELISA de un *kit* comercial con antígeno recombinante (ELISAr). Se emplearon dos enfoques, el primero en paralelo, que considera como positivas aquellas muestras reactivas por ELISAc o ELISAr, con lo que se logra una mayor sensibilidad, y un enfoque en serie, en el que las muestras reactivas para ELISAc o ELISAr se confirmaron mediante la prueba de hemaglutinación indirecta (HAI), logrando una mayor especificidad[18].

ELISA convencional (ELISAc) con antígeno nativo

Se utilizó una mezcla de cuatro cepas de epimastigotes de *T. cruzi* (TL/MOR/MEX/2013, JP/MOR/MEX/2013, YT/MOR/MEX/2013 y PI/MOR/MEX/2013), aisladas del estado de Morelos, México, cultivados en medio axénico, cosechados, lavados, centrifugados y lisados según metodología descrita previamente[19]. La solución antigénica se preparó a una concentración de 2 µg/ml diluido en amortiguador de carbonatos 0,15 M (pH 9,6). Los pocillos de las placas de fondo plano (Costar para EIA/RIA) fueron sensibilizadas con 50 µl de la preparación antigénica y se incubaron durante 17 h a 4 ˚C. Al día siguiente, las placas sensibilizadas se lavaron 4 veces con PBS 0,01M que contenía Tween 20 al 0,05% (pH 7,2). Posteriormente, se adicionaron 200 µl de leche completa al 10% y la placa se incubó a 37 ˚C durante 1 h; finalmente se realizaron cuatro lavados. 75 µl de cada muestra y de los controles diluidos 1:1.000 fueron agregados en los pocillos correspondientes. La placa se incubó a 37 ˚C durante 2 h y se realizaron cuatro lavados. Se agregó a cada pocillo 75 µl/pozo de conjugado anti-IgG humano (ZYMED® anti-IgG 1:7.000) marcado con peroxidasa;

la placa fue incubada a 37 ˚C durante 1 h y se realizaron cuatro lavados y un último lavado con PBS pH 7,2 (sin Tween 20). Se agregó a cada pocillo 75 µl de sustrato (TMB Peroxidase Microwell, KPL) y después de 5 min de incubación en obscuridad a temperatura ambiente (22-25 ˚C), se adicionaron 75 µl de ácido sulfúrico 1N para detener la reacción enzimática. En cada ensayo se incluyeron controles negativos, positivos y blancos en duplicado; los controles fueron generados en el laboratorio. Los valores de absorbancia fueron leídos a 450 nm en un espectrofotómetro (Labsystems Multiskan Ms). Se utilizó el mismo suero control positivo en cada placa; con dichas mediciones se normalizaron todos los resultados, obteniendo una razón ó índice. Los puntos de corte de ELISAc fueron determinados de acuerdo a un panel de muestras positivas y negativas; se consideró la media y una desviación estándar, se determinaron los puntos de corte, positivas ≥ 41,1, muestras negativas ≤10,8 y muestras indeterminadas 10,9-41,0.

BioELISA Chagas (ELISAr) (Biokit, S.A, Barcelona, España)

Es un inmunoensayo comercial con antígenos recombinantes (prueba no convencional) que contiene cuatro epítopos inmunodominantes de *T. cruzi* (TcD, TcE, PEP-2 y TcLo1.2)[20,21] e incluye controles (positivo y negativo). El procesamiento de las muestras, el cálculo del índice de anticuerpos y la validación de los resultados se realizaron siguiendo las instrucciones del fabricante. Los valores de absorbancia fueron leídos a 450 nm y un filtro de referencia de 620 nm en un espectrofotómetro (Labsystems Multiskan Ms). Las muestras se clasificaron en función del índice de anticuerpos obtenido: positivas (índice ≥ 1,0), negativas (índice < 0,9) e indeterminadas (0,9 ≤ índice < 1,0). La sensibilidad y la especificidad reportada por el fabricante es mayor de 95% en ambos casos[22].

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

Es un inmunoensayo comercial, que incluye controles, se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos (anti-*T. cruzi*) de producir aglutinación específica en presencia de eritrocitos sensibilizados con los correspondientes antígenos (*T. cruzi*). El procesamiento de las muestras y la interpretación de los resultados se realizaron siguiendo las instrucciones del fabricante, sólo se modificó la concentración de 2-mercaptoetanol para la absorción de anticuerpos no específicos, el fabricante lo recomienda al 1% y en el presente trabajo se manejó al 0,5%. Un resultado no reactivo se consideró cuando se observó un sedimento en forma de botón o pequeño anillo de bordes regulares, y un resultado reactivo se consideró cuando se presentó la formación de una película o manto que cubrió el 50% o más del fondo de los pocillos.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de los factores sociodemográficos y de salud mediante un análisis de frecuencias simple. Posteriormente se realizó un análisis bivariado para evaluar la asociación entre prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* y factores sociodemográficos y de salud mediante razones de momios con intervalos de confianza al 95%; se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS versión 15.0. Se utilizaron dos enfoques, el primero que utiliza los ensayos en paralelo y que origina una mayor sensibilidad, y el segundo enfoque que considera las pruebas en serie que confiere una mayor especificidad, considerando como positivas las muestras confirmadas por la prueba de HAI[18].

Resultados

Del total de muestras, 31,6% fueron del HG de Cuautla, 31,4% del HG de Jojutla, 21,3% del HG de Axochiapan y 15,7% del HG de Tetecala. Entre la población analizada, 49,6% tenía entre 21-30 años de edad, 42,9% tenía estudios de secundaria y 27,6% reportó que el piso de su vivienda era de tierra. En relación a las variables de salud, 44,6% refirió haber tenido algún tipo de complicación durante el embarazo, 3,4% de las mujeres reportó abortos previos y 5,5% no tuvo control prenatal, tal como se presenta en la Tabla 1.

La reactividad con el ELISAc se observó en 72 sueros (4,44%) y la reactividad con ELISAr se observó en 13 sueros (0,80%), siendo 79 (4,87%) muestras positivas por alguno de los métodos (Figura 1). Este fue el enfoque de pruebas en paralelo con el que se obtuvo una seroprevalencia contra *T. cruzi* de 4,87% (IC95% 3,92-6,04).

Del total de muestras procesadas, 6 (0,37%) muestras fueron reactivas por ambos ensayos de ELISA, 66 (4,07%) fueron negativas por el ELISAr pero positivas por el ELISAc, 7 (0,43%) muestras fueron sólo positivas por el ELISAr y 1.541 (95,12%) muestras fueron negativas por ambas pruebas; se encontró un valor de concordancia de kappa de 0,129 (IC95% 0,030-0,228).

Las 79 muestras positivas (4,87%) por alguna de las pruebas de ELISA se procesaron mediante HAI y se observó reactividad en 7 muestras (0,43%), de las cuales 6 muestras (0,37%) habían dado positivo por ambas ELISAs y 1 (0,06%) fue positiva sólo por ELISAr (Figura 1). Al aplicar HAI a las muestras positivas, se obtuvo un enfoque en serie de las pruebas con una seroprevalencia contra *T. cruzi* de 0,43% (IC95% 0,19-0,91).

Considerando la perspectiva en paralelo, que detecta un mayor número de casos, las mujeres que fueron atendidas en el HG Tetecala y en el HG Jojutla tuvieron 2,2 y 2,0 veces mayor posibilidad de presentar anticuerpos contra

Tabla 1. Características sociodemográficas y de salud entre mujeres embarazadas del estado de Morelos, México

Variables	n	%
Hospital general		
Tetecala	254	15,7
Jojutla	508	31,3
Axochiapan	346	21,4
Cuautla	512	31,6
Edad		
> 31 años	285	17,6
26-30 años	320	19,8
21-25 años	483	29,8
< 20 años	532	32,8
Escolaridad		
Primaria/nunca fue	611	37,71
Secundaria	695	42,90
Técnica-Licenciatura	314	19,38
Material del piso		
Tierra	447	27,59
Cemento	1.063	65,61
Mosaico	110	6,79
Tipo de complicación		
Amenaza de aborto	396	24,44
Aborto/alteraciones	55	3,39
Otra	272	16,79
Sin complicaciones	897	55,37
Atención prenatal		
Nadie	89	5,49
Partera/curandero	26	1,60
Enfermera	42	2,59
Médico	1.463	90,30

T. cruzi con respecto a las mujeres que fueron atendidas en el HG Cuautla, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Se observó una mayor posibilidad de ser seropositivo a anticuerpos contra *T. cruzi* si el material del piso de la vivienda era de cemento, así como las mujeres con un nivel de estudios de carrera técnica o licenciatura presentaron la mayor proporción de anticuerpos, tal como se observa en la Tabla 2.

Considerando los resultados por HAI (mayor especificidad), se encontró que las mujeres con menor nivel de estudios tuvieron 2,1 veces mayor probabilidad de presentar anticuerpos contra *T. cruzi,* aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. También se observó una mayor posibilidad de ser seropositivo a *T. cruzi* si el material del piso de la vivienda era de tierra. Por otra parte, las mujeres que fueron atendidas en su embarazo por una enfermera tuvieron 18,2 veces más riesgo (IC95% 3,2-104,5) de presentar anticuerpos contra *T. cruzi* en comparación con las que fueron atendidas por un médico, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (Tabla 2).

Discusión

En 2018 la OMS señaló que el mejor método o estrategia para el diagnóstico de la EC en estudios poblacionales es usar la combinación de dos pruebas serológicas (ELISA, HAI o inmunofluorescencia indirecta-IFI) y una tercera prueba si los resultados son discordantes[23], similar a lo que se realizó en el presente estudio. Las pruebas se pueden usar en paralelo con lo que se detectan un mayor número de casos, aumentando la sensibilidad diagnóstica, pero también el número de falsos positivos; por otra parte, al utilizar pruebas en serie se incrementa la especificidad con un probable incremento de falsos negativos.

A diferencia de América del Sur, la información sobre la infección por *T. cruzi* en México es limitada, a pesar de que es un país considerado por la OPS como endémico para la EC[2]. Una revisión sistemática sobre encuestas de EC en México, durante el período 2006-2017, entre mujeres embarazadas, encontró siete estudios en cuatro estados de México (ningún reporte en el estado de Morelos) y estimaron una seroprevalencia global de infección de 2,21%[24]. Montes-Rincón y cols., reportaron entre mujeres embarazadas del Hospital General Regional de León, Guanajuato una seroprevalencia de 4%, mediante dos pruebas serológicas diferentes (ELISA con antígeno recombinante de origen argentino y una prueba de HAI)[25], considerando como casos positivos los resultados concordantes en ambas pruebas (detección en serie). La seroprevalencia reportada por estos autores es similar a lo reportado en el presente estudio al emplear pruebas en paralelo (4,87%), pero discordante con la seroprevalencia obtenida con los resultados de las pruebas en serie (0,43%). Campos-Valdez y cols., determinaron la seroprevalencia de la infección por *T. cruzi* mediante dos pruebas serológicas (Chagas Stat-Pak; Chembio Diagnostic Systems, Inc, Company, New York, USA y ELISA Accutrack, S.A de C.V) en 1.125 mujeres embarazadas de Tapachula y Palenque, Chiapas, reportando una seroprevalencia de 2,04%[26], la cual es mayor al compararla con la seroprevalencia con las pruebas en serie que se obtuvo en Morelos (0,43%).

El presente estudio detectó una alta discordancia entre las pruebas utilizadas. El rendimiento mayor de la

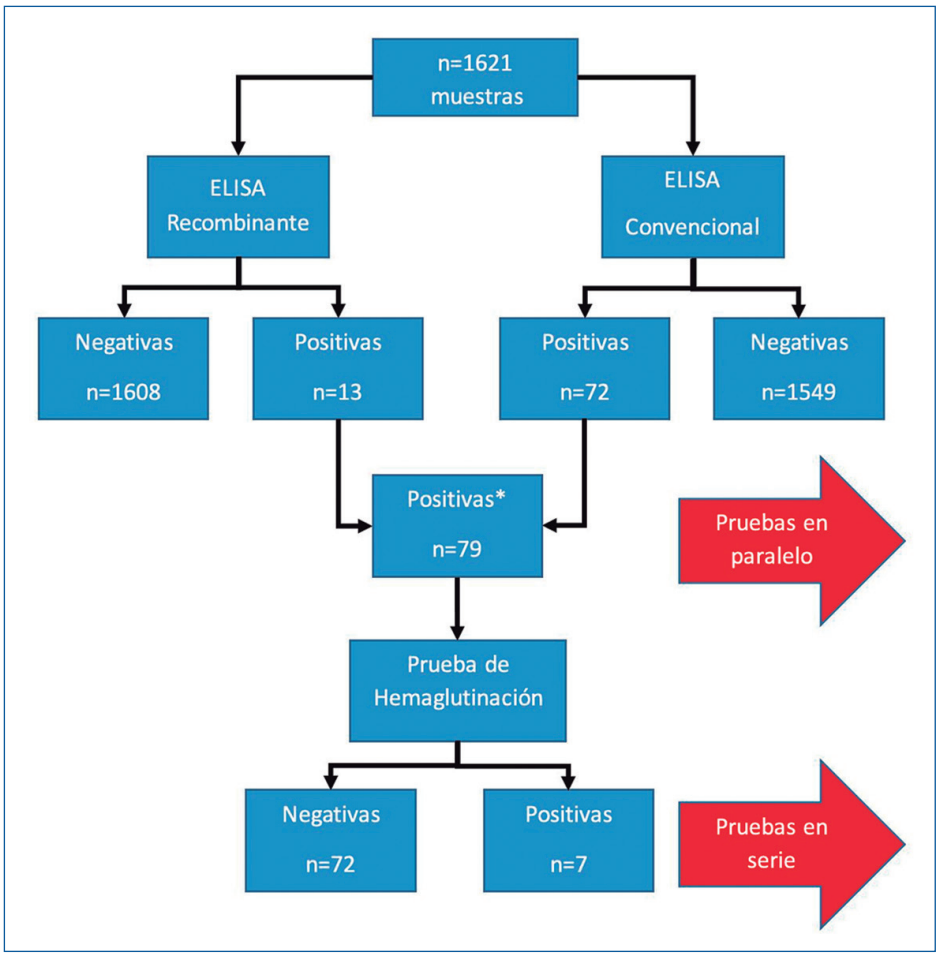

Figura 1. Algoritmo de detección de anticuerpos contra *T. cruzi* en mujeres embarazadas en el estado de Morelos, México.

ELISAc se favoreció por el uso de una mezcla de antígenos de la misma región de donde se realizó el estudio (Morelos). Similar a lo que obtuvieron Guzmán-Gómez y cols., al evaluar el tipo de antígeno utilizado en tres pruebas de ELISA de distintos estuches comerciales y dos pruebas de ELISA "*in house*" con antígeno crudo, el antígeno utilizado en una de las pruebas convencionales fue de la propia localidad en Veracruz. Reportaron que la discordancia entre las pruebas aplicadas fue muy alta, obtuvieron 74 muestras positivas con al menos un resultado reactivo a cualquiera de las pruebas aplicadas (detección en paralelo), de las cuales 62 muestras con el antígeno de la localidad, 28 con el antígeno que no era de la localidad, 33 con NovaLisa, 3 con Chagatek, y 2 con Chagatest. Los autores concluyeron que la diferencia de rendimiento obtenido entre las pruebas comerciales podría deberse al número y a la naturaleza del antígeno utilizado, pues una mezcla más grande de antígenos puede ser más confiable que unos cuantos antígenos recombinantes. Esto también explica, porque los lisados de parásitos crudos que contienen una gran cantidad de antígenos son más sensibles que los antígenos recombinantes[27]. Villagrán y cols., obtuvieron resultados similares al del presente estudio, observaron que el ELISA "*in house*" tuvo el mayor nivel de seropositividad, en comparación con un ELISA comercial con un antígeno recombinante, una prueba de inmunofluorescencia y un ensayo de HAI. Mencionan que cuando se utilizan diferentes técnicas serológicas en estudios epidemiológicos las discrepancias son muy comunes, debido a que las poblaciones no están en riesgo y la exposición es baja. El uso de diferentes métodos ha dado lugar a resultados contradictorios y esto posiblemente se debe al uso de diferentes cepas de *T. cruzi* y a los diferentes procedimientos para fraccionar los antígenos[28]. En el estado de Morelos se ha reportado que el principal linaje de *T. cruzi* que circula en ciclos domésticos es TcI[29] y en menos frecuencia el TcII y mixto (combinación de TcI y TcII)[30].

Tabla 2. Seroprevalencias obtenidas contra *T. cruzi* a partir de las pruebas en paralelo y en serie entre mujeres embarazadas del estado de Morelos, México

	Pruebas en paralelo		p	Pruebas en serie		p
	%	RM (IC 95%)		%	RM (IC 95%}	
Hospital						
Tetecala	7,1	2,2 (1,1-4,4)	0,022	0		
Jojutla	6,3	2,0 (1,1-3,6)	0,049	0,4	1,0 (0,4-7,2)	0,994
Axochiapan	3,5	1,0 (0,5-2,2)	0,679	0,9	2,2 (0,4-13,4)	0,657
Cuautla	3,3	1,0		0,4	110	
Edad						
≥ 31 años	3,5	0,6 (0,3-1,3)	0,183	0,4	0,6 (0,1-6,0)	0,680
21-30 años	4,9	0,9 (0,5-1,4)	0,528	0,4	0,7 (0,1-3,3)	0,613
≤ 20 años	5,6	1,0		0,16	1,0	
Escolaridad						
Primaria	2,8	0,4 (0,2-0,7)	0,001	0,7	2,1 (0,2-18,5)	0,518
Secundaria	5,5	0,7 (0,4-1,2)	0,185	0,3	0,9 (0,1-10,0)	0,934
Técnica-Licenciatura	7,6	1,0		0,3	1,0	
Material del piso						
Tierra	4,0	1,1 (0,4-3,4)	0,851	0,9	3,2 (0,7-14,3)	0,130
0. Cemento	5,4	1,5 (0,5-4,2)	0,881	0,3	1,0	
Mosaico	3,6	1,0		0,0*		
Complicaciones						
Alguna	4,3	0,8 (0,5-1,3)	0,324	0,3	0,5 (O,1-2,6)	0,394
Ninguna	5,4	1,0		0,16	1,0	
Quien atendió						
Nadie	3,4	0,7 (0,2-2,1)	0,480	1,1	4,2 (0,5-37,5)	0,211
Partera/curandero	0,0			0,0		
Enfermera	4,8	0,9 (0,2-4,0)	0,931	4,,8	18,2 (3,2-104,5)	0,001
Médico	5,1	1,0		0,3	1,0	

RM= Razón de Momios.

Ramos-Rincón y cols., en su estudio sobre la EC en mujeres embarazadas de la Cuenca Amazónica Peruana utilizaron dos estuches comerciales: Chagatest ELISA con lisado de *T. cruzi* (Weiner, Rosario, Argentina) y Chagatest ELISA recombinante (Weiner, Rosario, Argentina), detectaron 4 casos positivos por ELISA recombinante, de los cuales sólo uno resultó positivo por ELISA que utilizó lisado, y 3 muestras como no concluyentes. Reportaron una seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* de 0,33%[31], muy similar a lo reportado en el presente estudio al utilizar las 3 pruebas serológicas en serie (0,43%).

En relación a las variables analizadas, se observó que las mujeres que se atendieron en los hospitales generales de Tetecala y Jojutla tuvieron un mayor riesgo, posiblemente porque estas comunidades son tipo rural y su orografía es ideal para el hábitat del vector de la EC. También se han reportado otros factores de riesgo como el tipo de construcción de las viviendas; en el presente trabajo se observó que el vivir en una casa con piso de tierra o cemento fue un factor de riesgo. Este hallazgo no se había reportado, lo que se ha encontrado en cuanto a la construcción de las viviendas es que el vector se puede esconder en las grietas de las paredes[17]. El estado

de Morelos, México, se considera un área endémica[24], donde se ha reportado a *Triatoma pallidipennis* como el principal vector de la EC, con una tasa de infestación domiciliaria entre 50 y 60%[32].

Este estudio presenta limitaciones. Primero, no se pudo realizar seguimiento a los recién nacidos de las mujeres positivas a anticuerpos contra *T. cruzi* al ser este un estudio secundario, el estudio original determinó anticuerpos contra *Treponema pallidum* (sífilis). Segundo, no se dispusieron de más datos sociodemográficos relacionados a la EC ya que el proyecto original de donde derivan las muestras fue de sífilis congénita.

En conclusión, la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* en el estado de Morelos no es despreciable, ya que puede encontrarse entre 0,43 y 4,87% entre las mujeres embarazadas y posiblemente si se usara otra prueba con principio diferente al de la ELISA, pero con antígeno de la región, seguramente se obtendría una seroprevalencia contra *T. cruzi* similar a la obtenida con la ELISA con antígeno de la región (Morelos). La EC sigue siendo una de las enfermedades parasitarias más importante en el Continente Americano; sin embargo, la magnitud de su prevalencia en México aún se desconoce. Se necesita mejorar la detección para las mujeres embarazadas, tal como lo menciona la OPS en el ETMI-PLUS, para un mejor control de la EC[15,33]. Esta intervención dejaría grandes beneficios a la población tanto económicos, como de salud y sociales.

Las pruebas utilizadas en este estudio mostraron una alta discordancia, la ELISAc (antígeno de Morelos) detectó una mayor cantidad de muestras positivas en comparación con la ELISAr (de origen español) y con la prueba HAI (de origen argentino) se confirmó un número bajo de casos. Por lo tanto, se necesitan pruebas serológicas que utilicen antígenos crudos y recombinantes de cada región, esto ayudara a conocer con más veracidad la epidemiología de la EC en las distintas regiones consideradas como endémicas.

Para la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* en estudios epidemiológicos la OMS recomienda utilizar una única prueba convencional en suero, plasma y/o sangre completa en papel filtro. Cabe aclarar que la mayoría de las pruebas no convencionales muestran una alta especificidad, pero su sensibilidad puede ser menor que la de las pruebas convencionales. Por lo tanto, la OMS recomienda que, si los resultados de las dos clases de pruebas no son concordantes, se tomen como correctos los resultados de las pruebas convencionales.

Agradecimientos. Los autores agradecen a todas las mujeres embarazadas que acudieron a los hospitales: HGA, HGC, HGJ y HGT por su valiosa participación en el proyecto, a las autoridades de cada hospital y a los Laboratorios Silanes SA de CV, por el financiamiento para la toma de muestras.

Referencias bibliográficas

1.- Llenas-García J, Wikman-Jorgensen P, Gil-Anguita C, Ramos-Sesma V, Torrús-Tendero D, Martínez-Goñi R, et al. Chagas disease screening in pregnant Latin American women: Adherence to a systematic screening protocol in a non-endemic country. PLoS Negl Trop Dis. 2021;15(3). doi:10.1371/journal.pntd.0009281.

2.- Rojo-Medina J, Ruiz-Matus C, Salazar-Schettino PM, González-Roldán J F. Enfermedad de Chagas en México. Gac México. 2018;154(5): 605-12. doi:10.24875/GMM.18004515.

3.- Dias N, Carvalho B de, Nitz N, Hagström L, Vital T, Hecht M. Congenital Chagas disease: alert of research negligence. Rev Soc Bras Med Trop. 2019; 52:e20180069. doi:10.1590/0037-8682-0069-2018.

4.- Abras A, Muñoz C, Ballart C, Berenguer P, Llovet T, Herrero M, et al. Towards a new strategy for diagnosis of congenital T*rypanosoma cruzi* infection. J Clin Microbiol. 2017; 55(5): 1396-407. https://doi.org/10.1128/JCM.02248-16.

5.- Buekens P, Cafferata M L, Alger J, Althabe F, Belizán JM, Bustamante N, et al. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Argentina, Honduras, and Mexico: An observational prospective study. Am J Trop Med Hyg. 2018; 98(2): 478-85. doi:10.4269/ajtmh.17-0516.

6.- Santana K H, Oliveira L G R, Barros de Castro D, Pereira M. Epidemiology of Chagas disease in pregnant women and congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Americas: systematic review and meta-analysis. Trop Med Int Health. 2020; 25(7): 752-63. doi:10.1111/tmi.13398.

7.- Avila Arzanegui O, Liendo Arenaza P, Martínez Indart L, Martínez Astorkiza T, Pocheville Guruceta M I, Egurbide Arberas M V. Prevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* y transmisión vertical en mujeres gestantes latinoamericanas en un área de salud de Vizcaya. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2013; 31(4): 210-16. doi:10.1016/j.eimc.2012.01.029.

8.- Imai K, Misawa K, Osa M, Tarumoto N, Sakai J, Mikita K, et al. Chagas disease: A report of 17 suspected cases in Japan, 2012-2017. Trop Med Health. 2019; 47: 38. doi:10.1186/s41182-019-0168-3.

9.- Cevallos A M, Hernández R. Chagas' disease: pregnancy and congenital transmission. Biomed Res Int. 2014; 2014:401864. doi:10.1155/2014/401864.

10.- Howard E J, 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; 121(1): 22-33. doi:10.1111/1471-0528.12396.

11.- Nobre T, Fonseca S, Medeiros R, Hecht M, Hagström L, Fernandes R L, et al. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* in pregnant women in Midwest Brazil: an evaluation of congenital transmission. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2021; 63: 1-7. doi:10.1590/S1678-9946202163008.

12.- Murcia L, Carrilero B, Muñoz-Dávila MJ, Thomas M C, López M C, Segovia M. Risk factors and primary prevention of congenital Chagas disease in a nonendemic country. Clin Infect Dis. 2013; 56(4): 496-502. https://www.who.int/publications/journals/weekly-epidemiological-record.

13.- WHO. Weekly Epidemiological Record Relevé Épidémiologique Hebdomadaire. 2015; 50(04) 29-31. https://scholar.google.cl/scholar?q=WHO.+Weekly+Epidemiological+Record+Relev%C3%A9+%C3%89pid%C3%A9miologique+Hebdomadaire.+2015.&hl=es&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholart.
14.- Carlier Y, Truyens C. Congenital Chagas disease as an ecological model of interactions between *Trypanosoma cruzi* parasites, pregnant women, placenta and fetuses. Acta Trop. 2015; 151(1): 103-15. doi:10.1016/j.actatropica.2015.07.016.
15.- Pan American Health Organization. New generations free of HIV, syphilis, hepatitis B and Chagas disease in the Americas 2018: EMTCT Plus.; 2019. https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50993/9789275120675_eng.pdf?sequence=2&isAllowed=y.
16.- Yáñez-Alvarez I, Conde-González C J, Uribe-Salas F J, Olamendi-Portugal M L, García-Cisneros S, Sánchez-Alemán M A. Maternal/child seroprevalence of antibodies against *Treponema pallidum* at four general hospitals in the state of Morelos, Mexico. Arch Med Res. 2012; 43(7): 571-7. doi:10.1016/j.arcmed.2012.10.001.
17.- WHO Expert Committee. WHO control of Chagas disease. World Health Orga*n* - Tech Rep Ser. 2002; 905: i-vi, 1-109. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12092045/.
18.- Semergen-Medicina de Familia. Gómez González C y Pérez Castán J F. Capítulo 8: Pruebas diagnósticas. Concordancia. 2007; 33(10): 509-19. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1138359307739552.
19.- Jaimes-Acuña J. Prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en individuos del estado de Morelos. Tesis de Licenciatura. Fac Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 2014: 1-50.
20.- Duarte L F, Flórez O, Rincón G, González C I. Comparison of seven diagnostic tests to detect *Trypanosoma cruzi* infection in patients in chronic phase of Chagas disease. Colomb Med. 2014; 45(2): 61-6. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4123583/.
21.- López-Chejade P, Roca C, Posada E, Pinazo M J, Gascon J, Portús M. Utilidad de un test inmunocromatográfico para el cribado de la enfermedad de Chagas en asistencia primaria. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010; 28(3): 169-71. doi:10.1016/j.eimc.2009.04.007.
22.- BioELISA Chagas; Biokit, Lliçà d'Amunt, Barcelona, España. Inserto del ELISA con antígeno recombinante.
23.- OPS. Organización Panamericana de la Salud. Guía para el diagnóstico y el tratamiento de la Enfermedad de Chagas. Washington, D.C. OPS*;* 2018.; 2018. https://iris.paho.org/handle/10665.2/49653.
24.- 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; 13(4): e0006859. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006859.
25.- Montes-Rincón L M, Galaviz-Silva L, González-Bravo F E, Molina-Garza Z J. *Trypanosoma cruzi* seroprevalence in pregnant women and screening by PCR and microhaematocrit in newborns from Guanajuato, Mexico. Acta Trop. 2016 Dec; 164: 100-6 doi:10.1016/j.actatropica.2016.08.029.
26.- Campos-Valdez G, Canseco-Ávila L M, González-Noriega F, Alfaro-Zebadua O, Nava-Medecigo I Y, Jiménez-Cardoso E. Maternal-fetal transmission of *Trypanosoma cruzi*, a health problem slightly studied in Mexico: case Chiapas. Salud Publica Mex. 2016; 58(3): 378-84. http://dx.doi.org/10.21149/spm.v58i3.7898.
27.- Guzmán-Gómez D, López-Monteon A, de la Soledad Lagunes-Castro M, et al. Highly discordant serology against *Trypanosoma cruzi* in central Veracruz, Mexico: role of the antigen used for diagnostic. Parasit Vectors. 2015; 8(1): 466. doi:10.1186/s13071-015-1072-2.
28.- Villagrán M E, Sánchez-Moreno M, Marín C, Uribe M, de la Cruz J J, de Diego J A. Seroprevalence to *Trypanosoma cruzi* in rural communities of the state of Querétaro (Mexico). Statistical evaluation of tests. Clin Biochem. 2009; 42(1-2): 12-16. doi:10.1016/j.clinbiochem.2008.09.122.
29.- Bosseno M F, Barnabé C, Gastélum E M, Lozano Kasten F, Ramsey J, Espinoza B, et al. Predominance of *Trypanosoma cruzi* lineage I in Mexico. J Clin Microbiol. 2002; 40(2): 627-32. doi:10.1128/JCM.40.2.627-632.2002.
30.- Zumaya-Estrada F A, Messenger L A, López-Ordonez T, Lewis M D, Flores-López C A, Martínez-Ibarra A J, et al. North American import? Charting the origins of an enigmatic *Trypanosoma cruzi* domestic genotype. Parasit Vectors. 2012; 5(1): 226. doi:10.1186/1756-3305-5-226.
31.- Ramos-Rincón J M, Ortiz-Martínez S, Vásquez-Chasnamote M E, et al. Chagas disease in pregnant women in the Peruvian Amazon basin. Cross-sectional study. Front Vet Sci. 2020; 7: 1-6. doi:10.3389/fvets.2020.00556.
32.- Díaz-Garrido P, Sepúlveda-Robles O, Martínez-Martínez I, Espinoza B. Variability of defensin genes from a Mexican endemic Triatominae: *Triatoma* (Meccus) *pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae). Biosci Rep. 2018; 38(5): BSR20180988. doi:10.1042/BSR20180988.
33.- Pan American Health Organization. EMTCT Plus. Framework for elimination mother to child transmission of HIV, syphilis, hepatitis B and Chagas. 2017: 1-25. https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/34306/PAHOCHA17009-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y.