



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS
DE HIDALGO**

ESCUELA DE QUIMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“SEROPREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS Y
DISTRIBUCIÓN DEL
VECTOR EN EL ESTADO DE MICHOACÁN EN EL PERIODO DE
2004-2006”**

TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTADO POR:

p. Q.F.B. LILIANA GONZALEZ LINARES

ASESORES DE TESIS:

Q.F.B. Cecilia García Ruiz De Chávez
Q.F.B. Sandra María Suárez Moreno

MORELIA MICHOACÁN, JUNIO 2007

AGRADECIMIENTOS:

No me alcanza esta hoja para nombrar a todas y cada una de las personas que de una u otra forma me ayudaron para la realización de este sueño. A todos ellos no tengo forma ni palabras para agradecerles todo su apoyo, los llevaré siempre en un lugar de muy especial de mi corazón. MIL GRACIAS!

A DIOS, por darme la oportunidad de vivir y lograr todo lo que hasta hoy tengo, dándome a la mejor familia que se puede tener.

A MIS PADRES, por todo su apoyo, amor, confianza, comprensión y mil cosas más, durante estos veintitantos años, porque no escatimaron esfuerzos para ayudarme a cumplir una meta más en mi vida que por supuesto sin ellos no hubiera sido posible, pero sobre todo por darme la vida.

A KARINA, por creer en mí, porque espero tomes este ejemplo y sigas un camino no como el mío sino mucho mejor. Échale muchas ganas mugres, ya lo ves que sí se puede. Sé que lograras todo lo que te propones.

A RICARDO, por poner todas tus esperanzas en mí y por tenerme en el mejor concepto de hermana.

A MIS ABUELOS, porque con sus palabras y consejos no dejaron que decayera en la lucha por la realización de este sueño. Aunque ahora dos de ellos me guían desde el cielo.

AL RESTO DE LOS INTEGRANTES DE MI FAMILIA, porque todos me brindaron su apoyo y esperanza incondicional.

A TODOS MIS AMIGOS, que siempre estuvieron a mi lado apoyándome con una palabra de aliento o consuelo cuando fue necesario, siendo mis aliados y cómplices en esta maravillosa etapa de mi vida.

A LA Q.F.B. CECY GARCÍA RUIZ DE CHÁVEZ, por creer en mí y confiarme este proyecto que parecía difícil pero con su ayuda fue posible lograr. Además de

INDICE

I.- Introducción.....	1
Antecedentes Históricos.....	1
Epidemiología.....	2
Transmisores.....	6
Tripanosomas: consideraciones biológicas.....	11
Morfología.....	12
Estructuras celulares de los Tripanosomas.....	13
Ciclo de vida de <i>Trypanosoma cruzi</i>	14
Mecanismos de Transmisión.....	16
Relación Huésped-Parásito.....	16
Fase aguda.....	17
Fase indeterminada.....	18
Fase crónica.....	19
Patogenia.....	19
Respuesta inmune a la infección por <i>Trypanosoma cruzi</i>	22
Cuadro clínico.....	24
Diagnóstico de laboratorio.....	25
Métodos Parasitológicos.....	25
Métodos Inmunológicos.....	26
Hemaglutinación Indirecta o pasiva.....	27
Inmunoensayo Enzimático (ELISA).....	28
Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).....	29
Tratamiento.....	29
II.- Planteamiento del problema.....	31
III.- Justificación.....	32
IV.- Objetivo General.....	35
V.- Objetivos Específicos.....	35
VI.- Metodología.....	36
VII.- Resultados.....	37
VIII.- Discusión.....	46
IX.- Conclusión.....	48
XI.- Apéndices.....	50
Material.....	50
Método.....	51
XI.-Referencias.....	64

I.- INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La enfermedad de Chagas también conocida como tripanosomiasis americana o esquistotripanosis, es una antropozoonosis característica del Continente Americano, en especial América Latina, en donde se encuentra largamente diseminada. Fue descubierta en 1909 por el médico brasileño, Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas un eminente integrante del Instituto Oswaldo Cruz (Río de Janeiro, Brasil). Chagas plantea inicialmente dos hipótesis: a) sería un parásito monogenético, restringido al insecto, o entonces, b) sería un parásito de vertebrados superiores, quizás el propio hombre, vehiculado por este vector invertebrado. Chagas envió ejemplares del insecto para Oswaldo Cruz, en Río de Janeiro, logrando este último contaminar pequeños monos en su laboratorio y evidenciar, en pocos días, formas circulantes del mismo parásito en la sangre periférica de estos mamíferos. Al nuevo tripanosoma respetuosamente Carlos Chagas bautizo como *Trypanosoma cruzi* (Schizotrypanum), en homenaje a su maestro y amigo. Él se encuentra el flagelado en la sangre de un gato doméstico para en seguida, probablemente el 15 de abril de 1909, detectarlo en un frotis de una niña de 2 años de edad con fiebre llamada Berenice Soares de Moura, quien vivía en una casa infestada por *Conorrhinus*, que muere a los 82 años infectada y sin haber padecido la enfermedad (78). De ahí en adelante, en trabajo monumental Chagas estudia al parásito, su ciclo evolutivo, la clínica, la patología y la epidemiología de la enfermedad. También desarrolla importantes hipótesis sobre la patogenia de la enfermedad, señala la transmisión congénita y llama la atención de las autoridades por la importancia médica y social de la misma y busca una serie de importantes parámetros para el estudio de la enfermedad. Induce estudios sobre mejoramientos de la vivienda campesina e impulsa investigaciones sobre la tripanosomiasis en varios países latinoamericanos, siempre a partir de la búsqueda del insecto transmisor. Por iniciativa de Miguel Couto, presidente de la Academia Nacional de Medicina del Brasil se asigna el nombre "Enfermedad de Chagas" para la nueva tripanosomiasis (1, 2).

En un principio la base epidemiológica se estableció sobre los vectores, su infección natural por el parásito y los casos agudos de la enfermedad, justamente los elementos más visibles de la cadena epidemiológica, aquellos que eran los más detectables con las herramientas disponibles en la época. Chagas, define la existencia de un ciclo selvático del parásito, involucrando vectores y reservorios mamíferos domésticos, como el gato. Él también distingue una enfermedad aguda, con alta parasitemia y corta duración (semanas), que Köberle llama de "nosos", seguida por una entidad crónica, con baja parasitemia y muy larga duración (semanas), el "pathos".

En el principio es la enfermedad aguda que llama la atención de los médicos e investigadores, por el carácter eminentemente microbiológico y parasitológico de la época, así como por la mayor facilidad en su detección. Sin embargo, ya en 1910 Chagas se da cuenta de la mayor importancia de las formas crónicas y discute la enorme desproporción entre el gran número de enfermos en esta etapa frente a lo raro de los casos agudos detectados (él mismo diagnóstico solamente 29 en todo su trabajo) (2, 3).

En la historia de la enfermedad de Chagas, algunos marcos fundamentales son señalados por científicos principalmente latinoamericanos, hasta que finalmente, a partir de los años 1960, su definitivo control fue asumido por algunos países, especialmente por Brasil, Uruguay, Argentina y Venezuela (4).

Como ya se dijo la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana (TA) es una enfermedad latinoamericana, común en el Cono sur, donde constituye uno de los problemas prioritarios de salud pública (5, 6). Se caracteriza por ser una infección generalizada que cursa clínicamente a partir de una forma aguda hasta llegar a la cronicidad, con un periodo asintomático que puede durar varios años y que se denomina forma indeterminada (7).

El agente etiológico es el *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909, *Schizotrypanum cruzi*), un hematoprotazoario flagelado de la clase Zoomastigophora. Su ciclo vital se presenta en dos huéspedes: el vector, un insecto perteneciente a la familia *Reduviidae*, hematófago (en México la chinche "hocicona") que alberga en su intestino la fase flagelada metacíclica, y el vertebrado, que incluye al hombre, donde el parásito es intracelular en la fase de amastigote (sin flagelo). Además del hombre, al que *Trypanosoma cruzi* le produce con frecuencia enfermedad grave, muchos animales silvestres y domésticos actúan como reservorios (8).

EPIDEMIOLOGÍA

Como ya se mencionó la enfermedad de Chagas es una enfermedad exclusiva de la Región de las Américas que se distribuye desde México hasta la Argentina. Aunque la mayoría de los datos disponibles proceden de encuestas seroepidemiológicas realizadas en núcleos limitados de población, se estima que existen entre 16 y 18 millones de individuos afectados y que 100 millones están expuestos al riesgo de adquirir la infección en todo el Continente Americano y 2-3 millones con infección crónica. Causa 45,000 muertes al año (64, 65).

En la región de las Américas la morbilidad por enfermedad de Chagas ocupa el cuarto lugar en orden de importancia después de las enfermedades respiratorias, las diarreas y la infección por virus de la inmunodeficiencia humana, y el primer lugar en el grupo de las enfermedades tropicales (66).

La infección humana constituye una amenaza permanente para casi la cuarta parte de la población de América Latina (95). Existe gran diversidad en las características parasitarias, de vectores, reservorios, cuadros clínico-patológicos y en las tasas de incidencia y prevalencia de infección; en relación a este último, existen estimaciones de la situación epidemiológica de la enfermedad que se señalan en la siguiente tabla:

Estimación de la seroprevalencia e incidencia anual de la Infección Chagásica en México y América Central*

País	Seroprevalencia	Incidencia Anual
México	540 000	10 854
Belice	600	26
Guatemala	730 000	28 387
Honduras	300 000	11 490
El Salvador	322 000	10 594
Nicaragua	67 000	2 660
Costa Rica	130 000	3 320
Panamá	220 000	5 346
TOTAL	2 309 600	72 677

*(95) Cálculos realizados con el modelo de Hayes y Schofield en 1990. Tomado de: Manual de Laboratorio para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi*. Salazar S. P. M., Marín L. A. 2002. UNAM. SSA.

Según cálculos de las Organizaciones Panamericana y Mundial de la Salud (OPS, OMS respectivamente), para 1981 (6) Latinoamérica tenía 24 millones de infectados y 65 millones en riesgo. Para México, Schofield en 1985 calculó 3 millones 800 mil infectados basándose en los datos de Goldsmith y col (69-71), casi un millón más de los calculados por Velasco Castrejón el mismo año y que parecen demasiados a la luz de lo encontrado en la encuesta serológica nacional, en la cual los estados que tuvieron mayor prevalencia de infectados no sobrepasan al 1%, por lo cual se pueden calcular sólo en varios cientos de miles los mexicanos infectados (8). Sin embargo, debido a que la enfermedad se encuentra distribuida en focos, es posible que en muchos de ellos no hayan sido investigados durante la encuesta seroepidemiológica y sean en realidad muchos más los afectados.

La enfermedad de Chagas es la enfermedad parasitaria más importante y la que ha causado más morbilidad según la OPS de 1994 a 1996. En México, se estima una incidencia anual de 44,000 casos nuevos con una prevalencia actual de 1 610 000 personas infectadas (OPS 1996). El Centro Nacional de Transfusión Sanguínea (CNTS) reporta hasta un 3.5% de bolsas contaminadas con *T. cruzi* (67, 68).

En la encuesta nacional seroepidemiológica (ENSE) de 1987, en más de 60,000 sueros representativos de la República Mexicana se encontró un porcentaje de positividad de 1.6% de individuos con anticuerpos anti *T. cruzi*, empleando la técnica de Hemaglutinación Indirecta a dilución 1: 8. Los estados más afectados fueron Chiapas, Oaxaca, Hidalgo, Veracruz, Baja California y San Luis Potosí, todos ellos con una prevalencia mayor de 2.5%. En un estudio realizado en El Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez", de 79 pacientes con el diagnóstico de miocardiopatía dilatada, en 16 (20.3%) el diagnóstico final fue de cardiopatía chagásica crónica (CCC), con base epidemiológica, clínica y serológica (77).

El problema de la enfermedad de Chagas por hemotransfusión en México, ha sido estudiado en los bancos de sangre y se busca de manera obligatoria desde 1992 (73). La primera comunicación mexicana fue hecha por Goldsmith y cols. en 1978 (74) quienes reportaron 4.4 % de seropositividad en donadores de la ciudad de Oaxaca. Desde 1984 el grupo del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (INDRE) asociado a otras instituciones (40, 72, 75) ha realizado varias encuestas en bancos de sangre. En 1984 se detectaron 16.5% de positivos entre los donadores del Hospital Universitario de Puebla (72); en 1985 en el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea de la Ciudad de México, encontró seropositividad en el 0.67%; en 1987 en la ciudad de Acapulco se halló 11.2% de positividad entre los donadores familiares y 19% entre los remunerados; en 1989 en el banco de sangre del Hospital General "Rubén Leñero" la seroprevalencia fue del 2%; en 1990 en el Hospital de la Mujer se detectó 1.6% de positividad (75), y en 1991 reportaron 1% de seroprevalencia en 2,115 hemodonadores de la Cruz Roja Mexicana en el D.F. En todos estos estudios se empleó la técnica de Hemaglutinación Indirecta (76). Monteón y cols. (37) por su parte detectaron alrededor de 1% de seropositividad en hemodonadores del D.F. con una prueba de containmunolectroforesis y dot-ELISA.

En México, se considera como área endémica probable el territorio que se encuentra a menos de 1,800 metros sobre el nivel del mar (msnm), ya que dentro de esa altitud es donde se han encontrado triatóminos infectados por el parásito. Los casos notificados corresponden a los Estados de Oaxaca, Chiapas, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Zacatecas, Yucatán, Veracruz, Estado de México, Sonora y San Luis Potosí. En todo el país sólo se reportan 55 casos en 1996, 22 en 1997, 20 en 1998, 42 en 1999

y 98 en 2000. Los transmisores más importantes son: *Triatoma barberi* y *Triatoma dimidiata* (65, 62).

En México la Norma Oficial Mexicana NOM 003-SSA2-1993, para la Vigilancia Epidemiológica, Prevención y Control de Enfermedades Transmitidas por Vector establece la realización de pruebas serológicas en donadores de banco de sangre en las zonas endémicas. Debe considerarse que todos los productos sanguíneos de un donador seropositivo a *T. cruzi*, pueden ser infectantes porque se demostró que *T. cruzi* se mantiene vivo hasta por tres semanas a bajas temperaturas (4° C). La transmisión de la Enfermedad de Chagas por transfusión sanguínea se reconoció desde 1952 y se consideró el segundo mecanismo de transmisión más frecuente del *T. cruzi* (16).

Luis Mazzottii en 1940 reporta en México los 2 primeros casos humanos y los 2 primeros vertebrados infectados por el parásito (79); desde entonces han sido realizados numerosos estudios con diferentes fines que señalan una distribución heterogénea de la infección con seroprevalencia entre el 5 y 20 % en el área rural (80). En zonas urbanas, los estudios realizados en Bancos de Sangre como se presenta en la tabla siguiente, muestran seroprevalencias entre el 0.28 y 17% (74, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87). El primer caso de transmisión por transfusión sanguínea fue reportado en 1989 por Salazar-Schettino y cols. (88) y el primero de transmisión congénita en 1998 por Guzmán y cols. (89).

Estudios de seroprevalencia realizados en bancos de sangre en México

LUGAR	AUTOR	AÑO	TECNICA *	DONADORES	%
Oaxaca	Goldsmith	1978	FC, HAI, AD	298	4.4
D. F	Monteón	1987	IFI, CIE	265	1.1
D. F	Ramos	1993	ELISA, dot-ELISA, W-b	1,076	0.28
Jalisco	Trujillo	1993	HAI	3,419	1.28
Yucatán	Rodríguez	1995	IFI	215	5.6
Cuernavaca	Rangel	1998	ELISA	318	17.0
D. F	Guzmán	1998	HAI, IFI	64,969	1.5
D. F	Monteón	1999	IFI, ELISA, W-b	3,300	0.3

*FC-Fijación del complemento, HAI-Hemaglutinación Indirecta, AD-Aglutinación Directa, IFI-Inmunofluorescencia Indirecta, CIE-Contrainmunoelctroforesis, ELISA-Inmunoensayo Enzimático, W-b-Westernblot.

Tomado de: Manual de Laboratorio para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi*. Salazar S. P. M., Marín L. A. 2002. UNAM. SSA.

En lo que respecta a la miocardiopatía chagásica, se trata de una entidad escasamente reconocida en nuestro país, pero que parece ser más común de lo que se cree. Así, en ciertas áreas es posible diagnosticar decenas de casos, como por ejemplo en la Costa Chica común a Guerrero y Oaxaca, donde Mendoza y cols. en un año identificaron más de 50 casos de cardiopatía chagásica entre 120 pacientes cardiológicos que asistían a la consulta externa de un hospital en la ciudad de Acapulco, Guerrero (39, 72), casi todos ellos con importante cardiomegalia. Con respecto a la presencia de megaesófago y megacolon chagásicos, se han descrito casos en los estados de Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Jalisco y Tabasco (40, 72). Sin embargo, hasta ahora no se ha descrito ningún caso de enfermedad de Chagas congénita en México.

Bajo los criterios de estratificación de zonas de riesgo, se estima que 1 768 376 personas están infectadas con *T. cruzi* en la República actualmente. El 57.0% de esta población es residente de zonas rurales y 8.9% en zonas suburbanas. Ocho estados (Chiapas, Veracruz, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, Michoacán, México, Oaxaca) tienen más del 69% de los casos seropositivos (931 643 individuos), los cuales representan entre el 5.9% y el 11.0% de las poblaciones respectivas en esas entidades. Se estima que 317 360 de esos ocurren en zonas sin infestación constante, 90% de ellos en áreas urbanas (principalmente el D.F. y el Estado de México >2000 msnm). Estimando una tasa de conversión del 30% para un caso indeterminado en uno crónico, existen 530 369 casos crónicos en 2002. Se estima que entre 5 y 10% de esos casos podían fallecer anualmente (mortalidad entre 26 500 y 53 037). La mortalidad anual debida a la enfermedad crónica se complementa por una mortalidad infantil del 10% de los casos incidentes en menores de edad. Se estima que 830 niños menores de 15 años mueren de falla cardíaca o de meningoencefalitis por año, por la enfermedad de Chagas aguda. El 59.0% de esa mortalidad ocurre en población rural (113).

La incidencia anual de la enfermedad de Chagas se estima en 69 072 casos por año, y el 52.1% de esos casos ocurren en zonas rurales. Se estima que el 18.6% de los casos incidentes (12 553 casos) ocurren en zonas sin un riesgo de infestación permanente (113).

TRANSMISORES

Los primeros antecedentes de la Enfermedad de Chagas en México relacionados con los vectores datan desde la colonia, como reseñan los cronistas de las Indias. Así como de Herrera (1528) en su reseña de la expedición de Francisco de Garay a Pánuco, Veracruz, describe que el ejército expedicionario “fue víctima molesta de los mosquitos y pitos que pican y dejan señal como las chinches y suelen causar calenturas”. Por su parte, Fray Bernardino de Sahagún en su Historia General de las

cosas de la Nueva España describe la existencia de los triatominos como “hay unas cucarachuelas son pardillas, tienen dos maneras de alas con que vuelan; son ponzoñosas, donde pican, imprimen comezón e hinchazón; acuden de noche a la candela”. En 1951, Juan de Cárdenas al hablar sobre el reino de nueva Galicia cuyo territorio comprendía los estados de Aguascalientes, Jalisco y parte de Zacatecas, Durango, San Luis Potosí y Nayarit, les llamo “chinchas de Compostela más enojonas y malas que las arañas”, muy probablemente se refería a *Triatoma picturata* (40).

En 1893, se publicó una de las obras más importantes sobre la investigación médica mexicana de esa época: la Zoología médica del Dr. Jesús Sánchez, en la cual no se hace mención alguna de los triatominos ya que para ese momento no se conocía su importancia en salud pública y seis años después en 1899 en la monumental obra denominada Biología Centrali-Americana, en el capítulo de Heteroptera, Champion registra los triatominos conocidos hasta entonces, que corresponden a casi la mitad de las especies que actualmente se conocen para México.

No se vuelve a tener noticia de estos vectores hasta los estudios dirigidos en Veracruz por el Dr. Carlos C. Hoffmann en 1928 sobre un vector de la Enfermedad de Chagas, en donde utiliza dos nombres para la especie que actualmente conocemos como *Triatoma dimidiata*. Por su parte, Mazzottii publica los primeros hallazgos de triatominos naturalmente infectados de 1937 a 1940, además de la descripción de algunas especies. Entre 1953 y 1967 Ryckman y colaboradores publicaron una serie de trabajos incluyendo la biosistemática de *Dipetalogaster maxima*, especie endémica de Baja California Sur.

La importancia de los transmisores en México, la señalan Lent y Wygodzinky en 1979, al considerarlo como el país Hispanoamericano que tiene más población de triatóminos (56).

Hasta 1985, Zárate y Zárate realizan una revisión del estado del conocimiento de los triatominos y publican la clásica lista anotada de los triatominos mexicanos, reuniendo toda la información disponible hasta entonces sobre distribución y algunos datos bionómicos de las especies. En el siglo pasado entre 1912 y 1999 se describieron 16 especies más de triatominos. Actualmente se conocen 30 especies de triatominos para México distribuidas en tres tribus y siete géneros (cuadro 1) (57, 59, 60, 105).

Se sabe que 19 de las especies mexicanas se han encontrado naturalmente parasitadas (57, 59, 105), de mayor a menor importancia son: Triatominos con tendencias antropofílicas fuertes, es decir, especies domiciliadas: *Rhodnius prolixus*, *Triatoma barberi*, *T. dimidiata*, *T. lecticularia*, *T. mazzottii* y *T. pallidipennis* (106). Mientras que cuatro especies del complejo ***phyllosoma***, *T. longipennis*, *T. phyllosoma*,

T. mexicana, *T. picturata*, y junto con *T. gerstaeckeri* y *Dipetalogaster maxima* muestran tendencias a establecerse en los domicilios (106, 107). El resto son silvestres *T. hegneri*, *T. nitida*, *T. peninsularis*, *T. protacta*, *T. recurva*, *T. sinaloensis* (57).

Especies de Triatominos mexicanos

TRIBU	GENEROS Y NÚMERO DE ESPECIES
Bolboderini	<i>Belminus</i> (1)
Rhodniini	<i>Rhodnius</i> (1)
Triatomini	<i>Dipetalogaster</i> (1)
	<i>Eratyrus</i> (1)
	<i>Panstrongylus</i> (1)
	<i>Paratriatoma</i> (1)
	<i>Triatoma</i> (24)
TOTAL	30

Tomado de: Iniciativa para la Vigilancia y control de la Enfermedad de Chagas en la Republica Mexicana. Ramsey J M, Tello L A, Pohls J L.2003. Ins. Nac. De Sal. Pub. 214 pp.

El transmisor es un artrópodo hematófago que pertenece a la clase insecta, orden *hemiptera*, familia *reduviidae*, subfamilia *triatominae*. En la República Mexicana han sido reportados siete géneros: *Belminus*, *Dipetalogaster*, *Eratyrus*, *Panstrongylus*, *Parabelminus*, *Rhodnius* y *Triatoma* con 39 especies distribuidas en todos los estados, de los cuales 20 han sido identificadas naturalmente infectadas con *T. cruzi* (62, 63)

Los únicos vectores epidemiológica y epizoológicamente importantes de *T. cruzi* son las chinches de la subfamilia *Triatominae* (Reduviidae, Hemiptera). Las especies de esta subfamilia son hematófagas a lo largo de su vida, alimentándose con la sangre de vertebrados y en ocasiones de algunos artrópodos en las primeras etapas de su desarrollo (55).

El ciclo de vida de los triatóminos incluye las siguientes fases: huevo, 5 estadios ninfales y un adulto (Fig. No.1); su duración es variable dependiendo de la especie y de la disponibilidad de fuente alimenticia. La mayoría de las especies completan su ciclo entre 5 y 12 meses en condiciones óptimas. El tamaño del adulto varía dependiendo de la especie en un rango de 5 a 45 mm.

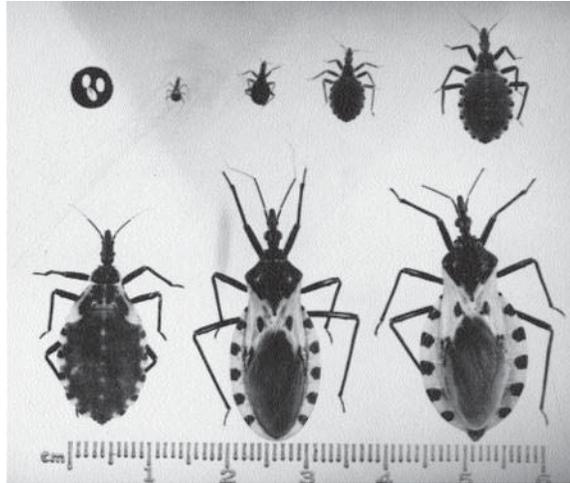


Figura No. 1 fases de *Triatoma*.
Tomado de: www.conicit.go.cr/.../rz_obra.shtml

El microhábitat de estas chinches besuconas como se le conoce frecuentemente, se encuentra en la proximidad de nidos y madrigueras de aves, marsupiales, edentados, roedores, carnívoros y murciélagos, aunque pueden encontrarse entre las rocas, bajo troncos caídos, en palmeras, en bromelias epifitas, etc. Los triatóminos que se han adecuados a las condiciones peridomésticas ocupan lugares protegidos en los corrales o cerca de los sitios de descanso de los animales domésticos, mientras que algunos otros invaden las habitaciones humanas, especialmente aquellas construcciones precarias que les proporcionan hendiduras, pisos de tierra o techos de palma donde encuentran refugio adecuado cerca de su fuente de alimentación. En estos lugares prefieren los sitios oscuros y protegidos. Durante el día permanecen escondidos y en la noche salen de sus refugios en busca de alimento, aunque hay especies que pueden hacerlo durante el día bajo ciertas circunstancias. La picadura no es dolorosa debido a los anestésicos de su saliva, por lo que es común que el huésped no se percate de su presencia. Las chinches tardan en alimentarse entre 20 y 30 minutos. Por otro lado, pueden sobrevivir sin alimentarse por varios meses. Son pobres voladores y no muy ágiles si hay alimento disponible (56).

Todas las especies de *Triatominae* son vectores potencialmente de *T. cruzi*, pero los factores más importantes que determinan su capacidad de transmisión son: un intervalo corto entre la alimentación y la defecación, la adecuación para vivir en las habitaciones humanas, el alto grado de antropofilia y su amplia distribución geográfica (57).

A la fecha, se han descrito 123 especies de *Triatominae* en el mundo (58), de las cuales se conocen 30 en México (57, 59, 60). De ellas, 25 pertenecen al género *Triatoma laporte*, que es el mejor representado y de mayor interés, ya que en él se

incluyen la mayoría de las especies que han encontrado infectadas naturalmente por *T. cruzi* (57), además de que un buen número presenta algún grado de asociación con la vivienda humana.

Más de 60 especies de triatóminos se ha reportado con infección natural o experimental con *T. cruzi* (61), además, como el grupo muestra comportamiento y fisiología similares, todas las especies se deben considerar como vectores potenciales (61, 56). Es por ello que se deben realizar estudios enfocados en esclarecer varios aspectos de su binomía y los factores de riesgo intrínsecos a cada especie para la transmisión.

México posee una composición faunística de estas chinches muy diferente a la de otros países, incluso vecinos, por lo que es necesario estudiar el índice de parasitemia por *T. cruzi* de diferentes especies comúnmente capturadas en la periferia o en el interior de las viviendas humanas en el país.

De las especies conocidas en México, sólo unas cuantas tienen importancia epidemiológica y son 18 las que se han encontrado infectadas naturalmente *Dipetalogaster maximus*, *Rhodnius prolixus*, *Triatoma barberi*, *Triatoma dimidiata*, *T. gerstaeckeri*, *T. hegneri*, *T. lecticularia*, *T. longipennis*, *T. mazzottii*, *T. nitida*, *T. pallidipennis*, *T. peninsularis*, *T. phyllosoma*, *T. picturata*, *T. protracta*, *T. recurva*, *T. rubida* y *T. sinaloensis* (57).

Las especies con mayor importancia epidemiológica por su antropofilia y por tener una distribución geográfica amplia son: *Triatoma barberi*, *T. dimidiata*, *T. gerstaeckeri*, *T. longipennis*, *T. mazzottii*, *T. pallidipennis*, *T. phyllosoma*, *T. picturata* y particularmente *Rhodnius prolixus*.

Especies encontradas en el estado de Michoacán:

Triatoma barberi

Especie encontrada en domicilio y peridomicilio, en éste último ambiente asociado con aves de corral y con atracción por la luz (111). Incluso colonizando los domicilios y encontrándose todos sus estadios ninfales y los huevos adheridos al sustrato (56). Originalmente no se conocían para México focos silvestres (57), sin embargo recientemente (112) la han colectado asociada a un roedor del género *Neotoma*. Cabe señalar que en la clasificación de Carcavallo (1987), la incluye en el grupo de las ocasionalmente domiciliadas.

Distribución: Colima, Distrito Federal, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala.

Triatoma mazzottii

Se le encuentra en serranías boscosas con valles semihúmedos (113). Ocasionalmente domiciliada o en el peridomicilio asociada con *Neotoma sp.* y armadillos (56, 114).

Distribución: Durango, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit y Oaxaca.

Igual a *T. phyllosoma* (117); ó probable *T. longipennis* (57).

Probable error de identificación por estar dentro de los límites de distribución de *Triatoma longipennis* (57).

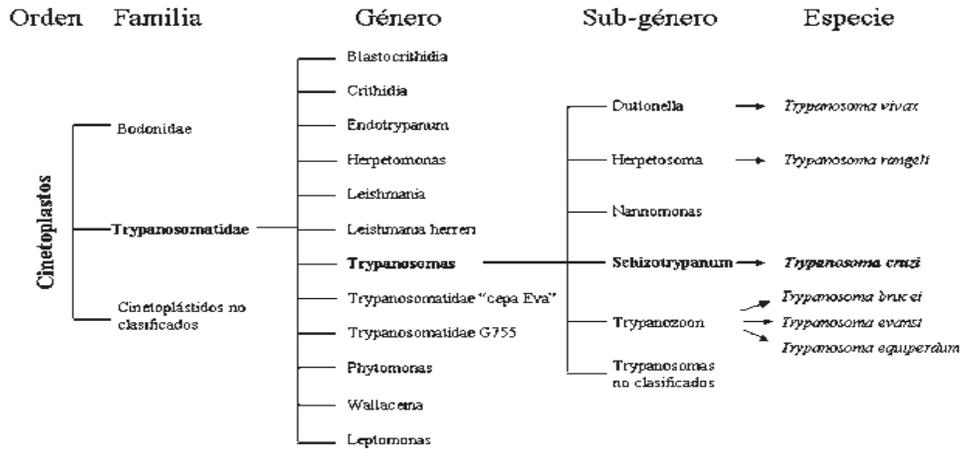
Triatoma pallidipennis

Especie silvestre asociada con roedores del género, *Neotoma*, específicamente *Neotoma alleni* y armadillo *Dasypus novemcintus*. En el peridomicilio se encuentra en gallineros y corrales; además puede encontrarse en el intradomicilio (57, 79).

Distribución: Colima, Guerrero, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí y Veracruz.

TRIPANOSOMAS: CONSIDERACIONES BIOLÓGICAS

Aspectos relevantes de la familia *Trypanosomatidae*. La familia *Trypanosomatidae* pertenece a un grupo biológico peculiar del súper reino Eucariota, clase Euglenozoa, orden Cinetoplástida (Cuadro IV). Todos los miembros del orden cinetoplástida están caracterizados por la presencia de un organelo peculiar que los define, llamado cinetoplasto. Entre los cinetoplástidos, se reconocen varios géneros que incluyen tripanosomas de vida libre (*Proleptomonas*), parásitos de invertebrados (*Phytomonas*), y parásitos de vertebrados e invertebrados (como *Trypanosoma* y *Leishmania*). Estos últimos incluyen a las especies parásitas del hombre.



Cuadro IV: Cuadro taxonómico de *T. cruzi* y *T. brucei*

Tomado de: Leishmania, Trypanosoma and monoxenous trypanomatids as emerging opportunistic agents. Dedet, J. P., Pratlong, F. 2000. J Eukaryot Microbiol. 47 (1): 9-37.

El género *Trypanosoma* se caracteriza por utilizar dos huéspedes, uno vertebrado y otro invertebrado, para completar su ciclo de vida. Especies representativas de este género son *T. cruzi* y *T. brucei*. Las enfermedades que producen son distintas, *T. cruzi* produce la enfermedad de Chagas y *T. brucei gambiense* o *T. brucei rhodesiense* causan la enfermedad del sueño (9).

MORFOLOGÍA

Existen 4 formas morfológicas principales de los tripanosomas: tripomastigote, epimastigote, promastigote y amastigote (Fig. 2). Las diferentes formas se distinguen entre sí por la disposición del cinetoplasto en relación al núcleo y por la presencia o ausencia de una membrana ondulante:

a) El tripomastigote, es un protozoo flagelado de cuerpo alargado, mide 20-25 μm de longitud. Presenta un gran núcleo central vesiculoso, un cinetoplasto prominente subterminal y posterior al núcleo, del cual emerge el flagelo que recorre toda la longitud del cuerpo del parásito para salir libre en la porción anterior del cuerpo y formar una membrana ondulante a todo lo largo del parásito. Esta forma se encuentra en la sangre de los mamíferos infectados y en el intestino posterior de los triatóminos transmisores.

b) El epimastigote, también es de aspecto fusiforme con 20 μm de longitud, en el cual el cinetoplasto ha migrado desde la porción posterior del cuerpo hasta la porción anterior cercana al núcleo, y el flagelo forma una pequeña membrana ondulante. El

epimastigote se multiplica por fisión binaria en el intestino de los transmisores y da lugar a la formación de tripomastigotes metacíclicos, que son los infectantes en forma natural para el hombre y reservorios.

c) El promastigote, es una forma transicional efímera ya que dura muy poco tiempo, de cuerpo alargado de 20 μm de longitud, el cinetoplasto ya migró hasta la porción anterior del cuerpo del parásito del que emerge el flagelo libre sin formar membrana ondulante.

d) El amastigote que es de forma redondeada y mide 2 a 2.5 μm , no tiene flagelo libre, presenta un gran núcleo y un cinetoplasto. Esta forma de parásito es intracelular y se multiplica por fisión binaria, dando grandes conglomerados de parásitos, denominados “nidos de amastigotes” (10)

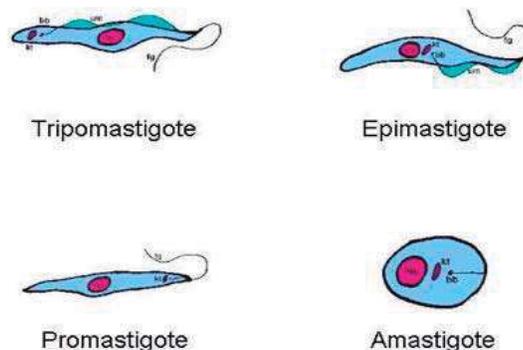


Figura No. 2: Estadios morfológicos de tripanosomátidos Imagen compuesta de 4 dibujos obtenidos de: <http://www.tulane.edu/~wiser/protozoology/notes/kinet.html#chagas>

ESTRUCTURAS CELULARES DE LOS TRIPANOSOMAS

Los tripanosomátidos tienen estructuras celulares únicas entre los protozoarios. Una de las características sobresalientes de estos organismos es el conjunto de microtúbulos (polímeros lineales de alfa y beta tubulina) subpeliculares, los cuales se encuentran adosados a la membrana citoplásmica (por el lado interno), conformando un citoesqueleto periférico de gran rigidez. Los microtúbulos superpeliculares se distribuyen en toda la membrana citoplásmica, excepto en el área donde emerge el flagelo (bolsa flagelar) (Fig. 3). Esta región carente de microtúbulos es de gran

importancia para la célula, ya que es el único sitio donde se realiza endocitosis o exocitosis de moléculas.

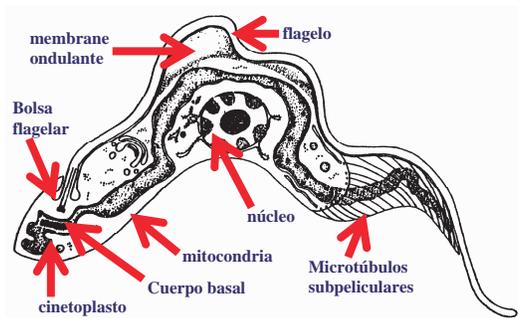


Figura No. 3

Otra estructura especializada de *T. cruzi* y otros tripanosomátidos es el cinetoplasto. Es una malla o red de ADN extranuclear localizada en un punto específico de la mitocondria (única en estos casos). Esta red de ADN representa una proporción importante del ADN total en la célula. El ADN del cinetoplasto está estructurado por la concatenación de dos tipos de moléculas circulares de ADN: los minicírculos y los maxicírculos. Los primeros forman la mayor parte de la estructura (5000-10 000 moléculas por célula). Como su nombre lo indica, son moléculas circulares de ADN con una longitud perimetral de 100 a 2500 pb. Por muchos años elucubraba sobre su función, ya que no contienen información genética evidente. Ahora se sabe que los minicírculos codifican para ARNs pequeños que participan en el procesamiento (por edición) de ARNs mensajeros mitocondriales (11, 12, 13, 14, 15).

CICLO DE VIDA DE Trypanosoma cruzi

T. cruzi se presenta en varios estadios durante su crecimiento y desarrollo (Fig. 4). La infección es transmitida por chinches a más de 100 diferentes especies de animales salvajes y domésticos. Estas chinches se infectan al picar a un animal infectado, ingiriendo así al parásito (en su estadio de tripomastigote). Dentro de la chinche y a lo largo de su tracto digestivo, el parásito sufre una serie de transformaciones antes de ser expulsado en las heces. En el estómago del insecto, los tripomastigotes se redondean formando amastigotes, a mitad del intestino se transforman en epimastigotes que se replican mediante fisión binaria y finalmente, aproximadamente 2 semanas después, llegan al recto, donde se convierten en tripomastigotes metacíclicos. La infección del mamífero se inicia cuando un insecto defeca mientras se alimenta, liberando tripanosomas metacíclicos en sus heces. Los

tripanosomas, incapaces de atravesar la piel intacta, entran en el organismo a través del hoyo que deja la chinche en la piel (sitio de la mordedura), o por heridas que se puede producir el mismo huésped al rascarse (chagoma), o al llevar las materias fecales que se embarra en los dedos el huésped humano y luego se frota los ojos, depositando éstas junto con los tripomastigotes metacíclicos en la conjuntiva ocular (signo de Romaña) a través de las mucosas, invadiendo inmediatamente las células hospederas.

Dentro de las células, los tripomastigotes pierden su flagelo y se redondean para formar amastigotes, los cuales se multiplican intracelularmente por fisión binaria. Cuando los amastigotes casi llenan la célula, se transforman en tripomastigotes procíclicos, los cuales son liberados a los espacios intersticiales y al torrente sanguíneo, rompiendo la célula. Los tripomastigotes tienen la habilidad de invadir otras células, donde se transforman de nuevo en amastigotes, repitiéndose indefinidamente el ciclo de infección. El ciclo de vida se cierra cuando un triatómino no infectado se alimenta de un animal con tripanosomas circulando (16).

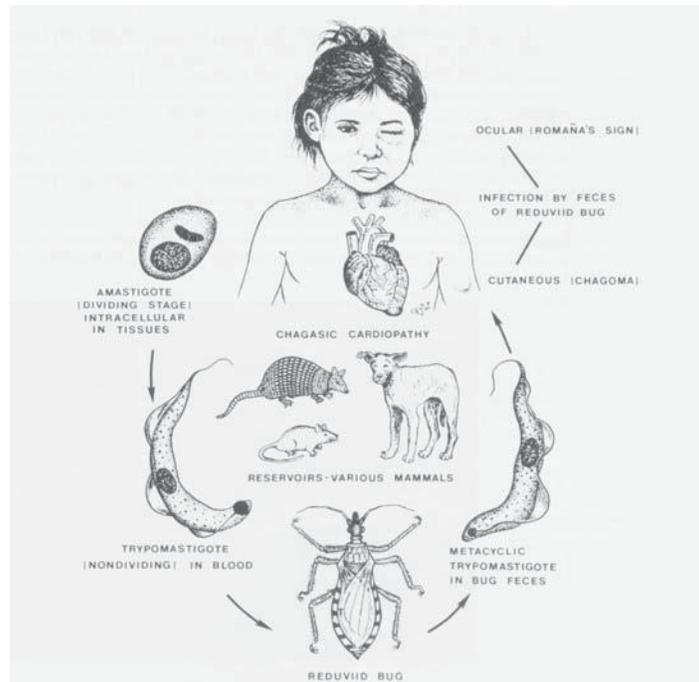


Figura No. 4 CICLO DE VIDA DE *T. cruzi*

Tomado de: Trypanosoma cruzi y la enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana). Cevallos, A. M., Hernández R. 2001. Departamento de Biología Molecular; Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

Se conocen tres principales vías de transmisión:

1) Vía vectorial, que consiste en la picadura de los triatóminos vectores y la ulterior contaminación de piel y mucosas con las deyecciones del insecto. Forma clásica de transmisión en áreas endémicas y que consiste en una transmisión indirecta donde influyen factores tales como la pobreza, zonas rurales, malas condiciones de la vivienda, temperaturas altas o moderadas y el clima seco.

2) Vía transfusional, cuyo riesgo efectivo de transmisión con 500 ml de sangre infectada es de 12.5% a 25%. Esta vía es la que se produce cuando un individuo recibe una transfusión de sangre infectada con el parásito. Se considera la segunda vía de transmisión en importancia en zonas endémicas.

Los factores que influyen en la transmisión transfusional no están claros pero se proponen:

- Tipo de componente transfundido.
- Concentración del parásito en el producto transfundido.
- Nivel de parasitemia en el momento de la donación.
- Estado del sistema inmune del receptor.

3) Vía trasplacentaria (Enfermedad de Chagas connatal) que corresponde a un 10% del total de los casos.

Otras vías, de escasa significación epidemiológica, son la transmisión por alimentos, trasplante de órganos, lactancia materna y accidentes de laboratorio (17, 18, 19).

RELACIÓN HUÉSPED- PARÁSITO

Respecto a la relación huésped-parásito, a nivel celular se sabe que las formas infectantes de *T. cruzi* penetran la célula y como amastigotes se reproducen por fisión binaria cada 12h; de estas formas, aproximadamente el 15% sufre degeneración y el resto induce lisis citoplasmática de la célula parasitada. Las cepas más virulentas son las que tienen mayor poder de penetración (aquellas en las que predominan las formas delgadas) y de éstas, aquellas cuyos amastigotes presentan mayor índice de mortalidad de la célula huésped; así, cuanto mayor sea el número de parásitos y de células muertas mayor será la cantidad de antígenos parasitados liberados.

T. cruzi puede parasitar cualquier elemento del organismo, lo cual está basado en observaciones experimentales y en humanos, donde se demuestra claramente que

aún cuando existen cepas con tropismos bien definidos para células tejidos u órganos, las células más frecuentemente parasitadas son macrófagos, fibroblastos, neuroglia central o periférica y musculares estriadas o lisa, entre otras (27).

La relación huésped-parásito se inicia desde el momento en que *T. cruzi* se pone en contacto con el aparato inmunocompetente del huésped mamífero, ya que los parásitos se comportarán como antígeno que despertará la respuesta inmunológica humoral y celular del huésped, ésta última mandando macrófagos a fagocitar parásitos y la humoral a producir anticuerpos que lisan y aglutinan a los tripomastigotes sanguíneos. Desafortunadamente los parásitos que ya se encuentren en la forma de amastigotes intracelulares, no podrán ser destruidos por los anticuerpos circulantes y serán los responsables de gran parte de las lesiones tífulares que se producen en la enfermedad de Chagas.

El parásito agrede al huésped por varios mecanismos, pero quizás la destrucción en masa de células del retículo endotelial, así como de otros tejidos, sean de las más importantes. Se ha señalado que el parásito produce una tripanotoxina que tiene que ver con el bloqueo de ramas del corazón, así como la aparición de “megas” (megaesófago, megacolon, etc.) (10).

La evolución de la enfermedad se caracteriza por presentar las fases aguda, indeterminada y crónica.

- **Fase aguda.** Aproximadamente el 70% cursan asintomático. Menos del 5% presentan las manifestaciones clínicas patognomónicas (20). El periodo de incubación, generalmente asintomático, oscila de 4 a 10 días. Algunas veces y cuando la transmisión se hizo por triatóminos aparecen las manifestaciones de entrada como el signo de Romaña (complejo oftalmoganglionar) o los chagomas. El signo de Romaña consiste en una blefaritis indolora, bipalpebral, unilateral, eritemapapulosa, con edema elástico y reacciones conjuntival y ganglionar satélites (Fig. 5). Los chagomas de inoculación ocurren en otras partes del cuerpo, se pueden definir como nodulaciones duras, eritemapapulosas que pueden presentar pequeñas vesículas. Estas lesiones no supuran y evolucionan lentamente (2 a 4 semanas). La fiebre es el signo más importante en esta etapa observándose en el 95% de los casos agudos. La temperatura se eleva precozmente oscilando entre 38 a 39.5 ° C con un perfil intermitente, irregular, generalmente con picos vespertinos, a veces puede ser continua y elevada, relacionándose su intensidad con la gravedad de la infección. Generalmente se acompaña de cefalea, astenia, malestar general, mialgias, artralgias e hiporexia. Los niños con frecuencia se muestran irritables, observándose gran postración en los casos más graves. La duración del periodo febril guarda relación con la

parasitemia, persistiendo de 2 a 4 semanas después de haber detectado los tripomastigotes en la sangre. El descenso de la curva térmica por lo general ocurre por lisis.

La enfermedad aguda es mortal aproximadamente en el 1% de los pacientes por miocarditis aguda o meningoencefalitis, generalmente estos casos se presentan en niños que se infectan durante el primer año de vida o en ancianos, siendo raros y muy severos (26).

La hepatoesplenomegalia se presenta en 30 a 40% de los casos con repercusiones clínicas y ocurre en forma precoz pero discreta. El hígado suele aumentar rápida e intensamente de volumen al instalarse la insuficiencia cardiaca aguda. La meningoencefalitis es rara y de pronóstico reservado. Se presenta principalmente en lactantes y de estos casos son comunes los movimientos convulsivos generalizados, con crisis frecuentes o espaciadas, la miocardiopatía es común en la enfermedad de Chagas aguda y parece ser la lesión anatómo-patológica más constante en los estudios postmortem, incluso en aquellos pacientes que en vida presentaron signos mínimos de insuficiencia cardiaca. Los casos graves de miocardiopatía chagásica aguda pueden evolucionar hacia la insuficiencia cardiaca congestiva, a veces de instalación brusca y curso violento, que conduce a la muerte en cuestión de horas o días (5, 21).



Figura 5: Niño con el signo de Romaña Obtenida de la colección imágenes del Programa para Investigación y Entrenamiento en Enfermedades Tropicales (TDR) Image ID: 9205113. http://www-nt.who.int/tropical_diseases/databases/imagelib.pl

- **Fase indeterminada.** Durante esta fase desaparece el cuadro clínico y el individuo se considera curado; sin embargo, la serología es positiva y si se le estudia adecuadamente, con frecuencia se le encontrarán datos

electrodiográficos sugerentes de miocarditis (5, 8, 21, 22). Según Naranja y col. (23) se trata de la forma más frecuente e importante desde el punto de vista epidemiológico. Ha sido denominada “forma subclínica” o simplemente “infección chagásica”. Se caracteriza por la seropositividad en un individuo asintomático, con electrocardiograma (ECG) y radiografía aparentemente normales pero que al ser estudiados adecuadamente presentan alteraciones del ECG compatibles con la enfermedad de Chagas como lo demostraron López y Chapadeiro (24). Un porcentaje elevado de este tipo de casos evoluciona hacia las formas cardíaca o digestiva después de 10 a 20 años de evolución, aunque alrededor del 25% permanece indefinidamente en la “etapa indeterminada” (5).

- **Fase Crónica.** Se presenta después del periodo asintomático. casi siempre en personas de 20 a 50 años de edad. Puede ocurrir que en las fases iniciales el paciente sea hipo o asintomático, e inclusive el examen físico no revele alteración alguna, apenas una cardiomegalia ligera (5, 21, 25).

La miocardiopatía (habitualmente dilatada) es la forma que hace trascendente a la enfermedad de Chagas, ya que además de incapacitar al individuo en la edad más productiva de su vida, con frecuencia lo conduce a la muerte. La miocardiopatía chagásica crónica (CCC) en su evolución natural, avanza insidiosamente hacia la insuficiencia cardíaca, aunque en las áreas endémicas con frecuencia es interrumpida por la muerte súbita. Según Días Pinto (5) alrededor del 40% de los casos muestran evolución benigna, permitiendo la sobrevivencia del paciente hasta los 60 o más años de edad, cuando otras patologías como la cardiopatía isquémica y la cardioangioesclerosis se suman y se confunden. Los casos graves de miocardiopatía chagásica crónica se observan con mayor frecuencia entre la tercera y la quinta década de la vida, y constituye un importante factor de mortalidad en esos grupos de edad en las zonas endémicas (5, 22, 23)

PATOGENIA

Trypanosoma cruzi produce lesiones por diferentes mecanismos patogénicos los cuales están relacionados con factores que determinan la evolución de la infección y dependen fundamentalmente del parásito y del huésped (27):

- Principales factores relacionados con la patogenia:

Parásito

Polimorfismo

Tropismo

Virulencia

Constitución antigénica
Cantidad de parásitos

Huésped

Constitución genética
Sexo
Edad
Especie
Grupo étnico
Infecciones
Respuesta inmunológica
Temperatura
Estado nutricional y dieta

Las diferentes formas anatomoclínicas son de distribución geográfica variable, los parásitos, regionalmente muestran características biológicas distintas, por lo que, algunos investigadores definen diferentes tipos de cepas con base en su morfología, parasitemia, índice de multiplicación y patogenicidad en el ratón.

Una vez que el parásito penetra al huésped, ya sea por el sitio de la picadura (chagoma de inoculación), por la conjuntiva ocular (signo de Romaña) o por otros mecanismos, comienzan a multiplicarse dando origen a gran número de parásitos que se diseminan por vía sanguínea, para infectar varios tipos de células, con preferencia a células musculares, macrófagos, neuronas y células del sistema nervioso central y periférico. La ruptura de las células parasitadas hace que se provoque una intensa reacción inflamatoria de células mononucleares y en casos agudos provoca miocarditis, destrucción de ganglios autónomos en el corazón y el tracto gastrointestinal así como meningoencefalitis. Con el desarrollo de la respuesta humoral y la inmunidad mediada por células, la parasitemia casi desaparece y pasa a niveles subpatentes y también disminuyen los parásitos en los tejidos.

No obstante el grado de respuesta inmune, las personas permanecen crónicamente infectadas para toda la vida, con parásitos circulando en sangre periférica de cuando en cuando y parásitos formando nidos de amastigotes en los tejidos (Fig.6). La mayoría de los casos infectados que pasan al estado crónico son asintomáticos y el daño tisular se limita a pequeños focos de inflamación y pérdida de algunos ganglios autónomos. Entre el 10% y el 30% de individuos crónicos, desarrollan daño progresivo del corazón y tracto gastrointestinal en forma suficiente para que se presente el cuadro clínico de la enfermedad de Chagas.



Figura 6. Sección histológica de músculo cardíaco teñido con hematoxilina y eosina que muestra nido de amastigotes de *T. cruzi*. Obtenida de la colección imágenes del Programa para Investigación y Entrenamiento en Enfermedades Tropicales (TDR) Image ID: 0005363. http://www-nt.who.int/tropical_diseases/databases/imagelib.pl

Se presentan dos tipos de lesiones: la inflamatoria y la neuronal; ambas, la respuesta básica del huésped a *T. cruzi* parece ser una consecuencia directa de la multiplicación del parásito; esta multiplicación origina lesión por destrucción de las células del huésped y/o por mecanismos de sensibilización; las alteraciones degenerativas que pueden ocurrir en células no parasitadas son consecuencia de trastornos isquémicos o metabólicos inducidos por el proceso inflamatorio o por fenómenos de autoinmunidad (28).

En la fase aguda existen elevada parasitemia y parasitismo acentuado en órganos y tejidos, los focos inflamatorios son escasos y pequeños por lo que su detección requiere un examen minucioso de los cortes histológicos (28).

Durante la fase crónica, las lesiones inflamatorias son menos aparentes e irreversibles, presentan fibrosis peri e intraganglionar y reducción en el número de neuronas (29).

En la enfermedad de Chagas crónica además se presenta miocarditis progresiva, hasta dilatación flácida de las cuatro cavidades del corazón y según autores brasileños, en algunos casos se presenta aneurisma apical (pico de cigüeña), con adelgazamiento notable de las paredes del corazón a ese nivel. Al examen histopatológico, se observan gran destrucción de las células miocárdicas, edema e infiltrado mononuclear del miocardio, fibrosis difusa y cicatrización del sistema conductor con fibrosis. Aun cuando la patogenia de la miocarditis chagásica crónica no está bien establecida, se sospecha de un proceso autoinmune, ya que la intensidad de la inflamación crónica parece estar fuera de proporción, pues se encuentran muy pocos parásitos (amastigotes) en los tejidos afectados.

La aparición de los denominados “megas”; megaesófago, megacolon, etc. Son causados por la destrucción de ganglios autónomos al aparecer por una tripanotoxina. El deterioro de la motilidad y vaciado del esófago y colon trae como consecuencia hipertrofia y dilatación del tubo digestivo produciéndose los síndromes relacionados con los megas (10).

RESPUESTA INMUNE A LA INFECCIÓN POR Trypanosoma cruzi

La enfermedad se inicia con la invasión parasitaria de macrófagos, músculo liso, estriado, miocardio, fibroblastos, adipocitos y neuronas. Hay presencia de inflamación focal inicial, que se acompaña de necrosis focal, nidos de amastigotes y la presencia de tripomastigotes sanguíneos. Lo que provoca una respuesta inmune evidente, celular y humoral (108).

Trypanosoma cruzi induce en el huésped vertebrado una respuesta inmune específica y altera en forma inespecífica y generalizada la funcionalidad del sistema inmune. La respuesta inmune defiende al huésped contra los efectos de la invasión parasitaria desde el momento de la infección realizando un papel preponderante en el control del número de parásitos en el organismo. Los mecanismos desarrollados evitan que una eventual reinfección de lugar a una nueva fase aguda. A pesar de esta actividad protectora, el microorganismo no es erradicado y se establece una relación huésped-parásito condicionada por las características de ambos y por factores ambientales que tienden a llevar la infección aguda a la cronicidad. En los pacientes durante la fase aguda de la infección ha sido descrita una severa inmunodepresión, cuyo grado más importante coincide con el punto más elevado de la parasitemia (30).

La infección por *T. cruzi* durante la fase aguda, estimula una respuesta humoral específica con niveles altos de anticuerpos del tipo IgM, para incrementarse posteriormente los de las clases IgG e IgA, lo cual orienta para el reconocimiento de infecciones recientes o crónicas (33). En ensayos in vitro ha sido observado que los anticuerpos interactúan con el tripomastigote circulante induciendo su lisis y pueden poseer anticuerpos adheridos a su superficie y ser lisados por acción del complemento, además el parásito puede liberarse de la acción de los anticuerpos por un mecanismo de “camping” (34).

En la lisis de epimastigotes y tripomastigotes se ha demostrado la efectividad de mecanismos citotóxicos, además de la liberación de antígenos del parásito por células infectadas que pueden adsorberse tanto a células sanas como infectadas haciéndolas susceptibles a la lisis mediada por anticuerpos o a la acción citocida.

Se ha observado también la presencia de activación policlonal e inmunodepresión desarrolladas durante las fases aguda o crónica de la enfermedad (35).

En la fase crónica el parasitismo es escaso en contraposición con la presencia de una miocarditis intensa debida, según algunos autores a fenómenos de autoinmunidad ya que en estudios realizados en conejos infectados con *T. cruzi* y con fracciones subcelulares del mismo comprobaron una intensa respuesta inmune mediada por células que se presentan tanto contra el parásito como contra antígenos de miocardio (31, 32).

En la miocarditis chagásica aguda, la penetración del parásito en el interior del cardiocito origina una destrucción mecánica y una rotura miofibrilar. En el endomicio se observa una reacción inflamatoria compuesta de neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, histiocitos y macrófagos. Antígenos provenientes de *T. cruzi* sensibilizan a los linfocitos T que, eventualmente, estimulan la producción de anticuerpos por las células plasmáticas. La liberación de linfocinas atrae y activa a los macrófagos y se estimula la producción de factor plaquetario que promueve la agregación plaquetaria intravascular por liberación de tromboxano A₂. Puede observarse una intensa vasculitis y se han demostrado anomalías de la microcirculación con hiperreactividad microvascular (118-121). Estos cambios microvasculares originan isquemia focal. En células endoteliales infectadas por *T. cruzi* se produce un aumento en la producción de factores de adherencia plaquetaria y activación de sustancias vasoactivas constrictoras de origen endotelial. Histológicamente se observa destrucción del sistema nervioso autónomo incluyendo destrucción de ganglios intracardíacos, periganglionitis, perineuritis, depleción neuronal y lesión de las células de Schwann.

En la fase indeterminada de la infección, la respuesta inmune se restablece.

De 10 a 20 años después de la fase aguda inicial de la infección por *Trypanosoma cruzi*, alrededor de 30% de los casos sufren lesiones cardíacas que se caracterizan por la escasez de parásitos en el miocardio, lo cual sugiere que el sistema inmunitario es el que desempeña el papel más importante como mecanismo causal de la enfermedad (96). La posibilidad se ve respaldada por la presencia de linfocitos productores de anticuerpos contra tejido cardíaco en el infiltrado inflamatorio del miocardio (97, 98). Además, en la enfermedad de Chagas pueden activarse diversos tipos de autoanticuerpos: contra las membranas plasmáticas de células de músculo estriado y de células endoteliales (99) contra la laminina (100) y contra los antígenos acídicos del citosol (101); anticuerpos que se ligan a los receptores beta-adrenérgicos y colinérgicos muscarínicos de linfocitos y del miocardio (102); anticuerpos antineuronales; anticuerpos contra la proteína de superficie Fl-160 kDa (presente en el

flagelo de tripomastigotes), y anticuerpos contra los péptidos 48X y 12X de esa proteína, que reaccionan con las proteínas de axones de nervios humanos (103, 104).

CUADRO CLÍNICO

En la mayoría de los casos como ya se mencionó el período agudo es asintomático o se presenta como una influenza leve. A la penetración del parásito ya sea por piel o por la conjuntiva ocular, sigue un periodo de incubación de 4 a 15 días para que se presente el signo de Romaña, descrito anteriormente y fiebre de 39-41° C, cuadro clínico que desaparece en dos a tres semanas espontáneamente. Si la penetración fue por debajo de la piel, aparece el denominado “chagoma” en cuyo caso se presenta como nódulo subcutáneo, microadenitis regional y fiebre.

Un 10% de los casos agudos de enfermedad de Chagas y más frecuente en niños, pueden desarrollar miocarditis aguda fulminante y aparecer lesiones neurológicas sobre todo en pacientes inmunocomprometidos (personas con SIDA por ejemplo).

Los sobrevivientes a la infección aguda, ya sea aparente o inaparente, entran a un estado crónico asintomático indeterminado que puede durar muchos años y el paciente morir de viejo; pero de un 10 a 30 % de los pacientes en estado crónico desarrollan miocarditis y “megas” después de varios años o décadas. Entre los signos más tempranos de miocarditis esta la aparición de alteraciones en el electrocardiograma (ECG), principalmente bloqueos de rama derecha del haz de His, el cual puede presentarse años antes que aparezcan los síntomas.

Las manifestaciones de miocarditis aparecen con mayor frecuencia en adultos jóvenes, con falla cardiaca por congestión biventricular que frecuentemente se complica con tromboembolias pulmonares y sistémicas. El bloqueo completo atrioventricular o arritmias ventriculares pueden causar paro cardiaco súbito (muerte súbita del leñador joven).

La denervación del esófago en caso de enfermedad de Chagas crónica, produce un síndrome idéntico al de las acalasia ideopáticas del esófago. La disfunción del esfínter esofágico y desórdenes en el peristaltismo producen disfagia, regurgitaciones, episodios recurrentes de neumonía por broncoaspiración y eventualmente dilatación permanente del esófago (megaesófago). El megacolon en la enfermedad de Chagas crónica, se caracteriza por presentar periodos prolongados de constipación y ocasionalmente obstrucción intestinal y volvulus. Las radiografías que se toman del esófago usando bario como contraste, ponen fácilmente en evidencia los “megas”.

Las infecciones congénitas por *T. cruzi* pueden producir abortos, problemas agudos al nacimiento o desarrollar la enfermedad dentro de unas cuantas semanas posteriores al nacimiento. La enfermedad de Chagas congénita cursa con fiebre, ictericia, anemia, trombocitopenia, hepatoesplenomegalia y lesiones en la piel que contienen parásitos. La mortalidad en este tipo de casos se produce por miocarditis, neumonía o encefalitis (10).

DIAGNÓSTICO

En el diagnóstico de la enfermedad de Chagas juega un papel muy importante la clínica, los antecedentes epidemiológicos, y los estudios de gabinete y laboratorio. El resultado radiológico nos permite identificar la existencia de cardiomegalia, la ecosonografía es vital, ya que permite conocer la contractilidad cardíaca y por lo mismo los daños a miocardio en diferentes segmentos del corazón, como el aneurisma de punta, hipocinesia, etc. Pero el más importante de los estudios es el electrocardiograma que indica el estado del automatismo y del sistema de conducción nerviosa del corazón y permite hacer prácticamente el diagnóstico de miocardiopatía chagásica, sólo por las alteraciones detectadas (36, 37).

El diagnóstico depende de la etapa de la enfermedad. En la fase aguda el diagnóstico se basa en la demostración de la presencia del parásito en sangre. En esta fase los exámenes son casi siempre positivos. El parásito puede demostrarse de diferentes maneras, incluyendo el examen microscópico de sangre, el aislamiento del parásito o mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (38).

El pronóstico de la fase aguda generalmente es bueno y el cuadro remite de manera espontánea entre los 30 y 90 días posteriores a su instalación (6).

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO:

- **Métodos Parasitológicos**

Son de elección en la fase aguda, debido a que permiten demostrar la presencia del parásito en sangre, ya que la parasitemia es alta en esta etapa, también son útiles para el diagnóstico intencionado de las formas transplacentaria y neonatal o en algunos casos atípicos o de difícil diagnóstico como los adquiridos por vía transfusional o por trasplante de órganos.

El examen directo, gota gruesa y frote sanguíneo se emplean para observar al microscopio los tripomastigotes sanguíneos lo cual permite establecer el diagnóstico especialmente en las formas agudas de la enfermedad.

Con el propósito de incrementar la sensibilidad diagnóstica se pueden utilizar métodos de concentración como el Strout y microhematocrito con lo que la sensibilidad puede aumentar hasta un 95%.

Otros métodos útiles con el fin de ampliar el número de microorganismos son el xenodiagnóstico en serie, el hemocultivo con una sensibilidad casi del 100% en casos agudos y 50% en crónicos y la inoculación en animales de laboratorio.

El estudio histopatológico y post-mortem serán de utilidad para la búsqueda de amastigotes especialmente durante la fase crónica de la enfermedad (39).

• **Métodos Inmunológicos**

Las pruebas serológicas son sin duda la manera más fácil de hacer el diagnóstico de tripanosomiasis crónica y también son de gran ayuda en la aguda (5, 21, 25, 40).

Las pruebas más utilizadas y las únicas validadas hasta ahora para el diagnóstico de la forma crónica son la hemaglutinación indirecta (HAI), la inmunofluorescencia indirecta (IFI), ELISA y la aglutinación directa (AD) (40, 41).

El serodiagnóstico se utiliza para demostrar la presencia de anticuerpos específicos generados por la infección con *T. cruzi*, los métodos utilizados son de elección principalmente en las fases indeterminada o crónica.

En términos generales, el inmunodiagnóstico se realiza con base en dos criterios distintos:

1.- Cuando se requiere detectar fácil y rápidamente un individuo infectado, como es el caso del donador o receptor de sangre u órganos así como en estudios con fines epidemiológicos; estas pruebas, denominadas de tamizaje o “screening”, deben presentar una alta sensibilidad aún cuando la especificidad sea baja.

2.- Cuando sea necesaria una detección precisa para la confirmación de casos que así lo requieran por los antecedentes clínicos o epidemiológicos, en cuyo caso se realizará con una o dos pruebas diferentes a la inicial.

Los métodos serológicos para estos fines, al ser valorados por su nivel de reactividad, son considerados los de más alta calidad aquellos que detectan concentraciones muy bajas de anticuerpos como es el caso del inmunoensayo enzimático (ELISA indirecta); de reactividad intermedia como la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y la Hemaglutinación Indirecta (HAI); y con baja reactividad como la fijación del complemento, los ensayos de aglutinación directa con partículas, así como los que se realizan en placas de agar, estas últimas cada vez más en desuso, algunas por su complejidad técnica, otras por su dificultad para el manejo de grandes cantidades de muestras y otras por su difícil reproducibilidad por el tipo de reactivos empleados (42, 43, 44).

Para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, la OPS/OMS (42, 43, 44), recomienda especialmente el uso de las siguientes pruebas:

1. – Hemaglutinación Indirecta
2. – ELISA indirecta
3. – Inmunofluorescencia indirecta

La OMS define para la confirmación del diagnóstico demostrar reactividad en dos pruebas serológicas. La positividad en una sola prueba serológica no constituye un criterio de diagnóstico suficiente.

En la confirmación serológica se deben emplear las pruebas tomando en consideración los antígenos empleados, así como el tipo de anticuerpos que se desean demostrar. Si se realizan dos pruebas simultáneamente, la certeza diagnóstica estará entre el 98 y el 99.5%; resultados séricos con reactividades discordantes deberán ser sometidos a una tercera evaluación con otra técnica y en caso de repetirse la discordancia realizar nuevamente el procedimiento con una nueva muestra. Puede considerarse como normal la variación de un título entre dos muestras serológicas de un mismo individuo.

Por otro lado, es importante determinar para cada zona geográfica los títulos reactivos específicos para cada prueba con el fin de evitar reacciones cruzadas por la presencia de anticuerpos afines generados por otras infecciones.

PRUEBA DE HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA (HAI) (43)

Se basa en el principio de la inhibición de la hemaglutinación. Para su realización se precisan glóbulos rojos a los cuales se les ha unido la misma sustancia que se desea detectar o cuantificar. Si estos glóbulos rojos son puestos en presencia de anticuerpos preparados frente a dicha sustancia se producirá su aglutinación. Por el

contrario, cuando se añade un suero problema que contiene la sustancia a cuantificar entonces los anticuerpos se unirán a dicha sustancia y no a los glóbulos rojos. En este caso no se producirá la hemaglutinación. Por tanto, *aglutinación (+)* indica ausencia de la sustancia a estudiar, y *aglutinación (-)* indica presencia de la misma.

Las pruebas de aglutinación indirecta o pasiva consisten en adsorber antígenos solubles a una partícula grande insoluble (poliestireno, látex, bentonita o eritrocitos).

Actualmente la hemaglutinación indirecta ha sido modificada de la técnica original de Borden en 1951 (46) al tratar glóbulos rojos de ave, borrego o tipo O humano con una solución de ácido tánico, con lo cual adquieren la propiedad de adsorber proteínas sobre su superficie, de tal manera que dichos eritrocitos son aglutinados en presencia de anticuerpos específicos contra la proteína adsorbida. Además de su sensibilidad, esta prueba tiene la ventaja de poder ser empleada en gran número de muestras al utilizar métodos de microtitulación.

Para obtener resultados reproducibles, debe estandarizarse la concentración de eritrocitos a sensibilizar con el antígeno, puesto que existe una relación inversa entre la concentración de células y el título de anticuerpos.

Para conocer el título de anticuerpos en un suero, se efectúan diluciones seriadas de éste en un diluyente apropiado y luego se añade una suspensión de eritrocitos sensibilizados con el antígeno específico. La dilución más alta de suero que provoque una clara aglutinación representa el título de anticuerpos del suero.

INMUNOENSAYO ENZIMÁTICO (ELISA)

La técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoadsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmobilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un substrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro. Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, robusto, simple en su realización, emplea reactivos económicos y consigue, mediante el uso de la fase sólida, de una separación fácil entre la fracción retenida y la fracción libre.

INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)

La *fluorescencia* es una propiedad de ciertas moléculas que, al ser irradiadas con energía electromagnética de longitud de onda adecuada, emiten radiación de longitud de onda característica permitiendo su cuantificación.

Las moléculas de un colorante fluorescente absorben luz en una longitud de onda y convierten la luz absorbida de alta energía (*longitud de onda más corta*) en luz de menor energía (*longitud de onda más larga*). Cada fluorocromo tiene un espectro de emisión y excitación característicos; si se utilizan dos con el mismo espectro de excitación pero distinto espectro de emisión, se pueden medir dos características al mismo tiempo (fluorescencia de dos colores).

El método de Inmunofluorescencia indirecta está basado en la reacción de anticuerpos de la muestra con el antígeno unido a la superficie del portaobjetos. Los anticuerpos específicos presentes en la muestra reaccionan con el antígeno, y las inmunoglobulinas no unidas por reacción con el antígeno son eliminadas en el proceso de lavado. En un paso posterior el complejo antígeno-anticuerpo es revelado mediante globulina antihumana marcada con fluoresceína, resultando visualizable mediante microscopio de fluorescencia.

La *inmunofluorescencia* se utiliza esencialmente en la detección de autoanticuerpos y anticuerpos contra antígenos de superficie de células y tejidos. Para ello se emplean anticuerpos preparados frente a la proteína que se desea detectar marcados con moléculas fluorescentes. Se aprecia si hubo unión del anticuerpo con el antígeno por la fluorescencia emitida, que se observa bajo microscopio de luz ultravioleta.

TRATAMIENTO

El tratamiento de la enfermedad de Chagas en su fase aguda debe ser lo más pronto posible. Existen dos fármacos de elección, nifurtimox y benzimidazol, las cuales disminuyen la duración y gravedad de la enfermedad aguda. Sin embargo su eficacia en la erradicación de los parásitos es moderada. Los pacientes en tratamiento deben ser vigilados estrechamente ya que la frecuencia de efectos colaterales es muy alta, porque los medicamentos tienen que ser administrados por periodos largos. El efecto colateral más común con el nifurtimox es la intolerancia gastrointestinal, la cual se manifiesta como anorexia, náusea, vómito y dolor abdominal. Los efectos neurológicos incluyen insomnio, desorientación, parestesias y polineuritis. Con el tratamiento con bezimidazol se han reportado neuropatía y supresión de la médula ósea. Los efectos

secundarios son reversibles cuando la dosis se reduce o el tratamiento es suspendido (51, 52, 53, 54).

El tratamiento se considera muy conveniente durante la etapa aguda, cuando las formas sanguíneas titulares de *T. cruzi* son la causa de las manifestaciones clínicas de la enfermedad y es menos útil en la etapa crónica, en la que los síntomas son producidos al parecer por mecanismos de depresión inmunitaria y fenómenos autoinmunes, y en la que se produce destrucción de las fibras del miocardio y del sistema éxito-conductor y reemplazo por tejidos fibrosos. No obstante, los pacientes crónicos con xenodiagnóstico positivo y títulos elevados de anticuerpos, tratados médicamente se negativizan (46).

Como ya se menciona anteriormente existen dos medicamentos utilizados tradicionalmente, primero está el benzimidazol, que se utiliza en niños menores de 12 años a dosis de 10 mg/kg peso/día por 30-60 días y en mayores de 12 años con dosis de 5 mg/kg peso/día por el mismo tiempo (47). El otro medicamento es el nifurtimox (derivado de los nitrofuranos), que en Sudamérica comenzó a utilizarse en la década de los setentas, por lo que existe mayor experiencia en su posología (48) que es la siguiente: niños 1-10 años: 15 a 20 mg/kg peso/día durante 90 a 120 días y para niños de 11-16 años: 12.5-15 mg/kg peso/día durante el mismo tiempo; en adultos mayores de 17 años, debido a la gran intolerancia hacia este producto, se administra en dosis de 5 mg/kg peso/día iniciales incrementando lentamente hasta alcanzar una dosis de 10 mg/kg peso/día durante un periodo de 90 a 120. Se prescribe aduciendo que su efecto supresivo inmediato sobre los parásitos es aparentemente superior al del benzimidazol, tanto a nivel sanguíneo como tisular (21, 49, 50).

El tratamiento sintomático de los pacientes chagásicos incrementa su vida útil y se hace a base de digitálicos, diuréticos, y antiarrítmicos, también son útiles los marcapasos de demanda, la cirugía puede utilizarse para la sutura o resección de aneurismas cardiacos. El paciente chagásico por lo regular tolera bien la cirugía. La anestesia general protege al paciente contra la insuficiencia circulatoria y la crisis aguda de arritmias (5, 25, 40).

El tratamiento del megaesófago se inicia con medidas paliativas que faciliten el vaciamiento esofágico y la reducción de fenómenos de reflujo y esofagitis, se puede intentar la dilatación del esfínter inferior mediante balones hiperbáricos y cuando haya evolucionado, se utilizan medidas quirúrgicas correctivas (5, 25, 40).

II. - PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Enfermedad de Chagas es la enfermedad parasitaria de mayor importancia en América Latina, tanto por su morbi-mortalidad como por importancia económica. Por sí sola supera a todas las enfermedades parasitarias (OMS, 2000) y se ubica como la tercera enfermedad infecciosa de importancia en la región después del SIDA y la tuberculosis.

Por lo general se piensa que la enfermedad de Chagas es poco común en México, debido a los pocos casos que se han documentado parasitológicamente; es probable que al igual que con otras enfermedades, exista un subregistro, por falta de diagnóstico adecuado.

En México es difícil contar con datos epidemiológicos sobre la mortalidad por Chagas, debido a la falta de experiencia en la elaboración del diagnóstico clínico. Esto origina sesgos en la información que no permiten la elaboración de estadísticas veraces de mortalidad. La misma clasificación internacional de enfermedades (CIE) no permite tener una definición muy clara de la enfermedad, lo que ocasiona que muchos casos no se registren adecuadamente. A pesar de lo anterior, una de las clasificaciones principales del paciente en etapa crónica es la insuficiencia cardiaca (91).

Esta enfermedad presenta tres fases clínicas y sólo la fase aguda, que dura de 3 a 6 meses, es curable. Entre 30-40% de los infectados progresan a la etapa crónica de la enfermedad, y en un periodo de entre 5 a 20 años después de haber adquirido la infección desarrollan enfermedad cardiovascular (cardiomiopatía) o síndrome de megavísceras. La esperanza de vida para estos casos crónicos se reduce entre 5 y 10 años de vida una vez que logran el diagnóstico clínico. La etapa crónica se manifiesta durante el período más productivo de la vida entre los 35 y 55 años de edad, y requiere del empleo de terapias de soporte costosas, tales como el implante de marcapasos y el trasplante cardiaco en el caso de la cardiomiopatía dilatada (115, 116).

III. – JUSTIFICACIÓN

Los programas de prevención y control de la enfermedad de Chagas en los países del Cono Sur en América han demostrado que son de las intervenciones en salud pública con mayor costo-eficacia, aún más que las utilizadas para el dengue o el paludismo (109). Se estima que cada caso crónico, que se expresa en la pérdida de un 25% de la vida productiva del enfermo, cuesta alrededor de US\$ 370 año/persona. En Brasil por ejemplo, la tasa de rendimiento después de aplicar el programa de control, fue entre el 30-35% (por 10 años), y en Argentina de un 64.3% (equivalente a un 20% de la deuda externa de ese país) estimaciones realizadas recientemente indican que los países andinos podrían ahorrarse US\$ 24 por cada dólar invertido en la prevención de los casos de la enfermedad (110).

Los estudios de morbilidad debido a Chagas en México han sido dispersos, y generalmente no son representativos a nivel poblacional. En población abierta, se han reportado prevalencias puntuales de 1 hasta 37% (70, 92, 93, 94). En zonas rurales aún cuando éstas representan una menor parte de la población, pueden ser 3 ó 4 veces más altas que las tasas en donadores de sangre, una población principalmente urbana.

Se estima que una población total de 71, 120, 043 en la República Mexicana está en riesgo constante para la transmisión vectorial de la Enfermedad de Chagas, y otros 20, 328, 746 individuos están en riesgo por su residencia ocasional en zonas infestadas. Aproximadamente 39.2% de esta población tiene residencia en comunidades rurales, aunque resida en más del 99.0% de las comunidades totales en riesgo del país. Asimismo, 17.2% de la población en riesgo vive en comunidades suburbanas, un componente de alta tasa de incremento en las últimas décadas en México.

En el año 2001, el Centro Nacional de Transfusión Sanguínea (CNTS) reportó 1, 102, 082 donaciones de sangre que resultaron en 1, 875, 000 transfusiones de paquete globular, plasma, plaquetas, o crioprecipitados. Utilizando la tasa global de 1.5% de las donaciones seropositivas, se estima que se recibieron 16, 531 donaciones potencialmente infectantes. Estas donaciones hubieran podido ser transfundidas a 28, 125 individuos. Dada que en diferentes países del continente se estima un rango entre 10% y 25% de eficiencia de transfusión de la infección por un componente contaminado, se calcula que entre 2, 813 y 7, 031 individuos hubieron podido resultar infectados por la transfusión sanguínea anualmente (108).

Con una población seropositiva de 1, 768, 376 individuos y tasas de población femenina entre 15 y 49 años de 29% para áreas urbanas y suburbanas, y 25% para

áreas rurales, se estima que hay 472, 393 mujeres en edad fértil seropositivas para *T. cruzi* actualmente. Si la tasa bruta de natalidad es de 3.57%, implica que 18, 864 bebés hubieran podido nacer de esta población de mujeres durante un período de 34 años (108).

La carga económica de la enfermedad puede expresarse en dos formas distintas. La primera forma representa la más precisa por su expresión como resultado de la discapacidad, en forma aguda (niños que fallecen por muerte súbita) o en forma crónica (perdida de vida productiva). En el caso de la forma crónica, se puede utilizar la expectativa media de edad actual (74 años), y calculando una pérdida del 25% (18.5 años) de su vida productiva por caso crónico, y el salario anual de US\$ 5, 653 (UNDP), se estima una pérdida total de US\$ 58, 450, 200, 000 por esa población, o US\$ 3, 160, 000, 000 por año. En la ausencia de intervenciones para el control del vector, este costo podría duplicarse en 25 años. En el caso de implementar un programa de control vectorial, esta carga comenzará a descender hasta dentro de 15 años, y se habrá reducido significativamente después de 25 años a partir de su inicio. La segunda forma de representar la carga económica de los enfermos crónicos, es en relación con los costos de diagnóstico y tratamiento de esos casos, asumiendo que en algún momento ingresan para un tratamiento sintomático, y a los costos de diagnóstico y tratamiento de los casos agudos. Debido a la falta de vigilancia epidemiológica actual, los primeros casos ingresan en los sistemas de salud por medio, principalmente, de los servicios de cardiología (cardiomiopatía dilatada, insuficiencia cardiaca, arritmia). O de gastroenterología (p.ej. acalasia idiopática) sin una clasificación como chagásico, y por lo tanto son tratados sin conocimiento de la causa etiológica. El diagnóstico y tratamiento de un caso en servicio cardiológico puede variar desde US\$ 700 hasta US\$ 1, 280, sin considerar el uso de marcapaso u otra intervención quirúrgica (116). Asumiendo una alta capacidad de captación de los casos agudos (10% del total de casos incidentes), se estima que el sistema, si capta esos casos anteriores, y el 100% de los casos crónicos, podría estar gastando US\$ 126,154, 000/año para su diagnóstico y tratamiento sintomático. La carga principal reside en el diagnóstico y tratamiento de los casos crónicos. En 30 años, y en la ausencia de intervenciones anti-vectoriales, este costo aumentará en por un factor de 68.4 veces (US\$ 8, 634, 604, 538) (108).

Debido a que ya se ha demostrado la eficacia de métodos químicos para el control de la infestación doméstica por triatominos, y que se sabe que ésta podría tener una eficacia de reducción de más del 97% en un lapso de 2-3 años, se estima que la reducción en la incidencia de la enfermedad no necesitará un periodo mayor a 5-7 años en fase activa. Se espera que la incidencia de infección quede eliminada con un control adecuado, mientras que seguirá aumentando en caso de implementar sólo el control transfusional o la detección de casos agudos (108).

Utilizando estos modelos de proyección de casos con o sin control vectorial, se pueden estimar los costos totales para la enfermedad en diferentes escenarios de control. Sólo con la intervención para el tamizaje de la sangre de transfusión, estas cifras no se alterarán significativamente a lo largo de 30 años (US\$ 9, 194, 006, 670). Sólo con intervenciones que logren interrumpir la carga principal (96%) de la transmisión, es decir la transmisión vectorial, se logrará abatir los costos crecientes de tratamiento de casos crónicos. Se espera eliminar más del 98% de la incidencia por transmisión vectorial en un periodo de 10 años después de iniciar un programa de control químico y educativo contra el vector doméstico, y estas intervenciones, a pesar de representar una inversión inicial importante, representarán un costo equivalente a la inversión en tratamientos de casos crónicos a 8 años de su inicio. La inversión anual para el tratamiento de casos crónicos y del programa de intervenciones en esta etapa crítica de inversión podría representar un costo de US\$ 659, 466, 340 (108).

IV. - OBJETIVO GENERAL

Conocer la frecuencia y distribución de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en la población e identificación de *Trypanosoma cruzi* en Triatomas en Michoacán.

V. - OBJETIVOS ESPECIFICOS

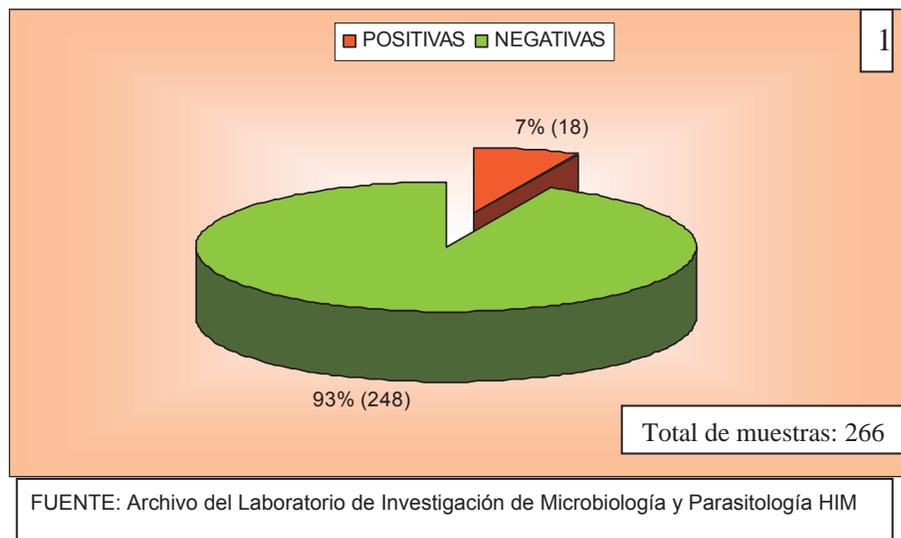
- Estimar la incidencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* mediante las técnicas Aglutinación Indirecta, Hemaglutinación Indirecta, Inmunofluorescencia Indirecta y ELISA
- Evaluar la frecuencia de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* por sexo, edad, así como por localidad y jurisdicción.
- Estimar la frecuencia del parásito en el triatoma por jurisdicción y localidad.

VI. - METODOLOGÍA

- TIPO DE ESTUDIO: Experimental, Longitudinal, Ambipectivo.
- UNIVERSO DE TRABAJO: Se procesaron 266 muestras serológicas, así como 562 triatomas remitidos al laboratorio procedentes de las diferentes jurisdicciones sanitarias de la Secretaría de Salud de Michoacán, así como del IMSS e ISSSTE.
- PERIODO DE TIEMPO: Julio de 2004- Julio de 2006.
- CRITERIOS DE INCLUSIÓN: Todos aquellos sueros que vengan de personas con sospecha clínica de Tripanosomiasis, así como todos los triatomas provenientes de las diferentes jurisdicciones.
- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN: Todos aquellos sueros que no tengan sospecha clínica de Tripanosomiasis, al igual que aquellos triatomas sin materia fecal.
- CRITERIOS DE ELIMINACIÓN: Sueros que aunque tengan sospecha clínica de Tripanosomiasis estén turbios, lipémicos o hemolizados.
- FUENTES DE INFORMACIÓN: Estudio epidemiológico de caso así como las bitácoras de registro del Laboratorio de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.
- ANÁLISIS DE RESULTADOS: Se utilizaron números absolutos, porcentajes, cuadros y gráficas en el programa de computación Excel.
- PROCESAMIENTO DE MUESTRAS: Todas las muestras serológicas remitidas al laboratorio se procesan para la búsqueda de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi mediante técnica de Aglutinación Indirecta, enviándolas posteriormente al INDRE para su confirmación con la técnicas de Hemaglutinación Indirecta, Inmunofluorescencia Indirecta y ELISA. A los triatomas se les realizó un examen coproparasitoscópico en fresco posteriormente teñido con Giemsa para la búsqueda del parásito, así mismo enviadas al INDRE para su confirmación.

VII. – RESULTADOS

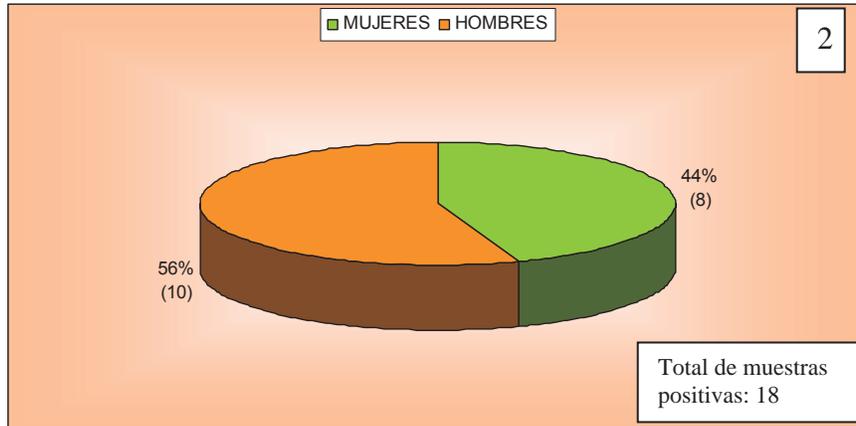
Muestras serológicas estudiadas para búsqueda de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* recolectadas durante el periodo Julio 2004- Julio 2006



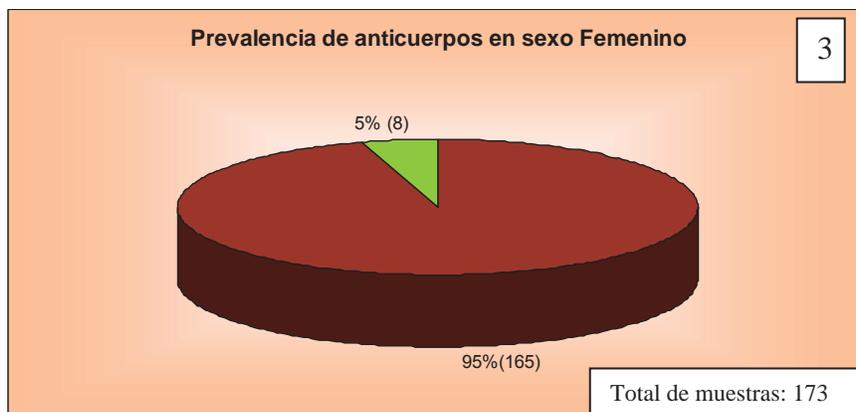
Se procesaron un total de 266 muestras, procedentes de las diferentes jurisdicciones del estado. Resultando positivas 18 de estas muestras equivalentes al 6.77% y 248 negativas equivalentes al 93.23%.

Las muestras fueron procesadas con las técnicas de Aglutinación Indirecta, Hemaglutinación Indirecta (HAI), como técnica de tamizaje, y como técnicas confirmatorias Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) e Inmunoensayo enzimático ELISA.

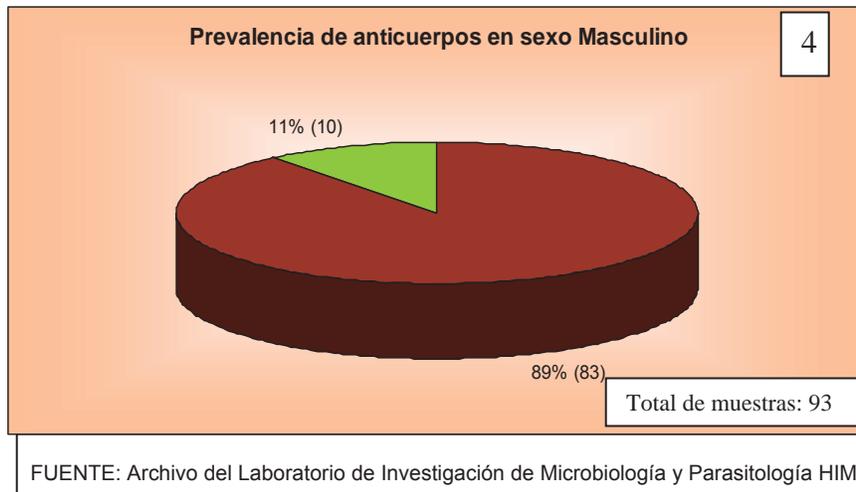
Prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* por sexo



FUENTE: Archivo del Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología HIM

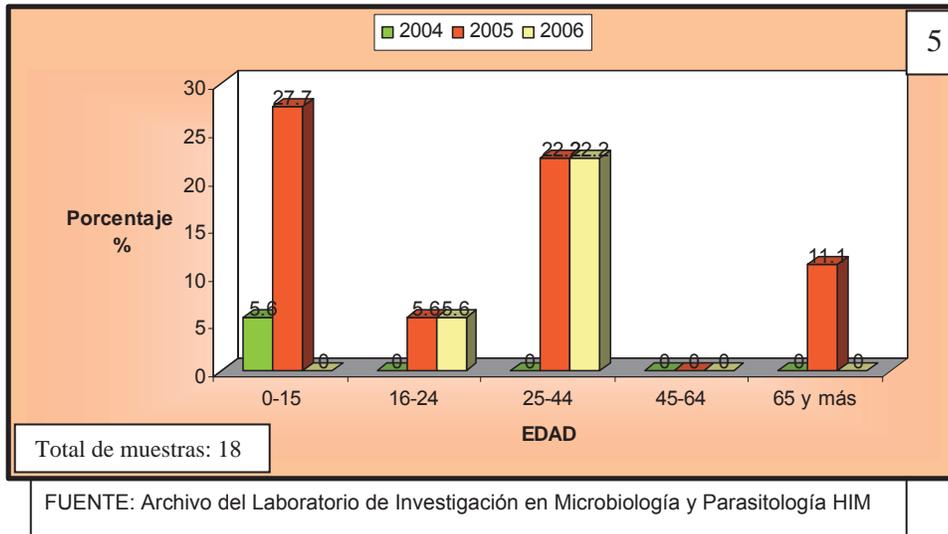


FUENTE: Archivo del Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología HIM

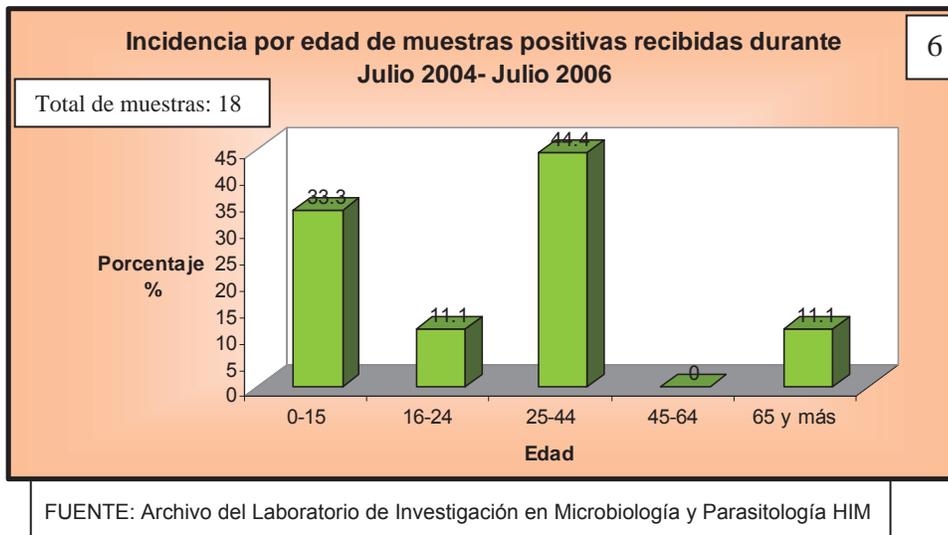


Si consideramos que 8 mujeres son positivas de un total de 173, se obtiene 4.6% de positividad en relación al total de muestras de mujeres. En el caso de los hombres se obtuvieron 10 sueros positivos de un total de 93, se obtuvo un 10.75% de muestras positivas en relación al total de muestras de hombres estudiados.

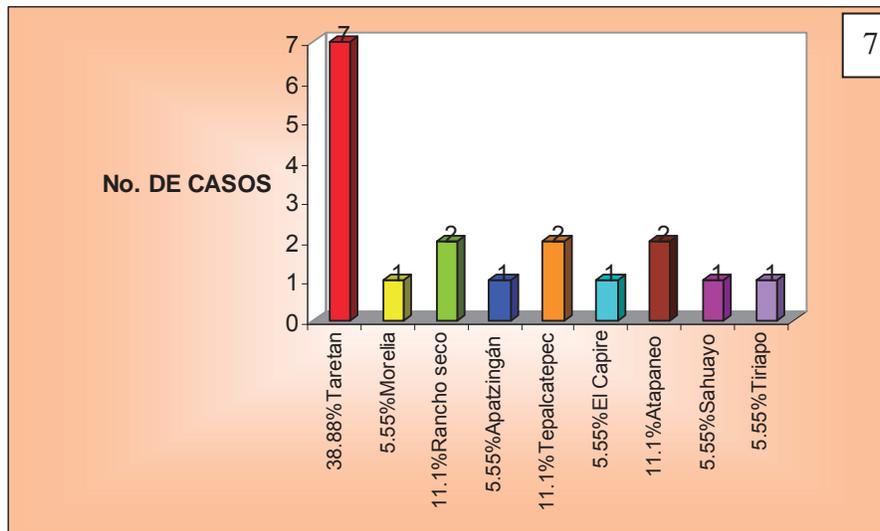
Presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* por grupo de Edad



Del total de las 266 muestras procesadas se agruparon por edades las muestras resultantes positivas en grupos de 0 a 15 años, 16 a 24 años, 25 a 44 años 45 a 64 años y de 65 años en adelante.



Presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* por localidad



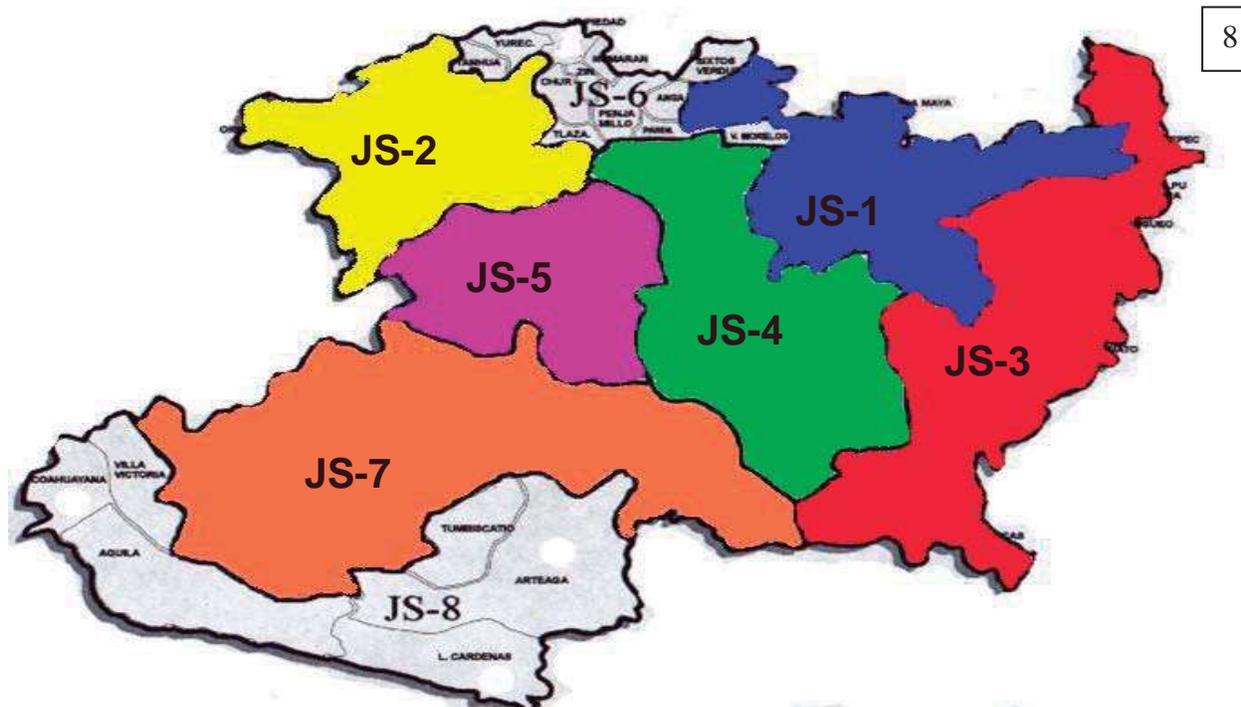
FUENTE: Archivo del Laboratorio de Investigación en Microbiología y Parasitología HIM

Presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* por jurisdicción

JURISDICCION	1 Morelia	2 Zamora	3 Zitácuaro	4 Pátzcuaro	5 Uruapan	7 Apátzingan
TOTAL DE SUEROS	9	8	---	43	91	115
SUEROS POSITIVOS	3	1	---	1	9	4
% DE POSITIVIDAD	33.33	12.5	---	2.3	9.8	3.4

Muestras estudiadas 266, de las cuales 18 son positivas a serología de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*, distribuidas por jurisdicción.

Distribución de triatomas por Jurisdicción

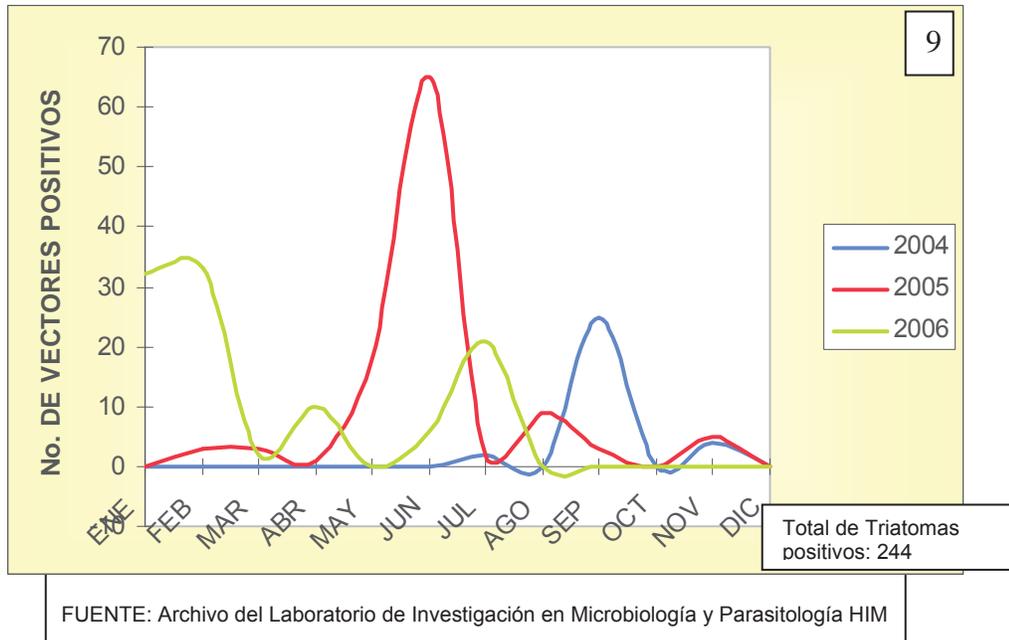


8

- JURISDICCION 1- Morelia
- JURISDICCION 2- Zamora
- JURISDICCION 3- Zitácuaro
- JURISDICCION 4- Pátzcuaro
- JURISDICCION 5- Uruapan
- JURISDICCION 6- La Piedad
- JURISDICCION 7- Apátzingan
- JURISDICCION 8- Lázaro Cárdenas

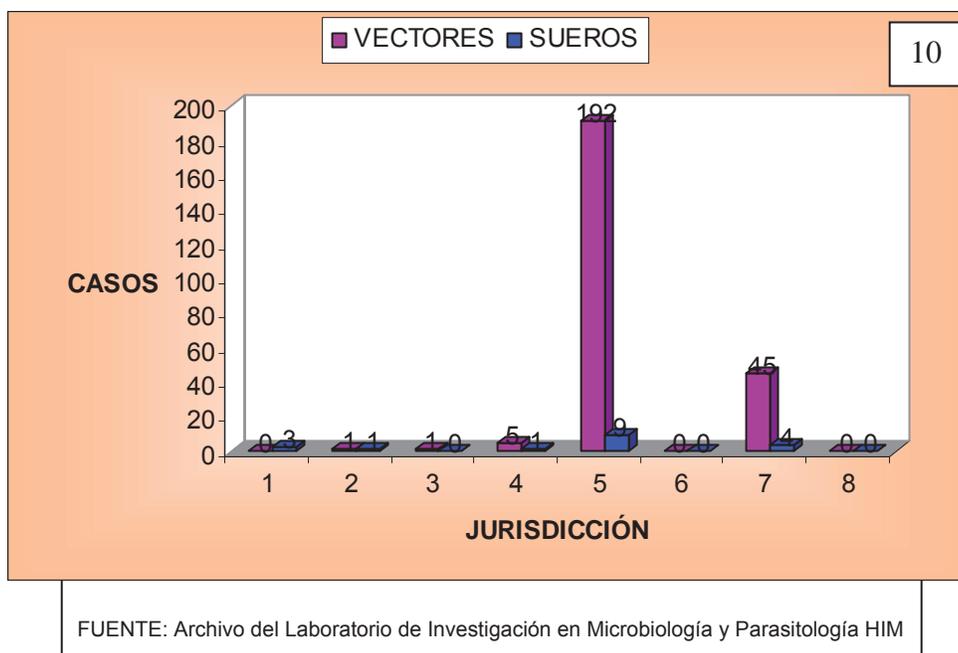
JURISDICCION	1	2	3	4	5	7	TOTAL
No.ESPECIES REMITIDAS	3	5	25	17	393	119	562
No. ESPECIES POSITIVAS	0	1	1	5	192	45	244
% DE POSITIVIDAD	0	20	4	29.4	48.8	37.8	43.41

Prevalencia de Triatomas por mes



La prevalencia de Triatomas con la presencia de *T. cruzi* se presenta más alta en los meses más calidos donde la temperatura aumenta. Esto puede deberse a que en esta temporada el Triatoma tiende a reproducirse más. Aunque también podemos sugerir que la prevalencia más alta en esta temporada sea por una mayor búsqueda intencionada del Triatoma.

Comparación de seropositividad y número de vectores positivos a *T. cruzi*



Total de sueros positivos: 18 (6.77%)

Total de Triatomas con presencia de *T. cruzi*: 244 (43.41%)

VIII.- DISCUSIÓN

Las zonas de riesgo para la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas en la mayoría de los países de América Latina se ubican en las áreas donde existe una alta proporción de viviendas en condiciones precarias y una convivencia estrecha con los ambientes silvestres del vector-reservorio. En México, la presencia rural de la infección se intensifica con el acelerado proceso de urbanización al poner en contacto a grandes sectores de la población con el vector (108).

En Michoacán se presentan todas las condiciones climáticas, geográficas y socioculturales, así como el transmisor naturalmente infectado.

Aunque las enfermedades transmitidas por vectores están dentro de los programas prioritarios del sistema de atención primaria en México la Enfermedad de Chagas se considera una enfermedad huérfana porque no se cuenta con un programa específico dirigido a la vigilancia epidemiológica y tampoco existe una estrategia para su prevención y control. Tampoco existe una partida presupuestal específica tal como existe para el paludismo.

A diferencia de los países del cono Sur de América donde Dias y Schofiel en el 2001 demuestran que son de las intervenciones en salud pública con mayor costo-eficacia aún más que las utilizadas para el dengue o el paludismo.

En población abierta Tay y cols. en 1992, Perez- Fuentes 1998, Goldsmith y cols. y Ruegsegger 1993 reportan prevalencias puntuales de 1 hasta 37% para la República Mexicana. Nuestros resultados se encuentran dentro del porcentaje que ellos reportan.

Los datos de seroprevalencia obtenidos en nuestro estudio son de 6.77% mientras que Segura y Escobar en el 2005 reportan una seroprevalencia para la enfermedad de 0-2.8% en el estado de Veracruz, utilizando como pruebas diagnósticas HAI, IFI y ELISA.

Además ellos demuestran un 10.6% de Triatomas infectados con *T. cruzi*. Mientras que nosotros encontramos el 43.41% de Triatomas infectados, un porcentaje mucho mayor al reportado por estos investigadores.

Así mismo en el estado de Puebla Sosa Jurado y cols. reportan una seroprevalencia del 4.35% usando técnicas de diagnóstico de HAI y ELISA. La distribución por grupos de edad la constituyen los jóvenes (población económicamente activa) en alrededor de la mitad de la población.

Aunque la seroprevalencia obtenida por ellos es inferior a la que proponemos en este trabajo, si coincidimos en el grupo de edad mayormente afectado, es decir el grupo de edad de 25 a 44 años (población económicamente activa).

La relación por sexo no mostró cifras estadísticamente significativas en los individuos estudiados por Sosa Jurado y cols. en Puebla, pero en el estudio realizado en Michoacán el sexo masculino se encontró más afectado con un porcentaje de 56% contra 44% del sexo femenino.

El número de individuos con seroprevalencia positiva se presenta mayormente en la comunidad de Taretan perteneciente a la jurisdicción de Uruapan (Número 5). Al igual que el mayor número de *Triatoma* parasitado.

Hasta ahora no se habían realizado estudios de seroprevalencia en población abierta en Michoacán (la información existente proviene únicamente de bancos de sangre), además de esto donde se hable del vector, su distribución y frecuencia del parásito en dicho transmisor. Este es el primer estudio en el que se relacionan ambos aspectos.

IX. - CONCLUSIÓN

- En Michoacán se reporta en los últimos 3 años una seroprevalencia de 1.6% en banco de sangre. Con este trabajo se encontró un porcentaje de 6.77%, el cual es mayor al reportado en la literatura para nuestro estado.
- Encontramos una seroprevalencia mayor en el sexo masculino, mientras que en México no hay datos de seroprevalencia referente al sexo. El grupo de edad con mayor número de casos fue de 25-44 años, coincidiendo con otros trabajos en los que reportan a la población económicamente activa como la más afectada. La localidad con mayor número de seropositivos fue Taretan perteneciente a la jurisdicción número 5.
- En la literatura no se encuentran reportes sobre la presencia de *Trypanosoma cruzi* en vectores para nuestro estado. En esta investigación presentamos una perspectiva de la situación en cuanto a vectores parasitados y con esto damos a conocer que existe casi la mitad de ellos (43.41%) con presencia del parásito, la localidad con mayor número de Triatomas parasitados fue Taretan perteneciente a la jurisdicción de Uruapan (No. 5).
- Se sabe que *T. pallidipennis* no es un buen transmisor ya que el tiempo entre alimentación y defecación es largo; pero debido a la gran cantidad de vectores parasitados, es importante recomendar que exista un mejor control vectorial, ya que esto podría disminuir el riesgo de infección en la población.

X. – ABREVIATURAS

AD: Aglutinación Directa
ADN: Ácido DesoxirriboNucleico
AI: Aglutinación Indirecta
ARN: Ácido RiboNucleico
CCC: Cardiopatía Chagásica Crónica
CIE: Contrainmunolectroforesis
CIE: Comisión Internacional de Enfermedades
CNTS: Centro Nacional de Transfusión Sanguínea
ECG: Electrocardiograma
ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ENSE: Encuesta Nacional Seroepidemiológica
FC: Fijación del Complemento
HAI: Hemaglutinación Indirecta
IFI: Inmunofluorescencia Indirecta
INDRE: Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica
KDa: KiloDaltones
MSNM: Metros Sobre el Nivel del Mar
OMS: Organización Mundial de la Salud
OPS: Organización Panamericana de la Salud
PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa
SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
TA: Tripanosomiasis Americana
Wb: Westernblot

XI.- APÉNDICES

AGLUTINACIÓN INDIRECTA (AI)

MATERIAL:

- Test SERODIA®- Chagas
- Pipeta automatizada de volumen variable
- Microplaca de fondo en "U"
- Baño maría a 56 ° C
- Parafilm

REACTIVOS:

- Solución Reconstituyente. Usada para la reconstitución de las partículas sensibilizadas y de control.
- Diluyente de Muestra. Usado para diluir las muestras a ensayar.
- Partículas Sensibilizadas (Liofilizadas)- Preparación liofilizada de partículas de gelatina sensibilizadas con antígenos de Trypanosoma cruzi inactivados.
- Partículas de control (Liofilizadas)- Preparación liofilizada de partículas de gelatina no sensibilizadas.
- Control Positivo. Preparación líquida que contiene suero de conejo inmunizado con antígenos de Trypanosoma cruzi inactivados.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Suero

BUSQUEDA DE *T. cruzi* EN VECTORES

MATERIAL:

- Portaobjetos de 75 x 24 mm
- Solución salina
- Cubreobjetos de 22 x 22 mm
- Microscopio
- Colorante de tinción de Giemsa al 10%
- Metanol
- Pinzas
- Aceite de inmersión

MÉTODO



Imagen 1: Test de Aglutinación de Partículas para la Detección de Anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*. Fuente: Inserto kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología. Hospital Infantil de Morelia.

SERODIA®-Chagas es una prueba de diagnóstico in vitro para la detección de anticuerpos Anti-*Trypanosoma cruzi*, utilizando como soporte partículas de gelatina, sensibilizadas con antígenos de *Trypanosoma cruzi* inactivados. El test SERODIA®-Chagas se basa en el principio que las partículas sensibilizadas se aglutinan ante la presencia de anticuerpo Anti-*Trypanosoma cruzi* en la sangre del paciente (suero/plasma).



Imagen 2: Reactivos

Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

- A. Solución Reconstituyente.
- B. Diluyente de Muestra.
- C. Partículas Sensibilizadas (Liofilizadas)
- D. Partículas de control (Liofilizadas)
- E. Control Positivo.

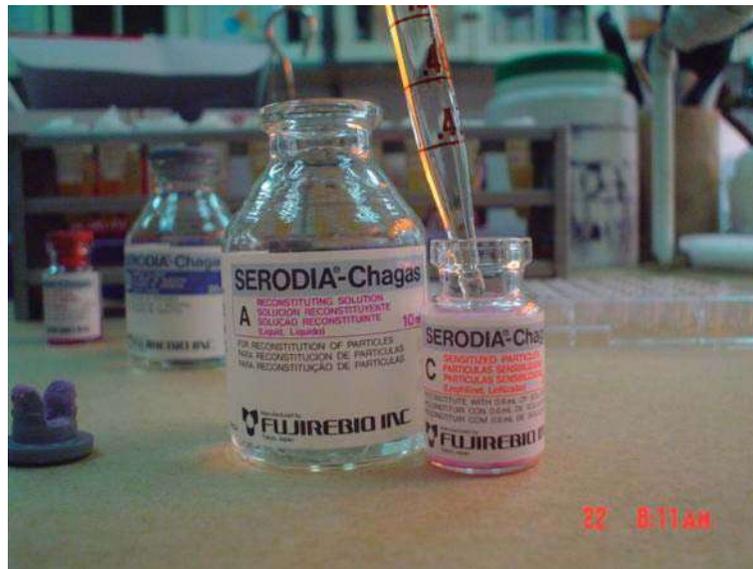


Imagen 3: Reconstitución de Reactivos

Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Reconstitución de partículas liofilizadas, partículas sensibilizadas y de control, a temperatura ambiente (15-30° C) por lo menos 30 minutos antes de la prueba.



Imagen 4: Inactivación de sueros problema
Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Inactivar sueros problema a 56° C durante 30 minutos



Imagen 5: proceso de muestras
Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Colocar 75 μ l de diluyente de muestra en pocillo 1 y 25 μ l en pocillos 2 y 3 respectivamente.



Imagen 6: Suero problema
Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Agregar 25 μ l de muestra problema (suero/plasma) al pocillo 1.



Imagen 7: Mezcla de muestras
Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Mezclar el contenido llenando y descargando la micropipeta 6 ó 7 veces. Transferir 25 μl de la solución diluida del pocillo 1 al 2. Mezclar el contenido del pocillo 2 tal como se indicó anteriormente y transferir 25 μl al pocillo 3. Siguiendo el mismo procedimiento, mezclar el contenido del pocillo 3 y luego desechar 25 μl de solución.

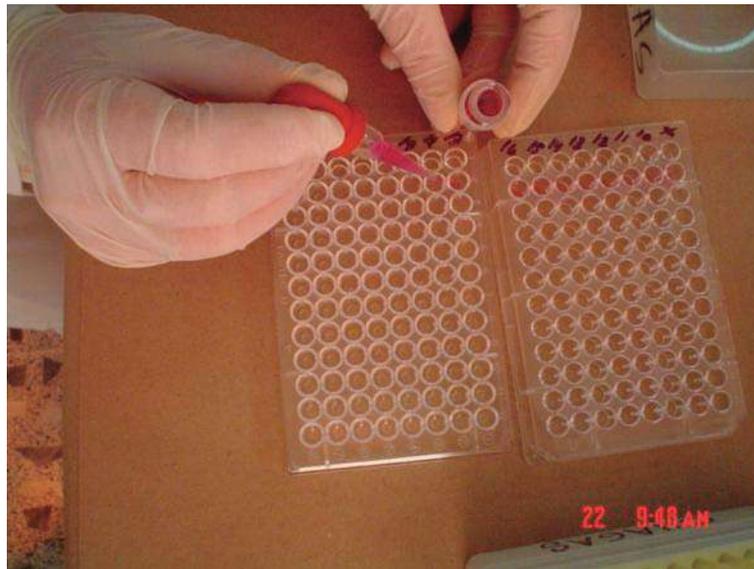


Imagen 8: partículas control
Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia

Utilizando el gotero provisto en el kit, colocar 25 μ l (una gota) de partículas de control reconstituidas en el pocillo 2.

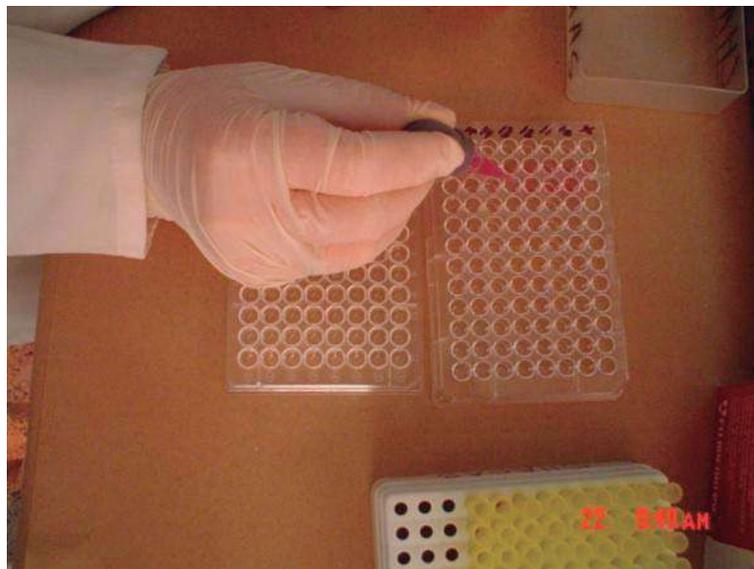


Imagen 9: partículas control
Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Colocar 25 μ l (una gota) de partículas sensibilizadas en el pocillo 3.

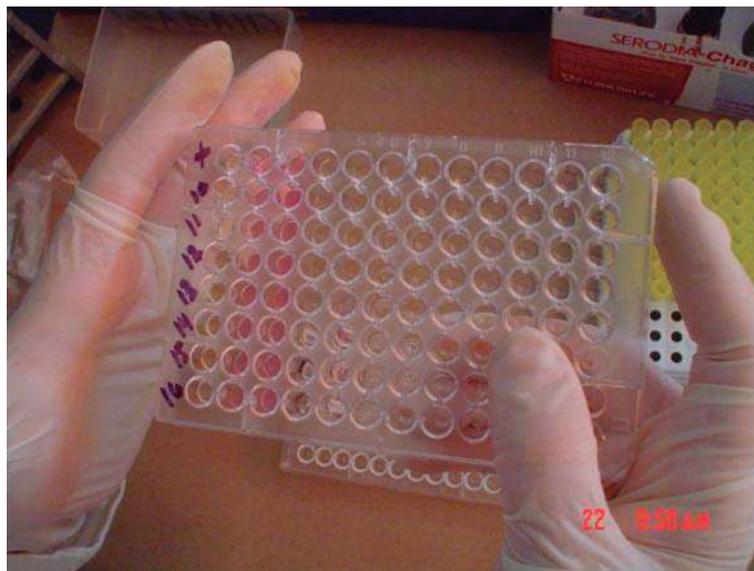


Imagen 10: Agitación

Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Mezclar el contenido de los pocillos golpeando el lado de la placa con el dedo o contra un objeto sólido ocho a diez veces.

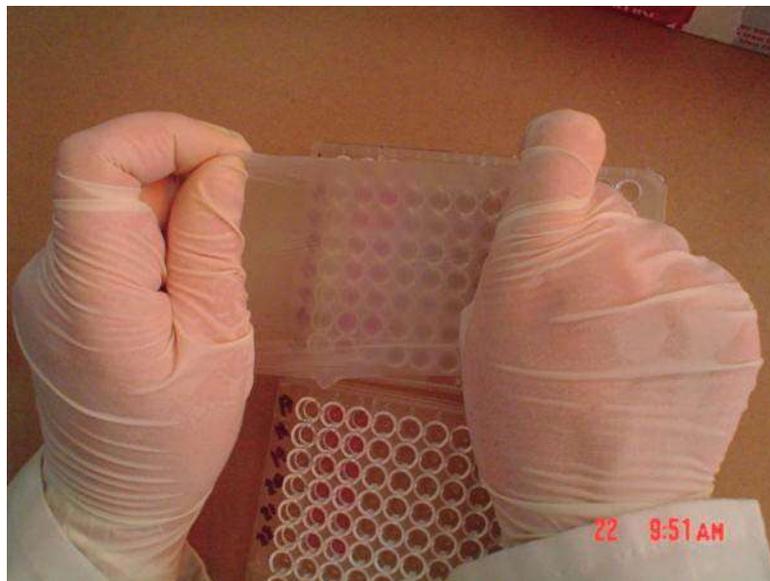


Imagen 11: Cubrir

Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Cubrir la placa y dejar en reposo horizontalmente a temperatura ambiente (15-30 ° C) durante 2 horas.



Imagen 12: Interpretación de resultados
Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Formación de malla o red: resultado positivo

Formación de botón: resultado negativo



Imagen 12: serología positiva
Fuente: kit SERODIA®-Chagas. Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Búsqueda de *Trypanosoma cruzi* en vectores



Imagen 13: Obtención de materia fecal
Fuente: Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Obtención de materia fecal del Triatoma

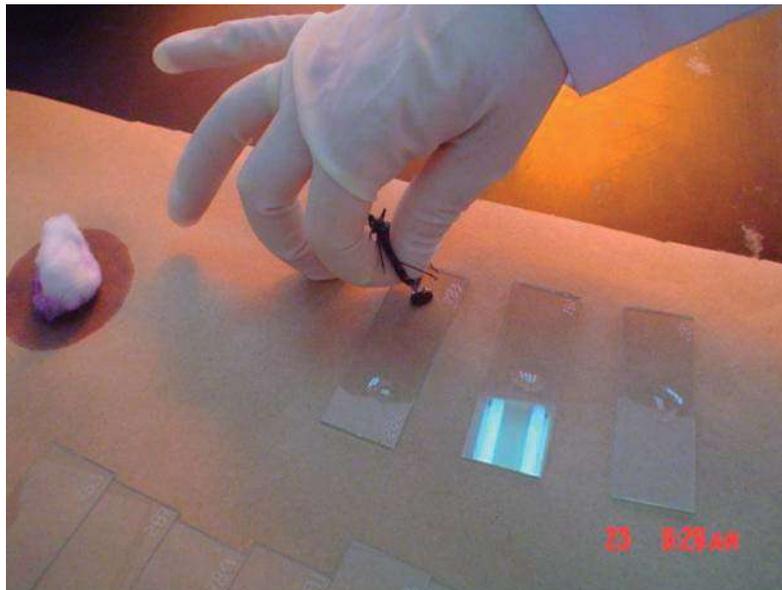


Imagen 13: Obtención de materia fecal
Fuente: Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

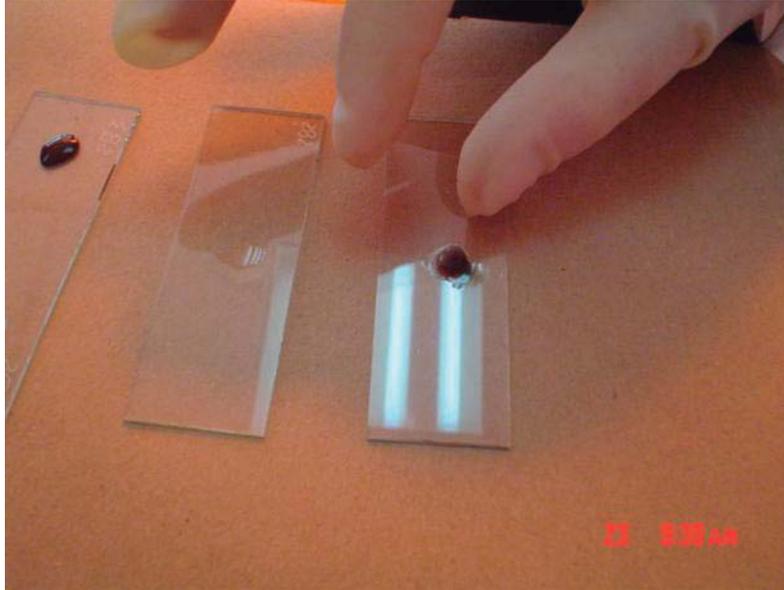


Imagen 14: Mezcla

Fuente: Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia

Homogenizar con 1 gota de solución salina



Imagen 15: observación al microscopio

Fuente: Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia

Observar en fresco con objetivo 40X



Imagen 16: Tinción de Giemsa
Fuente: Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia

En caso de presentar al parásito, hacer un extendido y esperar a que el frotis se seque a temperatura ambiente. Fijar con metanol y teñir con colorante Giemsa.



Imagen 17: Observación en microscopio

Fuente: Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia

Observar al microscopio con objetivo de inmersión 100X para determinar la especie del parásito.

VII. – REFERENCIAS

1. - Chagas C. R. J., 1911. Segunda conferencia realizada en la Academia Nacional de Medicina. In: Carlos Chagas; colectânea de trabalhos científicos (A. R Prata, org.). Brasilia, Universidad de Brasilia, p. 167- 192.
2. - Dias J. C. P., 1988. Reseña histórica de los conocimientos sobre la enfermedad de Chagas y reflexiones sobre algunos aspectos políticos y socio-económicos de la endemia en el contexto latinoamericano. Revista de la Federación Argentina de Cardiología.
3. - Dias J. C. P., 1999 Atualidade de Carlos Chagas. In Biblioteca Virtual Carlos Chagas. Río de Janeiro, Casa de Oswaldo Cruz. 19 p.
4. - Schofield C. J. & Dias J. C. P. 1998. The Southern Cone programme against Chagas. *Advances in Parasitology*.
5. - Dias-Pinto J. C. 1984. Enfermedad de Chagas. Epidemiología, clínica y terapéutica. Buenos Aires: Programa Salud Humana.
6. – TDR. 1982. Special Programme of Research and Training in Tropical Diseases. Geneva: WHO Newsletter No. 18.
7. – Zavala-Velázquez J. E. 2003. La enfermedad de Chagas, en el Estado de Yucatán, México. *Rev Biomed*; 14: 35-43.
8. – Velasco-Castrejón O.1992. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. *Salud Pública de México*, 34:186-196.
9. - Dedet, J. P., Pratlong, F. 2000 *Leishmania, Trypanosoma and monoxenous trypanomatids as emerging opportunistic agents. J Eukaryot Microbiol.* 47 (1): 9-37.
10. – Tay- Zavala J. 1996. Manuales departamentales. Departamento de Microbiología y parasitología. Facultad de Medicina UNAM. 91-97.
11. - Englund, P. T., Hajduk, S. L., Marini, J. C. 1982. The molecular biology of trypanosomes. *Annual Rev. Biochem.* 51: 695-726.

12. – Mc Ghee, R. B., and Cosgrove, W. B. 1980. Biology and physiology of the lower Trypanomatidae. *Microb. Rev.* 44:140-173.
13. – Perry, K., Agabian N. 1991. RNA processing in the Trypanosomatidae. *Experientia.* 15; 47: 28-118
14. – Perry, K. L., Watkins, K. P., Agabian, N. 1987. Trypanosome mRNAs have unusual structures acquired by addition of a spliced leader. *Proc Natl Acad Sci USA.* 84: 4- 8190.
15. – Simpson, L. 1987. The mitochondrial genome of kinetoplastid protozoa: genomic organization, transcription, replication and evolution. *Ann Rev Microbiolol.* 41: 82- 363.
16. – Cevallos, A. M., Hernández R. 2001. Trypanosoma cruzi y la enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana). Departamento de Biología Molecular; Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.
17. – Moncayo A. 2003. Chagas disease: current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone countries. *Mem inst. Oswaldo Cruz.* 98: 91- 577.
18. – Dias J. C., Silveira A. C., Shofield C. J. 2002. The impact of Chagas disease control in Latin America: a review. *Mem Inst. Oswaldo Cruz.* 97: 12-603.
19. – Olea N. A. 2006. Situación epidemiológica de la Enfermedad de Chagas en Chile. Departamento de Epidemiología. Ministerio de Salud.
20. – Wendel S., Brener M. E, Camargo A., Rassi A. 1992. Chagas Disease (American Trypanosomiasis): its impact on transfusión and clinical medicine. *ISBT Brazil'92.* 256 pp.
21. – Velasco O., Guzman C. 1986. Importancia de la enfermedad de Chagas en México. *Rev. Lat. Amer Microbiol,* 28: 275- 283.
22. – Cortes J. M., González H., Martinez R. M, Velasco C. O. 1986. La miocardiopatía chagásica en México. *Arch Inst Nal Crdiol (Méx)* 56: 499- 505.
23. – Laranja F. S., Diaz R., Nobrega G., Miranda A. 1956. Chagas disease a clinical, epidemiology and pathology study. *Circulation,* 14: 1035.

24. – Ortega G. M., Beltran H. F., Zavala V. J. 1976. Enfermedad de Chagas en Chiapas. Estudios clinicoepidemiológicos. Sal Pub Méx, 18: 837- 843.
25. – Velasco C. O. 1992. La enfermedad de Chagas en México. Infectol, 12: 783- 791.
26. – Prata A. 1994. Chagas' Disease. Infectious Disease Clinics of North America. 8: 61-76.
27. – Tafuri W. L. 1987. Patogenia da Doença de Chagas. Rev Inst Med Trop São Paulo, 29: 194-199.
28. – Köberle F. 1968. Chagas 'Disease and Chagas' Syndromes: The Pathology of American Trypanosomiasis. Adv Parasitol, 6: 63-116.
29. – Tafuri W. L., Maria T. A., Lopes E. R. 1971. Lesões do Plexo Mientérico do Esófago, do Jejuno e do Colo de Chagásicos crônicos. Estudo ao Microscopio Electrónico. Rev Inst Med Trop São Paulo, 13:76-91.
30. – Teixeira A. R. L., Teixeira G., Mecedo V., Prata A. 1978. Acquired Cell-mediated Immunodepression in Acute Chagas'Disease. J Clin Invest; 62: 1132-1141.
31. – Santos-Buch C. A., Teixeira A. R. L. 1974. The Immunology of Experimental Chagas'Disease. III. Rejection of Allogenic Heart Cells in Vitro. J Exp Med; 140: 38- 53.
32. – Teixeira A. R. L., Teixeira L., Santos- Buch C. A. 1975. The Immunology of Experimental Chagas'Disease. IV. Production of Lesions in Rabbits Similar to those of Chronic Chagas'Disease in Man. Am J Pathol; 80: 163- 180.
33. – González- Cappa S. M., Menes S., Schmunis G. A., Szarfman A., Vattuone N., Yanovsky J. F. 1976. La Detección de Aglutininas Específicas en el Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas (Trypanosomiasis Americana). Medicina (Buenos Aires); 36: 364-375.
34. – González- Cappa S. M., Kloetzel J., Katzin A. M., Dos Santos R. 1980. Trypanosoma cruzi. Activity of Immunosera on Surface Antigens. Rev Inst Med Trop Sao Paulo; 22: 275-280.
35. – Kierszenbaum F., Szein M. B. 1994. Chagas'Disease (American Trypanosomiasis). In: Parasitic Infections and the Inmune System. Academic Press. USA; 53-85.

36. – Laranja F. S., Dias E., Nobrega G. O. 1946. Electrocardiograma na cardiopatía crónica da doença de Chagas. Mem II Cong Interam Cardiol México; 3: 1470- 1477.
37. – Rosenbaum M. G., Alvarez A. J. 1955. The electrocardiogram in chronic chagasic myocarditis. Am Heart Jour; 50: 492-502.
38. – Tanowitz H. B., Kirchhoff L. V., Simon D., Morris S. A., Weiss L. M., Wittner M. 1992. Chagas´disease. Clinical Microbiology Reviews. 5(4): 19- 400.
39. – Haro I de, Salazar-Schettino P. M., Cabrera M. 1995. Diagnóstico Morfológico de las Parasitosis. 2ª ed. México; 289 pp.
40. – Velasco O., Guzman C., Cruz J., López O., González F. 1991. La enfermedad de Chagas. Una revisión histórica suscita y parcial de lo que ocurre en México y en el Mundo, Publicación Técnica del INDRE #8. México, D. F: INDRE, SSA.
41. – Segura E. L., Perez A. C., Yanowsky J. F., Andrade J., Wynne G. J.1983. Diseminación en la prevalencia de infección por T. cruzi, en hombres jóvenes de Argentina. Bolo f Sanit Panam; 100: 493-510.
42. – Cura E., Wendel S. 1994. Manual de Procedimientos de Control de Calidad para los Laboratorios de Serología de los Bancos de Sangre. Washington D. C. U. S. A.: Organización Panamericana de la Salud, Oficina Regional; 61pp.
43. – Instituto Nacional de Chagas “Dr. Mario Fatała Chaben” Enfermedad de Chagas y otras Parasitosis. Manual de Laboratorio 8ª ed. Buenos Aires Argentina 1966; 103 pp.
44. – Guhl F., Nicholls S. 2001. Manual de Procedimientos para el Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas. Ministerio de Salud, Bogotá Colombia; 98 pp.
45. – Boyden S. V., Sorkm E. A. 1952. Study of antigens active in tannic acid hemagglutination test present in filtrates of culture of Mycobacterium tuberculosis. J Immunol; 75: 15-17.
46. - Cerisola J. A. 1977. Chemotherapy of Chagas infection in men Chagas disease, pp 35-47.
47. - Oliveira F. H. 1976. Ensayo terapéutico-clínico con benznidazol na doença de Chagas. Rev Ins Med Trop, 18: 377.

48. – Moya P. R., Paolasso R. B., Blanco S., Lappasset M., San Martino C., Basso B., Moretti E., Cura D. 1985. Tratamiento de la Enfermedad de Chagas con nifurtimox durante los primeros meses de vida. *Medicina*, 45: 553-558.
49. – Barclay C. A., Cerisola J. A., Lugones H., Ledesma O., López S. J., Moura G. 1978. Aspectos farmacológicos y resultados terapéuticos del benznidazol en el tratamiento de la infección chagásica. *Prensa Med Argent*, 65: 239-243.
50. – Neri A. Cora F. L. 1984. Normas para atención médica del infectado chagásico. Ministerio de Salud y Acción Social (Buenos Aires), pp 1-16.
51. – Estani S.S., Segura E. L., 1999. Treatment of *Trypanosoma cruzi* infection in the undetermined phase. Experience and current guidelines of treatment in Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 94 Suppl 1: 5-363.
52. – Gontijo E. D., Galvão, L. M., Eliot-Santos S. 1999. Chagas disease: criteria of cure and prognosis. *Mem Ins Oswaldo Cruz*. 94 Suppl 1: 62- 357.
53. – Urbina J. A. 1999. Chemotherapy of Chagas' disease: the how and the why. *J Mol Med*. 77(3): 8-332.
54. – Urbina J. A. 1999. Parasitological cure of Chagas disease: is it possible? Is it relevant? *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 94 Suppl 1: 55-349.
55. – Kettle D. S. 1992. *Medical Veterinary entomology*. Londres: CAB International.
56. – Lent H., Wygodzinsky P. 1979. Revision of the triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull Amer Mus Nat History*, 163: 124-520.
57. – Zárate L. G., Zárate R. J. 1985. A checklist of the triatominae (Hemiptera: Reduviidae) of México. *Int J Entomol*, 27: 102-127.
58. – Schofield C. J., Overview- biosystematics of Reduviidae. En: Schofield C. J. *Control de Triatóminos*. México, D. F.: INDRE, 1996: 45-50.
59. – World Health Organization. *Control of Chagas disease*. Ginebra: WHO, 1991: 95. Technical report series No. 811.
60. – Alexandre- Aguilar R., Noguera-Torres B., Cortés-Jiménez M., Jurgberg J., Galvão C., Carcavallo R. *Triatoma bassolsae* sp. n. do México, com uma chave para as

espécies do complexo "phyllosoma" (Hemiptera, Reduviidae). Mem Inst Oswaldo Cruz 1999; 94(3): 353-359.

61. – Schofield C. J. Triatominae. Biología y control. W. Sussox: Eurocommunica Publications, 1994: 77.

62. – Salazar Schettino P. M. Haro I de, Urribarren T. 1988. Chagas disease in Mexico. Parasitology Today; 4(12): 52- 348.

63. – Carcavallo, R., Galíndez-Girón J., Jubero, J., Galvao C. and H. Lent. 1999. Vol. III 747-792 Geographical distribution and alti-latitudinal dispersión: "In: Atlas of Chagas Disease vectors in the Ameritas (RU Carcavallo, I Galíndez-Girón, J Jurberg, H Lent-eds). Editora Fiocruz, Rio de Janeiro.

64. – Kumate J., et. Al. Tripanosomosis En: Manual de Infectología clínica. 15^a ed. México: Méndez Editores; 2001; 70: 695-700.

65. – Salazar Schettino P. M. Enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis Americana) Mimeo en proceso de publicación.

66. – Schofield C. J., Dias JCP. 1991. A cost-benefit análisis of Chagas´disease control. Mem Inst Oswaldo Cruz; 86: 285-295.

67. – Salazar Schettino P.M., Tay J., Ontiveros A., Jiménez J., Ruíz A.L. 1945 Enfermedad de Chagas en México. Presentación de casos clínicos. Revista Fac. Méd. Méx. 1983; 26(1):11-51MAZZA S. Recopilación de sus trabajos, Univ. De Buenos Aires.

68. – Storino R. 2000. "La cara oculta de la Enfermedad de Chagas". Rev. de la Fed. Arg. de Cardiología.Vol. 29 , N° 1, 31 -44, Argentina.

69. – Schofield C. J. 1985. Control of Chagas disease vectors. Brit Med Bulb, 41:187-194.

70. – Goldsmith RS, Kagan IG, Zarate R, Reyes Gonzalez MA, Cedeño FJ. Estudio epidemiológico de la enfermedad de Chagas en Oaxaca, México. Bol Sanit Panam 1979; 87: 1-19.

71. – Goldsmith R. S., Zárate R. T., Zárate L. G., Kagan I. G., Jacobson H., Morales C. 1986. Estudios Clínicos y epidemiológicos de la enfermedad de Chagas en México y un estudio complementario de 7 años. I Cerro del Aire. Bol fo Sanit Panam, 100: 145-166.

72. – Bayona C., Velasco O., Ramírez J., Gutiérrez M., Guzmán C. 1983. Enfermedad de Chagas en donadores de sangre del hospital universitario de Puebla, México. Rev Higiene, 6: 18-26.

73. – Norma técnica No. 348 para la prevención y control de la tripanosomiasis o enfermedad de Chagas. Diario Oficial 1992.

74. – Goldsmith R. S., Zarate C. R., Kagan I. G., Cedeño F. M., Galindo V. P. 1978. El potencial de la transmisión en la enfermedad de Chagas por transfusión sanguínea: Hallazgos serológicos en donadores del estado de Oaxaca. Sal Pub Méx, 20: 439- 444.

75. – Prevalencia de *T. cruzi*, en hemodonadores de México: Congreso Iberoamérica de Bancos de Sangre Med Transf. Acapulco, Gro. México 1991.

76. – García Ramirez M. G. Determinación de anticuerpos con *T. cruzi* en una población de hemodonadores del centro de sangre de la Cruz Roja Mexicana. Tesis UMAC. 1992, pp 1- 57.

77. – Monteon B. M. et al. Diagnóstico Serológico de la enfermedad de Chagas: autosuficiencia y concordancia interlaboratorios; Salud Publica Mex 1995; 373: 232-235.

78.- Chagas C. 1909. Nova tripanozomiasse humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. sp., agente etiologico de nova entidade morbida do homem. Mem inst Oswaldo Cruz, 1: 159-218.

79. – Mazzottii L. 1940. Dos casos de Enfermedad de Chagas en el Estado de Oaxaca. Gac Med México; 417- 420.

80.- Dumonteil E. 1999. Update on Chagas´disease in México. Salud Publica Mex; 41: 322-327.

81. – Monteón M. V., Linares T. C., Amador G.F.R., Ruegsegger G. L., Reyes P. A. 1987. Anticuerpos séricos a *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre en la ciudad de México. Bioquímica; 9: 6-9.

82. – Ramos-Echevarria A., Monteón-Padilla V., Reyes-López P. 1993. Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre. Sal Pub Mex; 35: 56-64.

83. – Trujillo c. F., Lozano K. F., Soto M. M., Hernández G. R. 1993. The prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in blood donors in the state of Jalisco, Mexico. Rev Soc Bras Med Trop; 26: 89-92.
84. – Rodríguez-Félix M. E., Zavala-Velázquez J., Barrera-Pérez M. A., Guzmán-Marín E., Ramírez-Sierra M. J., Alvarez Moguer R. 1995. Riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas por donantes de sangre. Rev Biomed; 6: 70-75.
85. – Rangel H., Gatica R., Ramos C. 1998. Detection of Antibodies Against *Trypanosoma cruzi* in Donors from a Blood Bank in Cuernavaca, Morelos, México. Archives of Medical Research; 29: 79-82.
86. – Guzmán C., García L., Floriani J., Guerrero S., Torres M., Ramírez C. Velasco O. 1998. Riesgo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre en México. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health; 4: 94-98.
87. – Monteón-Padilla V., Hernández-Becerril N., Guzmán-Bracho C., Rosales-Encina J. I., Reyes-López P. A. 1999. American Tripanosomiasis (Chagas' Disease) and Blood Banking in Mexico City: Seroprevalence and its Potencial Transfusional Transmission Risk. Archives of Medical Research; 30: 393-398.
88. – Salazar-Schettino P.M., Barrera M., Bucio M.I. 1989. Transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión sanguínea, Primer caso humano en México. Rev Mex Patol Clin; 36: 57-59.
89. – Guzmán-Bracho C., Lahuerta S., Velasco Castrejón O. 1998. Chagas Disease, First Congenital Case Report. Archives of Medical Research; 29: 195-196.
90. – Hoffmann CC. Nota acerca de un probable transmisor de la tripanosomiasis humana en el estado de Veracruz. Rev Mex Biol 1928; 8: 8-12.
91. – Moreno RM, Sánchez PL, Muñoz JL, Monteón VM, Reyes L. PA. Cardiopatía chagásica en Tehuantepec: informe preliminar. Archivos del Instituto de Cardiología de México 2001; 71: 43-49.
92. – Tay J, Schenone H, Sánchez JT, Robert L. Estado actual de los conocimientos sobre la enfermedad de Chagas en la República Mexicana. Boletín Chilena de Parasitología 1992; 47: 43-53.
93. – Pérez-Fuentes R, Sánchez-Guillén MC, González-Alvarez C, Monteón VA, Reyes PA, Rosales-Encina JL. Humoral nitric oxide levels and antibody immune response of

symptomatic and indeterminate Chagas disease patients to commercial and autochthonous *Trypanosoma cruzi* antigens. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1998; 58: 715-720.

94. – Ruegsegger GL, Monteón VM, Marcuschamer J, Reyes PA. Tripanosomiasis Americana (enfermedad de Chagas). Encuesta clínico-serológica en un municipio rural oaxaqueño. *Archivos del Instituto de Cardiología de México* 1993; 63: 145-148.

95. – Schofield C. J. Challenges of Chagas Disease Vector Control in Central America. WHO/WHOPES 2000; 35 pp.

96. – Ishibashi S, Inaba T, Shimano H, Okuna S, Higashi K. Monocyte colony-stimulating factor enhances uptake and degradation of acetylated low density lipoproteins and cholesterol esterification in human monocyte-derived macrophages. *J Biol Chem* 1990; 265: 14109-14117.

97. – Cabeza-Meckert P, Chambo J, Laguens R. Presence of cells producing antiheart autoantibodies in the inflammatory infiltrate of chronic chagasic myocarditis. *Clin Immunol Immunopathol* 1991; 60: 137-144.

98. – Petry K, Eisen H. Chagas' disease: a model for the study of autoimmune disease. *Parasitol Today* 1989; 5: 111-116.

99. – Cossio PM, Laguens RP, Diez C. Chagasic cardiopathy: antibodies reacting with plasma membrane of striated muscle and endothelial cells. *Circulation* 1974; 50: 1252 -- 1259.

100. – Szarfman A, Terranova VP, Renard SL, Foidart JM, Lima MF, Scheinman JL, et al. Antibodies to laminin in Chagas' disease. *J Exp Med* 1982; 155: 1161-1171.

101. – Gea S, Gruppi A, Basso B, Menso E, Vottero-Cima E. Antibodies to *Trypanosoma cruzi* cytosol acidic antigens (FIV) in Chagas' disease recognize parasite cell surface and human heart epitopes. *J Clin Lab Immunol* 1990; 31:183-187.

102. – Sterin-Borda LJ, Borda ES. Interacción del sistema nervioso autónomo con linfocitos y anticuerpos en la patogenia de la enfermedad de Chagas. En: Organización Panamericana de la Salud. *La enfermedad de Chagas y el sistema nervioso*. Washington, DC: OPS; 1994. pp. 317-338. (Publicación científica 547).

103. – Van Voorhis WC, Schlekewy L, Trong HL. Molecular mimicry by *Trypanosoma cruzi*: the FI-160 epitope that mimics mammalian nerve can be mapped to a 12-amino acid peptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 5993-5997.

104. – Ávila JL. Enfermedad de Chagas: evidencias de mimetismo molecular entre *Trypanosoma cruzi* y tejidos nerviosos del huésped. *Rev Facultad Med* (Universidad Central de Venezuela) 1995; 18: 32-46.

105. – Vidal- Acosta, V, Ibáñez- Bernal S Martínez- Campos C. 2000. Infección Natural de chinches *Triatominae* con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud Pública de Mex* 42: 496-503.

106 – Ibáñez-Bernal, S. Paz Rodríguez R. 1995. Nuevo registro geográfico de *Eratyrus cuspidatus* Stal (*Hemiptera: Ruduviidae, Triatominae*) de México. *Folia Entomol. Mex.* 94: 63-64

107. – Jiménez M L Palacios C. 1999. Estudios sobre la incidencia de la chinche piedrera *Dipetalogaster maximus* (Uhler) (*Hemiptera: Heteroptera: Reduviidae*) vector de *Trypanosoma cruzi* en zonas urbanas de La Paz, BCS, México. *Ann. Ins Biol. UNAM. Ser. Zool.* 70: 215-221.

108. – Ramsey J M, Tello L A, Pohls J L. 2003. Iniciativa para la Vigilancia y control de la Enfermedad de Chagas en la Republica Mexicana. *Ins. Nac. De Sal. Pub.* 214 pp.

109. – Schofield CJ, Dias JCP. A cost-benefit análisis of Chagas disease control. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz* 2001; 86: 285-295.

110. – Aguilar VHM, Abad-Franch F, Racines VJ, Paucar CA. Epidemiology of Chagas disease in Ecuador. A brief review. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz* 2001; 96: 387-393.

111. – Ryckman R E. 1962. Biosintematics and host of the *Triatoma protracta* complex in North America (*Hemiptera: Reduviidae*).

112. – Ramsey et al 2000. Distribution of domestic *Triatominae* and stratification of Chagas Disease transmission in Oaxaca, México. *Medical and Veterinary Entomology.* 14: 19-30.

113. – Carcavallo R, Rabinovich J. E., Tonn R. J. 1985. Factores Biológicos y Ecológicos en la Enfermedad de Chagas. Tomo I. Monografía del Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud OPS/OMS. Argentina. 250 pp.

114. – Tay J., Ortega M Capin R., 1972. Estado actual de nuestros conocimientos sobre transmisores de la enfermedad de Chagas en México. Reporte de nuevas localidades infectadas. *Rev Fac. Med México* 15(3): 221- 226.

115. – del Rey EC, Baasombrio MA, Rojas CL. Beneficios brutos de la prevención del Mal de Chagas. *Castañares* 1995; 4: 4-75.

116. – Vallejo MA, Reyes PA. Tripanosomiasis Americana. Un problema sociomédico en México? *Archivos del Instituto de Cardiología de México* 1996; 66: 95- 97.

117. – Mazzottii L., Dias E. 1949. Resumen de los datos publicados sobre la Enfermedad de Chagas en México. *Rev. Soc. Mex. Hiast Nat* 10 (1-4): 103- 111.

118. – Morris SA, Tanowitz HB, Witner M, Bilezikian JP. Pathophysiological insights into the cardiomyopathy of Chagas' disease. *Circulation* 1990; 82: 1.900-1.909.

119. – Acquatella H, Piras R. Chagas' disease. *Curr Opin Cardiol* 1993; 8: 463-472.

120. – Rossi MA, Ramos SG. Coronary microvascular abnormalities in Chagas' disease. *Am Heart J* 1996; 132: 207-210.

121. – Tanowitz HB, Kaul DK, Chen B, Morris SA, Factor SM, Weiss LM et al. Compromised microcirculation in acute murine Trypasonoma cruzi.