

84
2ci



**Universidad Nacional Autónoma
de México**

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**"IDENTIFICACION DE RESERVORIOS DE Trypanosoma cruzi
EN DEGUEDO, ESTADO DE MEXICO**

T E S I S

Que para obtener el título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

presenta

MACEDONIO GARCIA HERNANDEZ



Asesores:
M.V.Z. ALINE S. DE ALUJA
DR. JORGE TAY ZAVALA

México, D. F.

1988



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCION.....	3
MATERIAL Y METODOS	9
RESULTADOS	12
DISCUSION	14
CUADROS.....	17
TABLAS	19
MAPAS.....	23
LITERATURA CITADA	26

R E S U M E N

GARCIA HERNANDEZ MACEDONIO. Identificación de reservorios de Trypanosoma cruzi en Deguedó, estado de México. (bajo la dirección de M.V.Z. Aline S. de Aluja y Dr. Jorge Tay Zavala).

El objetivo del presente trabajo fué determinar mediante diferentes técnicas de laboratorio la presencia de reservorios de Trypanosoma cruzi en el poblado de Deguedó, municipio de Soyaniquilpan, estado de México, para lo cual se tomaron muestras de un total de 135 mamíferos domésticos y 6 silvestres.

Las muestras se obtuvieron mediante la extracción de 5 ml de sangre venosa a 114 animales domésticos y a 6 silvestres.

Con la sangre así obtenida se elaboraron 240 frotis, los cuales una vez teñidos con la tinción de Giemsa se revisaron al microscopio y no se encontró ningún tripomastigote. También con la sangre fueron inoculados 114 medios de cultivo de Novy, MacNeal y Nicole, los que después de cuatro revisiones y al cabo de 60 días de haber sido inoculados se descartaron sin crecimiento del parásito. A la sangre sobrante se le dejó coagular para obtener el suero, con el cual se realizaron 100 reacciones de Hemaglutinación y 36 reacciones de Fijación de Complemento, los títulos obtenidos con dichos sueros, fueron negativos.

Apartir de 21 fragmentos de miocardio de mamíferos domésticos y 6 miocardios de animales silvestres se elaboraron 27 cortes histológicos y se revisaron al microscopio, sin encontrar nin

gún nido de amatigote.

Se realizaron 7 pruebas de Xenodiagnóstico, se hicieron tres revisiones de las heces de las chinches hematófagas utilizadas y al término de 60 días se desecharon sin encontrar ningún tri pomastigote metacíclico.

Los animales silvestres utilizados en el presente trabajo fueron 3 Rattus norvegicus (ratas) y 3 Mus musculus (ratones).

INTRODUCCION

La enfermedad de Chagas es una endémia de origen parasitario, de gran importancia para el hombre en el continente Americano. Se han demostrado casos en seres humanos desde Estados Unidos de Norteamérica hasta Argentina y Chile (22,30,31). También en diversos mamíferos principalmente en edades juveniles (9,12).

La enfermedad es causada por el protozoario Trypanosoma cruzi (Chagas 1909) que se localiza en el huésped vertebrado en la sangre y varios tejidos (9,21,24,30). En el hombre se caracteriza por tener un curso agudo o crónico; los casos agudos por lo general se presentan en los niños (12,28,30,40), cursan con fiebre, taquicardia, edemas periféricos, aumento discreto del tamaño ganglionar, esplenomegalia, hepatomegalia, miocarditis y presencia de tripomastigotes en la sangre periférica (12,19,30,40). En un 50 % de los casos se observa edema bpalpebral unilateral con adenitis satélite preauricular (signo de Romaña) (7,12,19,32,36). En un 25% de los casos se presentan lesiones cutáneas llamadas chagomas, que se acompañan de aumento de tamaño de los ganglios linfáticos regionales (10,12,16,19,30,40).

Se consideran sitios de penetración del parásito la vía oral, la mucosa conjuntival y la vía cutánea lesionada (chagomas) (12).

La enfermedad es transmitida por insectos hematófagos del

grupo Triatominae (5,9,12,20,30). El conocimiento de los transmisores de Trypanosoma cruzi en México es quizá el aspecto sobre el que más se ha contribuido, pues se han encontrado numerosas localidades con estos insectos. Se ha informado de triatomínos infectados con T. cruzi en todos los estados de la República Mexicana, aunque la mayor parte de las localidades se encuentran hacia la vertiente del Pacífico y en altitudes de 0-1800 metros sobre el nivel del mar, lo que hace suponer que la zona probablemente endémica de la enfermedad de Chagas sea muy amplia (26,37,38,39). Se conocen siete generos del grupo Triatominae: el género Triatoma, con 36 especies y subespecies distribuidas en casi toda la República; Dipetalogaster; Rhodnius; Paratriatoma, con tres especies; Panstrongylus; Eratyrus y Belminus (5,27,34,37,39) (Mapa I).

La infección en humanos es común en muchos países de América. Las condiciones socioeconómicas en las cuales viven las gentes principalmente en América Latina, tienen un papel muy importante en la prevalencia de la enfermedad. La coexistencia de habitat entre el hombre, los reservorios silvestres y domésticos y la presencia de triatomínos esta asociada a condiciones de vida características de los países en vías de desarrollo, principalmente en construcciones con materiales como madera, adobe o piedra, donde se forman criaderos de estos insectos junto con la convivencia de animales domésticos (8,30).

Hasta 1980 se ha informado de la presentación de 148 casos en seres humanos. La mayoría de ellos ocurrieron en regio-

nes que se encuentran en la vertiente del Océano Pacífico, desde Zacatecas hasta el sur del país (8,31,39) (Tabla I).

Los reservorios determinados hasta ahora son vertebrados mamíferos silvestres y domésticos, ellos son: Didelphis marsupialis (tlacuache), Dasyus novemcinctus maximus (armadillo), Canis familiaris (perro), Rattus norvegicus (rata), Mus musculus (ratón) y Sciurus vulgaris (ardilla) (1,7,30,39). En México aun no se ha demostrado a Suis domesticus (cerdo) infectado con T. cruzi, aunque Mazzotti y Brumpt en 1936 señalaron haber realizado la infección en forma experimental (39); en Brasil, Pinto (1942) menciona que este animal se encuentra infectado en la naturaleza (29,39) (Tabla II y Mapa II).

Para realizar el diagnóstico de la enfermedad de Chagas es de suma importancia considerar aspectos epidemiológicos, clínicos y de laboratorio. Con base en la fisiopatología de la enfermedad, el diagnóstico puede orientarse así:

Los métodos directos tales como el frotis sanguíneo y la gota gruesa se realizan para casos agudos donde se sospecha de una alta parasitemia, detectando por microscopía al parásito en su forma de tripomastigote (3,23).

Los métodos de demostración indirecta son altamente sensibles, pero la obtención de resultados no es inmediata, entre estos se encuentra el Xenodiagnóstico que consiste en permitir que triatomíneos libres de la infección y criadas en el laboratorio, se alimenten con sangre de un paciente que sea sospechoso, cuando la infección esta presente los tripanosomas se

multiplican rápidamente en el intestino del triatomino y al examinar sus heces a los 15 ó 30 días se encontrará al parásito en su forma de tripomastigote metacíclico (3,30,39).

La inoculación de medios de cultivo especiales como el de Novy, MacNeal y Nicole (NNN) sirve para observar el desarrollo de los tripanosomátidos a los 15 ó 30 días (3,4,11).

La inoculación con sangre de un individuo sospechoso en animales de laboratorio como el ratón blanco, nos permite detectar los tripomastigotes en la sangre del ratón a los 10 ó 15 días, si el paciente es positivo (3,35,39).

Las pruebas serológicas están indicadas preferentemente en casos crónicos de la enfermedad, entre las que se destacan la Reacción de Fijación de Complemento (RFC), la Hemaaglutinación Indirecta, la Aglutinación Directa y la Inmunofluorescencia. Para realizar estas pruebas se utilizan antígenos preparados con T. cruzi, mediante procedimientos que fueron diseñados en 1913 por Guerreiro y Machado (3,38,39,41).

El diagnóstico postmortem se realiza mediante la elaboración de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina-Eosina (HE), a partir de órganos como corazón, pulmón, bazo e hígado. Aquí se encontrará al parásito en forma de amastigote formando bolsas o nidos (2,3,39).

Aun cuando los estudios de la enfermedad de Chagas en la República Mexicana han demostrado la existencia de un gran número de localidades en las cuales se encuentran triatominos infectados con T. cruzi, incluso en el estado de México (6),

los estudios sobre reservorios de este parásito en el país son muy pocos y muy pocas las localidades estudiadas. Por lo anterior se hace necesario abundar sobre este aspecto, debido a -- que por medio de estos reservorios se ha mantenido la prevalencia de la enfermedad de Chagas en el país (5,25,39).

El poblado de Dequedó se localiza en la parte norte-occidental del territorio que comprende el estado de México, a 20° 00' 50'' latitud norte y 90°31' 23'' longitud oeste del meridiano de Greenwich.

Esta comprendido dentro del municipio de Soyaniquilpan de Juárez y pertenece al distrito de Jilotepec, tiene una altura de 2400 m.s.n.m. Su clima es templado semiseco, con temperatura media anual de 18°C y una precipitación pluvial de 700mm³. Las principales actividades económicas de la población son la agricultura y la ganadería (14).

HIPOTESIS

Trypanosoma cruzi se encuentra presente en diferentes animales de Dequedó, estado de México.

OBJETIVO

El presente estudio pretende la identificación de reservorios de Trypanosoma cruzi en el poblado de Dequedó, Mpio. de Soyaniqulpan estado de México, como una contribución al estudio de la Tripanosomiasis (Enfermedad de Chagas) en la República Mexicana, específicamente en una localidad no estudiada hasta ahora.

MATERIAL Y METODOS

Para la realización del presente trabajo se obtuvo sangre periférica, se muestrearon un total de 34 bovinos, 33 ovinos, 16 porcinos, 11 caprinos, 9 equinos, 9 caninos y 2 felinos, que fueron tomados de 10 ranchos localizados dentro del poblado de estudio. Se obtuvieron 5 ml de sangre periférica en condiciones de esterilidad y se sometió a los siguientes pasos:

- 1.- Se elaboraron 228 frotis sanguíneos, a partir de 114 muestras de sangre, los cuales fueron fijados con alcohol metílico, teñidos con una tinción doble de Giemsa-Wright (2,23) y observados al microscopio de luz en busca de tripomastigotes.
- 2.- Inoculación de 114 medios de cultivo de Novy, MacNeal y Nicole (NNN) para T. cruzi (3,4,11) en condiciones de esterilidad, fueron inoculados a temperatura ambiente durante 15 días y se realizó una primera revisión, para buscar crecimiento del parásito, a los 30 días de inoculación se realizó una segunda revisión, a los 45 días la tercera y a los 60 días la última. Los medios de cultivo sin crecimiento fueron desechados.
- 3.- Se vaciaron 4 ml de sangre en tubos de ensaye y se dejó coagular espontáneamente. Después se separó el suero en frascos ampola estériles para ser congelados y en esas condiciones ser transportados al laboratorio.

En el laboratorio de Inmunoparasitología del departamento de Ecología Humana de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M., se realizaron 100 reacciones de Hemaglutinación, de acuerdo con las técnicas de rutina (3,13,14,41).

En el laboratorio de Inmunología del departamento de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M., se realizaron 36 reacciones de Fijación de Complemento, de acuerdo con la técnica de Guerreiro y Machado (3,13,14,35,39), para la detección de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi.

En 7 de los animales muestreados se realizó el Xenodiagnóstico (18,30,32,33), utilizando 5 triatomas (chinchas hematófagas) por animal, criadas en el departamento de Ecología Humana de la Facultad de Medicina. Las chinchas fueron colocadas en cajas de cartón, pequeñas, utilizando como tapa tul blanco, las cajas fueron fijadas con cinta adhesiva sobre la piel rasurada de 2 bovinos, 2 equinos, un cerdo, un ovino y un perro, poniéndolas por la tarde y recuperándolas por la mañana del día siguiente. Pasados 15 días de que fueron alimentadas las chinchas, se colectaron las heces de éstas para revisarlas al microscopio, a los 30 días se hizo una segunda revisión y a los 60 días una tercera y se desecharon las chinchas que resultaron sin evidencias del parásito.

En el rastro distrital de Jilotepec, se colectaron 21 fragmentos de miocardio, de animales seleccionados al asar de los que allí se sacrifican. Estos fueron 7 miocardios de bovino, 7 de ovino y 7 de cerdo. Fueron depositados en frascos con formalina amortiguada (pH 7) para fijarlos y ser procesados en el laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, para la obtención de cortes en para-

fina de 5 micras de grosor y se tiñeron con Hematoxilina-Eosina (HE) (2,23). Los cortes histológicos fueron estudiados para comprobar si existían nidos de amastigotes o alteraciones inflamatorias en miocardio.

Mediante trampeo fueron capturados 3 ratas y 3 ratones, en casas del poblado de estudio, a éstos animales se les tomó sangre de la cola, se hicieron 12 frotis, se fijaron y tiñeron para revisarlos al microscopio en busca de tripomastigotes. Por punción cardiaca se extrajo de las ratas y de los ratones 0.5 ml de sangre la cual se inoculó en medios de cultivo de MNN. Después de 4 revisiones y al cabo de 60 días se desecharon los medios sin crecimiento del parásito.

Las ratas y los ratones capturados se sacrificaron con cloroformo, se les extrajo el corazón, para su estudio histopatológico, la piel y el cráneo se disecaron y fueron utilizados para su clasificación Taxonómica Mastozoológica.

RESULTADOS

Frotis sanguíneos

Se revisaron 228 frotis sanguíneos de animales domésticos y 12 frotis de animales silvestres, sin encontrar estructuras sugestivas de tripomastigotes.

Medios de Cultivo

La totalidad de los cultivos resultó sin crecimiento de el parásito, después de 60 días y 4 revisiones.

Reacciones serológicas

Los sueros sometidos a las reacciones de hemaglutinación y fijación del complemento dieron títulos negativos (cuadro 1 y 2).

Xenodiagnóstico

Después de tres estudios consecutivos a los 15, 30 y 60 días de las heces de los triatomas, no se encontró ningún tripomastigote metacíclico.

Histología de miocardios

En los cortes histológicos, al ser revisados al microscopio, no se encontró ningún nido de amastigotes, sin embargo en 7 de los cortes se pudo observar un proceso inflamatorio caracterizado por la presencia de linfocitos.

Cabe mencionar como hallazgo independiente que en 14 de

los cortes pertenecientes a bovinos, ovinos y cerdos, se encontró una amplia invasión de sarcosporidios (Sarcosistes spp) en las fibras musculares miocárdicas.

Los animales silvestres capturados fueron 3 Rattus norvegicus (rata gris) y 3 Mus musculus (ratón doméstico) (17).

DISCUSION

Es evidente que los resultados obtenidos son negativos, sin que esto autorice afirmar que en el poblado de Deguedó no existan reservorios del protozooario Trypanosoma cruzi. Se hacen necesarios más estudios y en diferentes épocas del año para establecer un juicio definitivo, ya que las condiciones climáticas del momento en que fué realizado el estudio (abril y mayo, época de estiaje) no son las mismas durante todo el año. En época de lluvias cuando aumenta la flora y fauna silvestre, es posible que aumente el número de transmisores, por lo que un estudio en esa época, que es más propicia para el desarrollo del vector (6,7,37,39), nos podría dar resultados diferentes a los obtenidos en este trabajo.

Los triatomínos viven normalmente en altitudes de 0 a 1800 metros sobre el nivel del mar, con clima tropical, semi-tropical y templado (37,39), en condiciones de domesticidad, dentro de las habitaciones del hombre (37,39). Tienen hábitos nocturnos para picar, en ocasiones se han colectado triatomas en el momento mismo de estar picando a personas dormidas (39). Se han colectado en el campo en condiciones selváticas, en nidos de animales silvestres y debajo de las piedras (6,7,37,39).

Es importante recalcar que el poblado de Deguedó se encuentra a una altura de 2400 metros sobre el nivel del mar y que se ha señalado que los insectos transmisores, infectados con T. cruzi se encuentran en altitudes que van de 0 a 1800 metros sobre el nivel del mar. Sin embargo los habitantes de

este lugar afirman conocer y haber tenido contacto con el insecto transmisor en sus hogares, por lo que un estudio dirigido a la población humana podría dar resultados diferentes.

En el estudio de algunos de los cortes histológicos se encontró un infiltrado linfocitario sin encontrar nidos de amastigotes. La presencia de este tipo de infiltrado celular se asocia con entidades patológicas muy diversas (12,42), por lo que este cambio encontrado no debe interpretarse como indicativo de una infección por Trypanosoma cruzi.

Existe en la República Mexicana un gran número de localidades en las cuales se han encontrado triatominos infectados con T. cruzi. Algunas de estas localidades presentan las siguientes características geográficas y climáticas:

Tutuapan, estado de México situado en una región montañosa a 1650 metros sobre el nivel del mar, clima semicálido-semiseco y vegetación arbustiva pobre. En este lugar se encontró un gran número de casas infestadas con triatomas y se comprobaron casos de enfermedad de Chagas (6).

Tetitlán, estado de Guerrero, ubicado a 40 metros sobre el nivel del mar, clima cálido-semiseco y vegetación de selva tropical caduceifolia. Se encontraron triatomas infectados con T. cruzi y se demostró la transmisión al hombre (7).

Tuxpan, estado de Michoacan, se encuentra a 1771 metros sobre el nivel del mar, con clima templado moderadamente lluvioso, con invierno seco y vegetación de bosque de coníferas.

Se encontraron triatomas transmisores de T. cruzi, se demostraron casos de enfermedad de Chagas con los métodos de diagnóstico comunes para este padecimiento (36).

Guaymas, estado de Sonora, con clima desértico, caliente vegetación xerófila escasa o nula y lluvias en el verano. Se detecta la presencia de triatomas en esta comunidad y se comprueba su potencialidad como transmisores al encontrarlos infectados con T. cruzi (27).

Estudios en el estado de Morelos con altitudes de 1000 a 1800 metros sobre el nivel del mar, con climas que van desde semicálido, semiseco hasta húmedo, semifrío y con vegetación de selva tropical, matorral árido tropical y bosque de coníferas. Aquí se realizan estudios sobre la distribución de las especies de triatomas en el estado y se señalan datos sobre el poder de invasión de T. cruzi a órganos internos del ratón blanco (37).

En el presente trabajo y en los animales estudiados no se encontró evidencia que denote la presencia de reservorios silvestres o domésticos de Trypanosoma cruzi en el poblado de Dequedó. Sin embargo será necesario llevar a cabo otros estudios ya que las condiciones ecológicas de la época en que se realizó el trabajo no son las óptimas para el desarrollo de los transmisores, o al menos su actividad es menor en dicha época.

CUADRO 1: HEMAGLUTINACION *

No. de sueros	Especie	Sin Título		Con Título					
		No.	%	1:2 %	1:4 %	1:8 %	%		
30	Bovinos	10	33.3	15	50	5	16.6	---	---
30	Ovinos	6	20.0	18	60	6	20.0	---	---
10	Caprinos	--	----	6	60	3	30.0	1	10
10	Cerdos	6	60.0	4	40	-	----	---	---
9	Equinos	2	22.2	6	66.6	1	11.1	---	---
9	Caninos	--	----	--	--	5	55.5	4	44.4
2	Felinos	1	50.0	1	50.0	-	---	---	---

* Nota: para la reacción de Hemaglutinación los títulos considerados como positivos son de 1: 16 ó más (3,13,14).

CUADRO 2: FIJACION DE COMPLEMENTO *

No. de sueros	Especie	Sin Título		Con Título			
		No.	%	1:2	%	1:4	%
30	Bovinos	10	33.3	15	50	5	16.6
6	Ovinos	1	16.6	4	66.6	1	16.6

* NOTA: para la reacción de Fijación de Complemento los títulos considerados como positivos son de 1:16 ó más (3,13,14).

Tabla 1

Relación de casos humanos de tripanosomiasis americana
diagnósticada por reacciones serológicas 1987.

Año	Número	Psitivos	%	Estado	Investigadores
1949	200	18	8.5	Guerrero	Biagi y cols.
1947	-	4	-	Guerrero	Perrin y cols.
1964	-	4	-	Guerrero	Aceves y cols.
1965	-	2	-	Oaxaca	Biagi y Arce Gómez
1967	165	12	7.5	Michoacan	Tay y cols.
1968	75	10	13.0	Zacatecas	Tay y cols.
1971	161	47	29.0	Oaxaca	Golsmith y cols.
1976	-	1	-	Guerrero	Rotberg y cols.
1978	-	5	6	Edo. de México Michoacan, Oa- xaca, Chiapas y Tabasco	Marcuschamer y Cols.
1974	2245	28	1.4	Yucatán	Zavala y Quintal
1979	530	7	13.0	Jalisco	Tay y Salazar
1983	34	1	2.9	Tabasco	Reyes y cols.
1986	30	8	26.7	Queretaro	Velazco y cols.
1986	86	10	22.1	Veracruz	Velazco y cols.
1986	135	61	45.2	Sinaloa	Velazco y cols.
1986	184	110	28.6	Morelos	Velazco y cols.
1986	835	140	16.7	Jalisco	Velazco y cols.

Continua.

1986	587	120	20.0	Puebla	Velazco y cols.
1986	657	280	42.6	Oaxaca	Velazco y cols.
1986	1540	384	21.3	Guerrero	Velazco y cols.
1987	52	46	88.0	Oaxaca	Tay y Salazar
1987	242	17	7.0	Morelos	Tay y Gutierrez

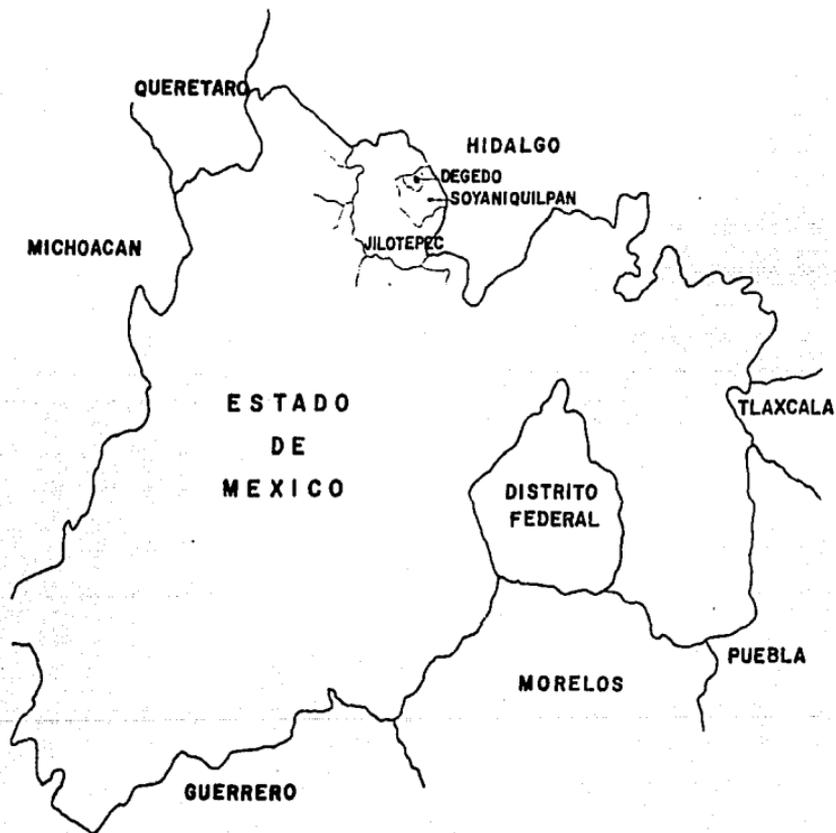
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Tabla 2
Infecciones comprobadas por Trypanosoma cruzi en
huespedes vertebrados no humanos.

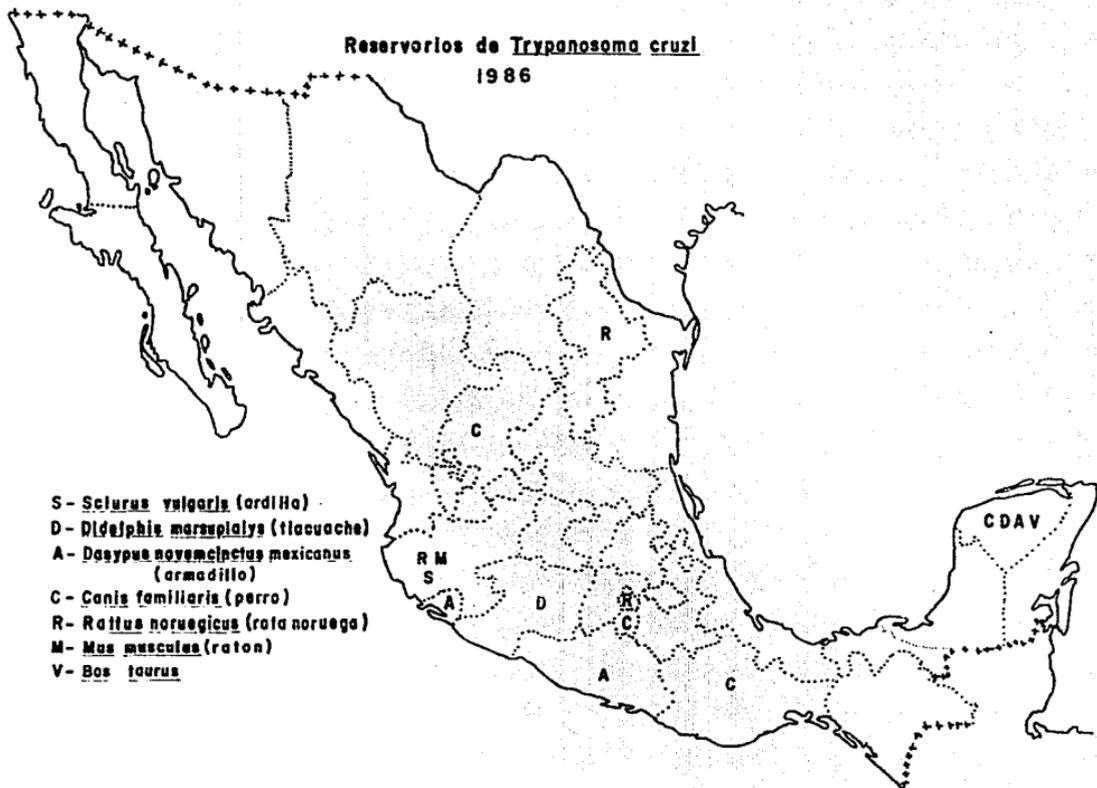
<u>Nombre</u>	<u>Autor</u>	<u>Año</u>	<u>Localidad</u>	<u>Infección</u>
<u>Bos taurus</u> (Bovino)	Quintal y Zavala	1975	Yucatán	+
<u>Canis familiaris</u> (Perro)	Mazzotti y Díaz	1949	Tututepec, Oaxaca	+
	Velasco y cols.	1970	Tepechitlán, Zacatecas	+
	Aluja y cols.	1985	Cuernavaca, Morelos	+
	Quintal y Zavala	1975	Yucatán	+
<u>Dasypus novemcinctus</u> (armadillo)	Ryckman y cols.	1940	Colima	+
	Mazzotti y Díaz	1949	Colima	+
	Quintal y Zavala	1975	Yucatán	+
<u>Didelphys marsupialis</u> (Tlacuache)	Díaz, Perrín y Brenes	1947	Agua Buena, Michoacán	+
	Quintal y Zavala	1975	Yucatán	+
	Biagi y Tay	1964	Tetitlán, Guerrero	+
<u>Rattus norvegicus</u> (Rata noruega)	Beltrán, E.	1949	C. de México (mercado)	+
	Tay y cols.	1979	Zacoalco, Jalisco	+
<u>Continúa</u>				

<u>Mus musculus</u>	Tay y cols.	1979	Zacoalco,	+
(Ratón)			Jalisco	
<u>Scirus vulgaris</u>	Tay y cols.	1979	Zacoalco,	+
(Ardilla)			Jalisco	

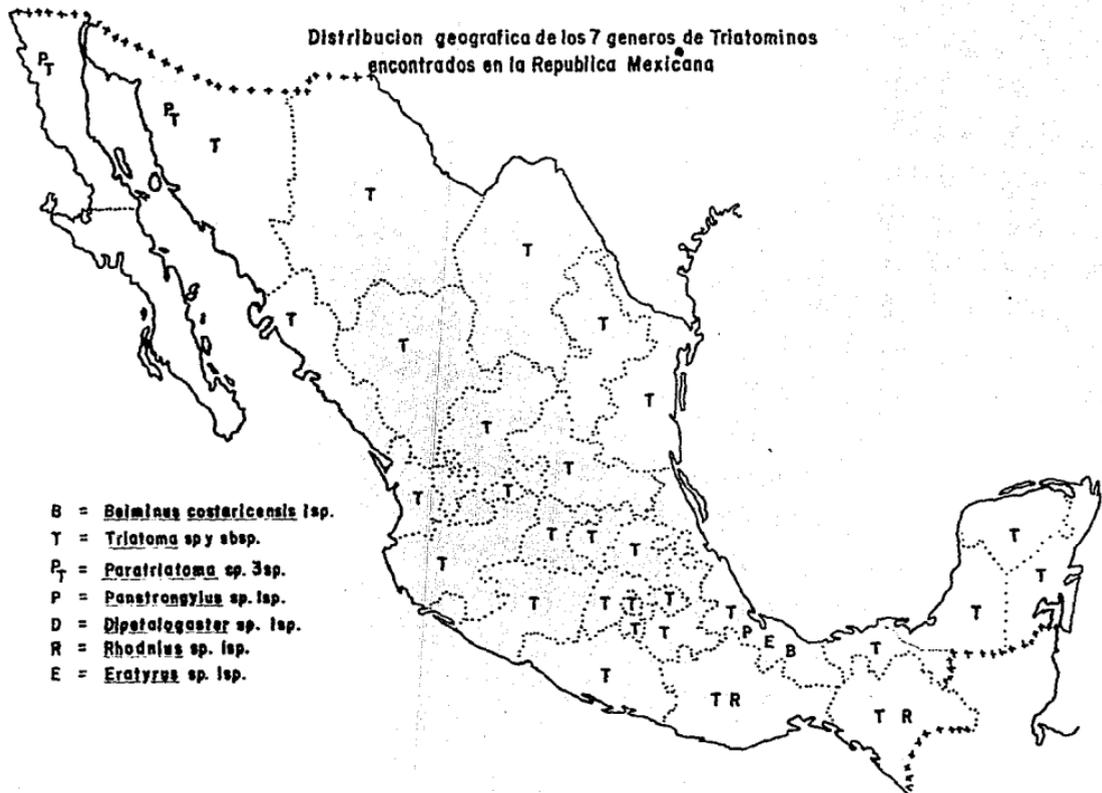
LOCALIZACION GEOGRAFICA DEL POBLADO DE ESTUDIO



Reservorios de Trypanosoma cruzi
1986



Distribucion geografica de los 7 generos de Triatomos encontrados en la Republica Mexicana



LITERATURA CITADA

- 1.- Aluja, S.A.: Miocarditis por Trypanosoma cruzi en un perro. Veterinaria Méx., Vol. 16: 41-44 (1985).
- 2.- Armed Forces Institute of Pathology: Manual of Staining Methods. Lee G.Luna, Washington, 1968.
- 3.- Baustista López N.L. y Parra Torres R.L.: Extracción de Antígenos Metabólicos de Trypanosoma cruzi en Cuatro Cepas Mexicanas para Pruebas de Fijación de Complemento y hemaglutinación Indirecta. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F. (1987).
- 4.- Beker, F. and Brech, M.R.: Medical Microbiological Techniques. 1 th ed., Edited Butterworths. 1980.
- 5.- Biagi, F.: Nueva infección natural con Schizotrypanum cruzi, variabilidad cromática y otras notas sobre triatomas mexicanas. Prensa Méd. Mex., Vol. 21: 123-126 (1956).
- 6.- Biagi, F., Guzmán, G., Navarrete, F., Tay, J., Portilla, J. y Olivera, S.: Enfermedad de Chagas en Tutuapan, Estado de México. Prensa Méd. Mex., Vol. 23: 463-465 (1958).
- 7.- Biagi, F., Tay, J., Guzmán, G. y Fong, F.: Tetitlán Guerrero, Foco endémico de la enfermedad de Chagas en México. Rev. Fac. Med. Méx., Vol. 6 : 626-631 (1964).
- 8.- Bolaños, de Mesa, H.: Estado actual de Tripanosomiasis Americanas en Guatemala. Sal. Pub. de Méx., Vol. 4: 211-213 (1962).
- 9.- Borchert, A.: Parasitología Veterinaria. 3a. ed., Edit.

Acribia, México, 1975.

- 10.- Brown, H.: Basic Clinical Parasitology., Appleton Century Crofts, New York, 1975.
- 11.- Burrows, W.: Textbook of Microbiology., 20 th ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1973.
- 12.- Correa, F., Arias Stella, R., Pérez Tamayo, R. y Carbonell, A.: Texto de Patología., 2a. ed., Edit. Prensa Méd. Mex., 1981.
- 13.- Coffin, D.: Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria. Reimpresión, Edit. Prensa Méd. Mex., 1981
- 14.- Fife, E.H.: Serodiagnosis of Trypanosomiasis Immunology of Parasitic Infections. Edited by Cohen, S. and Sadun, E.H., Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1976.
- 15.- Fondo Cultural del Estado de México: Monografía del Municipio de Soyaniquilpan de Juárez., Toluca, Méx., 1985.
- 16.- Galvan, J.G., Moreno, T.F., Elorriaga, S.F. y López, M.L.: Miocarditis Chagastita Crónica e Histoplasmosis Suprarrenal (Reporte de un caso clínico y revisión de la literatura). Infectología, Vol. 4: 104-109 (1984).
- 17.- Greaves, J.H.: La lucha contra los roedores en la agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Cuadernos Técnicos de la FAO, No. 40, Roma, 1984.
- 18.- Houba, V.: Immunologia Investigation of Tropical Parasitic Disease. Churchill Livingstone, 1980.
- 19.- Jones, T.C. and Hunt, R.D.: Veterinary Pathology. Lea and

- Febiger, Philadelphia, 1983.
- 20.- Jordan, A.M.: Testse flies as vectors of Trypanosomes. Veterinary Parasitology, Vol. 2: 143-152 (1976).
- 21.- Jubb, K.V. and Kennedy, P.C.: Pathology of Domestic Animals, Vol. I 2nd ed., Academia Press, New York, 1970.
- 22.- Kasa, T.J., Lathrop, G.D., Dupuy, H.J., Bonney, C.H. and Toft, J.D.: An Endemic Focus of Trypanosoma cruzi infection in a subhuman primate research colony. J.A.V.M.A., Vol. 171: 850-854 (1979).
- 23.- Kelly, W.R.: Diagnóstico Clínico Veterinario, 4a. impresión, Compañía Editorial Continental S.A., México, 1981.
- 24.- Mitscherlich, E. und Wagner, K.: Tropische und ihre Bekämpfung, Paul Parey, Berlin 1970.
- 25.- Mott, K.E., Mota, E.A., Sherlock, I., Hoff, R., Muñoz, T. M., Oliveira, T.S. and Draper, C.C.: Trypanosoma cruzi infection in dog and cats and household seroreactivity to T. cruzi in a rural community in northeast Brazil. Am. J. Trop. Med. Hyg. Vol. 6: 1123-1127 (1978).
- 26.- Palencia, L. y Montañón, E.A.: Un nuevo caso de tripanosomiasis en México., Rev. Fac. Méd. Méx., Vol. 1: 737-740 (1956).
- 27.- Palencia, L. y Julia, J.Z.: Triatomas transmisores de tripanosomiasis en Guaymas., Rev. Fac. Méd. Méx., Vol. 2: 493-497 (1960).
- 28.- Pelczar, M.J., Reid, R.D. and Chain, E.C.S.: Microbiology. 4a. th ed., Mc. Graw Hill, New York, 1977.

- 29.- Pinto, Días, J.C. y Botges, Días, R.: Las viviendas y la lucha contra los vectores de la enfermedad de Chagas en el hombre en el Estado de Minas Gerais, Brazil., Bol. of Sanit. Panam., Vol. 93: 453-465 (1982).
- 30.- Quiroz, H.: Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos., 1a. ed. Edit. Limusa, S.A., México, D.F., 1984.
- 31.- Salazar, F., Ocano, F.I. y Bolaños de Mesa, H.: Datos sobre Tripanosomiasis Americana (Enfermedad de Chagas) en los departamentos fronterizos con la República Mexicana., Sal. Púb. Méx., Vol. 4: 207-210 (1962).
- 32.- Secretaria de Salubridad y Asistencia: Control de Enfermedades Transmisibles, 2a. ed., México, 1975.
- 33.- Schmidt, G.D. and Roberrts, L.S.: Foundations of Parasitology., C.V. Mosby, St. Louis, 1977.
- 34.- Tay, J. y De Biagi, A.M.: Localidades nuevas de triatominos mexicanos y su infección natural con Trypanosoma cruzi Rev. Fac. Med. Méx., Vol. 6: 305-311 (1964).
- 35.- Tay, J. y Lara Aguilera, R.: Parasitología Médica., 2a. ed., Edit. Francisco Méndez Cervantes, México, D.F., 1985.
- 36.- Tay, J., Navarrete, C.E., Carominas, E.R. y Biagi, F.: La Enfermedad de Chagas en Tuxpan, Estado de Michoacan, México. Rev. Fac. Med. Méx., Vol. 8: 263-270 (1966).
- 37.- Tay, J., Biagi, F. y De Biagi, A.M.: Estado actual de conocimientos sobre triatominos del Estado de Morelos, México., Rev. Fac. Med. Méx., Vol. 8: 451-461 (1966).

- 38.- Tay, J. y De Biagi, A.M.: Estado actual del conocimiento sobre triatomas y la enfermedad de Chagas en el Estado de Michoacan, México., Rev. Fac. Med. Méx., Vol. 9: 109-121 (1967).
- 39.- Tay, J., Salazar, S.P., Bucio, M.I., Sarate, R. y Sarate, L.: La enfermedad de Chagas en la República Mexicana., Sal. Pú. de Méx., Vol. 22: 409-450 (1980).
- 40.- Tay, J., Salazar, S.P., Ontiveros, A., Jiménez, J., de Haro, I., García, Y. y Gutierrez, M.: Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en una Población de Oaxaca, México., Bol. Of. Sanit. Panam., Vol. 102: 12-24 (1987).
- 41.- Tizard, I.: Inmunología Veterinaria., 2a. ed. Edit. Interamericana, México, 1984.
- 42.- Trigo, Tavera, J. y Mateos Poumian, A. Patología General Veterinaria., 1a. ed., Fac. Med. Vet. y Zoot., Universidad Nacional Autónoma de México., México, D.F., 1986.