

41
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

VNAM

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**REVISION BIBLIOGRAFICA
DE LA TRIPANOSOMIASIS
AMERICANA
(ENFERMEDAD DE CHAGAS)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A N:

**IRENE RAZO CHAVEZ
FELIPA RESENDIZ MUÑOZ**

DIRECTOR DE TESIS:
MVZ. PABLO MARTINEZ LABAT



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

INDICE

	PAGINA
JUSTIFICACION	3
OBJETIVOS	5
RESUMEN.....	7
LUGARES EN DONDE SE OBTUVO LA LITERATURA DE INTERES.....	11
CAPITULO 1. Antecedentes históricos de la enfermedad de Chagas	17
CAPITULO 2. Clasificación taxonómica del <i>Trypanosoma cruzi</i>	23
CAPITULO 3. Morfología de <i>Trypanosoma cruzi</i>	25
3.1 Fase de Amastigote, 25	
3.2 Fase de Epimastigote, 25	
3.3 Fase de Tripomastigote, 26	
3.4 Fase de Promastigote, 27	
CAPITULO 4. Ciclo biológico de <i>Trypanosoma cruzi</i>	29
4.1 Desarrollo en el hospedero vertebrado, 29	
4.2 Desarrollo en el hospedero invertebrado, 30	
CAPITULO 5. Vectores de la enfermedad de Chagas.	35
CAPITULO 6. Distribución geográfica.....	53
CAPITULO 7. Reservorios que participan en la tripanosomiasis.....	75
CAPITULO 8. Mecanismos de transmisión	85

CAPITULO 9. Influencia de la edad y sexo en el desarrollo de la enfermedad	91
CAPITULO 10. Patogenia de la tripanosomiasis	97
CAPITULO 11. Técnicas empleadas en el diagnóstico	115
11.1 Procedimientos parasitológicos directos, 115	
11.2 Procedimientos parasitológicos indirectos, 119	
11.3 Pruebas serológicas, 125	
CAPITULO 12. Profilaxis	143
CAPITULO 13. Tratamiento	153
CAPITULO 14. Inmunología de la tripanosomiasis americana.....	163
DISCUSION.....	181
BIBLIOGRAFIA.....	183

JUSTIFICACION

Esta tesis se ha realizado con la finalidad de presentar una información completa y actual sobre la enfermedad de Chagas, debido a que existe un gran desconocimiento de ella por parte del personal del área de la salud.

Este problema de tipo socioeconómico, considerado propio de áreas tropicales y subtropicales, se ha ido extendiendo en toda América Latina; en la actualidad son considerados como endémicos todos los estados de la República Mexicana.

Dentro de las principales causas de mortalidad, las de tipo cardíaco ocupan el tercer lugar, por lo que es importante considerar los diagnósticos de "paro cardíaco" ya que muchos de ellos son ocasionados por *Trypanosoma cruzi*, en individuos de áreas endémicas, pasando desapercibidos.

En América Latina la enfermedad de Chagas no ha tenido la importancia epidemiológica como otras enfermedades infectocontagiosas (HIV, VDRL, hepatitis) de probable transmisión por transfusión sanguínea.

OBJETIVOS

1. REALIZAR UN ESTUDIO GENERAL SOBRE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS..

2. ACTUALIZAR E INTEGRAR LA INFORMACION AL RESPECTO.

RESUMEN

La enfermedad de Chagas ha tenido una evolución histórica ya que desde el siglo XVI se hace referencia de los triatomíneos productores de la tripanosomiasis. En el siglo XX, Carlos Chagas descubre que en realidad estos insectos son los causantes de la enfermedad que lleva su nombre, por lo cual se enfrenta con una serie de controversias con científicos de su época. En 1934 después de su muerte es cuando se tiene mayor aceptación y confirmación de la enfermedad en diversos países de América Latina.

En la República Mexicana, en 1936 es reportado por Mazzotti y colaboradores los primeros hallazgos de *Trypanosoma cruzi* en hospederos silvestres y triatomíneos, descubriendo en 1940 los dos primeros casos humanos.

La clasificación taxonómica de *Trypanosoma cruzi* esta dada según Levine y colaboradores en 1980, modificada de la clasificación de Honig Berg y colaboradores en 1964. Morfológicamente *Trypanosoma cruzi* está descrito según Hoare y Wallace en:

1. Amastigote.
2. Epimastigote.
3. Promastigote.
4. Tripomastigote (anchos y delgados).

El ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi* se lleva a cabo en dos fases, una en el hospedero vertebrado y la otra en el hospedero invertebrado. Su reproducción se lleva a cabo por fisión binaria longitudinal.

La tripanosomiasis Americana que en un principio fué una enzootia silvestre paso a ser una zoonosis, debido a la destrucción de la naturaleza provocando la migración de los triatomíneos hacia la habitación humana, así como su vehiculización y propagación de estos por la migración de las personas. La enfermedad se da como resultado de una estrecha y continua cohabitación del hombre e insecto vector en viviendas construidas con materiales que favorecen la anidación de los vectores así como también por

la presencia de condiciones sanitarias deficientes, como por ejemplo la existencia de animales domésticos y peridomésticos. Esta enfermedad se consideraba propia de países tropicales y subtropicales de América Latina, pero a la fecha se han reportado casos en Estados Unidos, atribuyéndose probablemente a la migración de personas de áreas endémicas y adaptación del insecto vector al medio ambiente. En México se consideran como probables áreas endémicas las ubicadas entre 0 y 1800 m sobre el nivel del mar.

Los países Latinoamericanos de mayor prevalencia son: Argentina, Brasil y Venezuela. En la mayor parte de la República Mexicana se han encontrado triatominos infectados, lo que ha ocasionado un aumento en el número de casos humanos reportados.

La población en riesgo son los niños y hombres adultos, los cuales probablemente adquirieron la enfermedad durante su niñez.

La patogenia en la enfermedad de Chagas se presenta en las siguientes fases:

- 1) Fase aguda; caracterizada principalmente por la aparición del signo de Romaña, meningoencefalitis y miocarditis.
- 2) Fase indeterminada; fase asintomática con bajos niveles de parasitemia.
- 3) Fase crónica; se presentan alteraciones cardíacas y digestivas (megacóndromes).

En la actualidad se cuenta con diversos métodos de diagnóstico, los cuales deberán de ser realizados en forma conjunta para llegar a un diagnóstico confirmatorio, los métodos de diagnóstico empleados son: Directos, indirectos, serológicos, inmunológicos e histopatológicos.

Los inconvenientes de las técnicas de diagnóstico son: Accesibilidad para el paciente a los centros de diagnóstico, estandarización de las técnicas ya establecidas, por lo que se recomienda que las organizaciones encargadas de la salud tomen las medidas necesarias para ello.

Hasta la fecha no se ha encontrado un medicamento eficaz que destruya las formas intracelulares del parásito en los tejidos infectados. Los medicamentos utilizados únicamente disminuyen la parasitemia sin llegar a

una cura total, algunas veces el tratamiento tiene que ser suspendido por su alto grado de toxicidad.

Se ha considerado el uso de una vacuna, pero las perspectivas para asegurar una protección adecuada en el ser humano son inexistentes, el problema hasta ahora es la falta de un modelo animal adecuado, para la reproductibilidad de la enfermedad y observar así los efectos que ocasionaría, para decidir si se aplica o no al hombre. Las vacunas utilizadas han tenido resultados satisfactorios únicamente por la disminución de la parasitemia pero no una protección total por los diferentes estados morfológicos del parásito, variabilidad antigénica así como virulencia de la cepa.

El uso de insecticidas es una medida profiláctica que ha tenido mucha utilidad ya que se ha logrado la disminución de los triatomíneos que se encuentran en viviendas de lugares endémicos principalmente. Sin embargo la erradicación de estos insectos con insecticidas es difícil y económicamente prohibitiva debido a las extensas zonas en donde la enfermedad de Chagas es endémica. Además de la repercusión ecológica por sus altos grados de toxicidad para el hombre, animales y vegetales.

La enfermedad de Chagas trae consigo serias repercusiones en las personas que las padecen ya que sufren de alteraciones fisiológicas graves, imposibilitándolos para desarrollar una actividad productiva, agravando con esto su situación económica-social ya que son desplazados de su centro de trabajo.

Consideramos la enfermedad de Chagas como un problema socioeconómico por lo que el futuro de esta en los países latinoamericanos dependerá de la mejoría de las condiciones de vida en estos.

LUGARES EN DONDE SE OBTUVO LA LITERATURA DE INTERES.

La información para la realización de esta tesis se recopiló a partir de artículos encontrados en bibliotecas y hemerotecas de centros de investigación, centros de docencia y centros de salud de los cuales se cita su ubicación.

BIBLIOTECA "DANIEL COSIO VILLEGAS"

El Colegio de México
Camino al Ajusco 20, Santa Teresa
C.P. 01000. México, D.F.

BIBLIOTECA-DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR

Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
Av. Instituto Politécnico Nacional 2508. San Pedro, Zacatenco
C.P. 07360. México, D.F.

BIBLIOTECA-DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA

Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
Av. Instituto Politécnico Nacional 2508. San Pedro, Zacatenco
C.P. 07360. México, D.F.

BIBLIOTECA-DEPARTAMENTO DE GENETICA Y BIOLOGIA MOLECULAR

Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
Av. Instituto Politécnico Nacional 2508. San Pedro, Zacatenco
C.P. 07360. México, D.F.

BIBLIOTECA DE LA FACULTAD DE QUIMICA

División de Estudios Profesionales,
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México
Edif. "A" Facultad de Química. Ciudad Universitaria
C.P. 04510. Coyoacán. México, D.F.

BIBLIOTECA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

División de Estudios Profesionales y de Posgrado
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Nacional Autónoma de México
Circuito Exterior, Ciudad Universitaria
C.P. 04510. Coyoacán. México, D.F.

BIBLIOTECA DEL INSTITUTO DE BIOLOGIA

Instituto de Biología
Universidad Nacional Autónoma de México
Circuito Exterior, Ciudad Universitaria
C.P. 04510. Coyoacán. México, D.F.

BIBLIOTECA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México
Circuito Interior, Ciudad Universitaria
C.P. 04510. Coyoacán. México, D.F.

BIBLIOTECA DE MEXICO

Dirección General de Bibliotecas
Secretaría de Educación Pública
Plaza de la Ciudadela 6, Centro
C.P. 06040, Cuauhtemoc. México, D.F.

BIBLIOTECA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION BIOMEDICA

Centro Médico Nacional
Instituto Mexicano del Seguro Social
Av. Cuauhtemoc 330, Doctores
C.P. 06720, México, D.F.

**BIBLIOTECA "Dr. GONZALEZ OCHOA" DEL INSTITUTO DEL
INSTITUTO NACIONAL DE REFERENCIA Y EPIDEMIOLOGIA
(I.N.D.R.E)**

Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales
Secretaría de Salubridad y Asistencia
Carpio 470, Santo Tomás
C.P. 11340, México, D.F.

**BIBLIOTECA-HOSPITAL GENERAL CENTRO MEDICO
NACIONAL (SIGLO XX)**

Hospital General Centro Médico Nacional
Instituto Mexicano del Seguro Social
Av. Cuauhtemoc 330, Doctores
C.P. 06720, Cuauhtemoc. México, D.F.

BIBLIOTECA MEDICA ESPECIALIZADA

Hospital de Especialidades Centro Médico "La Raza"
Instituto Mexicano del Seguro Social
Calzada Vallejo y Jacarandas, La Raza
C.P. 02990, Azcapotzalco. México, D.F.

BIBLIOTECA MEDICA ESPECIALIZADA

Hospital de Infectología Centro Médico "La Raza"
Instituto Mexicano del Seguro Social
Calzada Vallejo y Jacarandas, La Raza
C.P. 02990, Azcapotzalco. México, D.F.

BIBLIOHEMEROTECA DE POSGRADO

Sección de Posgrado e Investigación Escuela Superior de Medicina
Instituto Politécnico Nacional
Salvador Díaz Mirón y Plan de San Luis
C.P. 11340, Santo Tomás. México, D.F.

CENTRO REGIONAL DE INFORMACION BIOMEDICA

Hospital General Centro Médico "La Raza"
Instituto Mexicano del Seguro Social
Calzada Vallejo y Jacarandas, La Raza
C.P. 02990, Azcapotzalco. México, D.F.

COORDINACION DE BIBLIOTECAS Y HEMEROTECAS

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Universidad Nacional Autónoma de México
Carretera Cuautitlán-Teoloyucán
C.P. 64760, Cuautitlán Izcalli. Estado de México

DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA HUMANA

Laboratorio de Parasitología. Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México
Circuito Interior y Paseo de las Facultades, Ciudad Universitaria
C.P. 04510, Coyoacán. México, D.F.

HEMEROBIBLIOTECA DE INVESTIGACION "Dr. JOSE JOAQUIN IZQUIERDO"

División de Investigación de la Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México
Circuito Interior y Paseo de las Facultades, Ciudad Universitaria
C.P. 04510, Coyoacán. México, D.F.

HEMEROTECA CENTRAL

Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
Av. Instituto Politécnico Nacional 2508. San Pedro, Zacatenco

INSTITUTO NACIONAL DE DIAGNOSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLOGICA

Aniceto Ortega 1321
Col. Del Valle. México, D.F.
C.P. 03100

SISTEMA NACIONAL DE REGISTRO DE LA INVESTIGACION EN LA SALUD (SINARIS)

Insurgentes Sur 1397
Insurgentes Mixcoac. México, D.F.
C.P. 03920

UNIDAD DE DOCUMENTACION CIENTIFICA
Escuela Nacional de Estudios Profesionales de Iztacala
Universidad Nacional Autónoma de México
Av. de los Barrios, Los Reyes Iztacala
C.P. 054090, Iztacala. Estado de México

CAPITULO 1

ANTECEDENTES HISTORICOS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Los triatominos son insectos conocidos como chinches hociconas en nuestro medio y clasificados como hemípteros. En América del Sur se conocieron desde el siglo XVI, haciendo referencia a Fray Reginaldo de Lizarraga, quien registró la presencia de estos insectos domiciliarios en el Valle de Cochabamba, describiendo sus hábitos, así como su extensión hasta Tucumán, en la Argentina, y hasta las cercanas poblaciones de Chile.

Darwin al viajar por la Argentina y Chile observa la presencia de "vinchucas", su abundancia y agresividad. Así investigadores de esta época que por hacerse picar experimental y accidentalmente contraieron la tripanosomiasis, y ella contribuyo a su enfermedad posterior y quizá a su muerte.

Pero hasta el siglo XX la hematofagia de las "vinchucas" no fué asociada con la posibilidad de transmisión de enfermedades. Este conocimiento se inicia en 1907, con las primeras investigaciones de Carlos Chagas, en Brasil, y puede ser descrito en tres períodos.

I) Período de descubrimiento (1909-1916). Carlos Chagas, médico del servicio sanitario del Brasil e investigador del Instituto Oswaldo Cruz, de Manguinhos, Río de Janeiro, descubre, en el contenido intestinal de *Panstrongylus megistus*, la presencia de un tripanosoma, trabajando en una encuesta malariológica en Lassance (Valle del Río Das Velhas, estado de Minas Gerais). Para saber si era un parásito del insecto o una fase evolutiva de un parásito vertebrado, envió ejemplares infectados al propio doctor Cruz del Instituto, quien demostró que era posible infectar experimentalmente a monos del género *Callithrix*, en los cuales después de 20 a 30 días se encontró al flagelado, *Schizotrypanum cruzi*, en sangre periférica, denominandolo de esta manera en honor a su maestro y amigo, ensayando su evolución tanto en las "vinchucas" como en animales de laboratorio. Por la relación que existe entre animales infectados y seres

humanos en ese entonces Chagas sospecho la posibilidad de la transmisión del parásito de unos a otros, por hematofagia inespecífica de los insectos y por lo cual realizo un estudio hematológico de la zona. En abril de 1909, halla el tripanosoma en la sangre de un gato y en la de una niña de dos años, y es hasta entonces cuando se da a conocer la tripanosomiasis humana.

Al continuar sus estudios Chagas también se encuentra con decenas de enfermos, analiza las variedades de evolución de la enfermedad, distingue claramente las formas aguda, cardíaca y encefálica, advierte formas crónicas, entre ellas la cardíaca, describe arritmias en personas jóvenes sin arterioesclerosis u otra patología dominante, y sostiene que la tripanosomiasis es causa frecuente de muerte súbita en el área endémica. También encuentra "vinchucas" o triatomíneos infectados con el *Trypanosoma cruzi*, y demuestra que el armadillo es un hospedero silvestre del parásito. Es así como Carlos Chagas descubre el agente etiológico, los agentes transmisores, los receptores sensibles: hombres y animales; analiza la enfermedad clínica, fisiopatogenia y anatomía patológica; en animales, espontánea y experimentalmente determina la presencia de hospederos silvestres.

En 1911, Maggio y el parasitólogo Francisco Rosenbusch inician en Argentina estudios triatomológicos y en 1914 dan a conocer la presencia de un elevado parasitismo por el *Trypanosoma cruzi* en *Triatoma infestans*, en diez provincias Argentinas, pero sin encontrar casos de enfermedad en humanos.

Por otro lado en 1911 y 1912, Maurice Blanchard y Emile Brumpt demuestran la capacidad infectante del tripanosoma en diversos animales de laboratorio, y el segundo revela la posibilidad de infección a través de la conjuntiva ocular sana y por lesiones pequeñísimas de la piel, siendo hasta la fecha vías de infección ajenas a la picadura del insecto. En 1914 Brumpt idea el xenodiagnóstico (consiste en hacer picar a probables enfermos o animales infectados por vinchucas libres de infección parasitaria), para que en el caso de padecer de tripanosomiasis los parásitos se desarrollen en el tubo digestivo de los insectos, para así poder hacer un exámen microscópico del contenido intestinal después de cierto tiempo (Castagnino, 1980).

En 1916, gracias a los estudios de Chagas y a sus colaboradores y por estudios extranjeros, el estudio de la tripanosomiasis Americana se difundió en todos sus aspectos nosológicos, ampliándose su estudio a nivel científico en esa época.

II) Período de duda (1917-1927). Chagas llevo a cabo sus estudios de la tripanosomiasis en una región de primitivismo ecológico y de pauperismo social, con una población mal nutrida además de diversas endemias parasitarias. Otros clínicos pensaban que existía una relación de la parasitosis con el bocio lo cual no estaba verificado, esto fue un punto fundamental de controversia internacional que pretendió desacreditar a Chagas, campaña apoyada por quienes no tenían conocimiento sobre tal patología.

Esta actitud negativa se vio fortalecida debido a los pocos casos de infección humanos encontrados fuera de Brasil los cuales eran asintomáticos (además de haberse estudiado muy superficialmente, sin exámenes radiográficos, sin electrocardiografía, sin pruebas funcionales, a tal punto que se les considero simples portadores del parásito, y al *Trypanosoma cruzi* como un simple comensal y no como un parásito patógeno. Ya se había demostrado, para entonces, la existencia del parasitismo en diversas chinches, fuera de Brasil: en la Argentina, en 1914; en el Salvador, en 1915; en los Estados Unidos, en 1916; en Paraguay, en 1918; en Venezuela, en 1919 (Castagnino, 1980).

III) Período de ratificación y universalización (desde 1927 en adelante). Carlos Chagas muere en 1934, sin haber tenido la satisfacción de que la patología tripanosómica por él descrita hubiese sido confirmada, más allá del Brasil en toda su realidad. Sus hallazgos fueron aceptados como definitivos por la mayoría de los parasitólogos y médicos especializados en la enfermedad.

Mazza, clínico de enfermedades infecciosas, bacteriólogo, parasitólogo, anatomopatólogo, profesor de la Universidad de Buenos Aires, quien retoma la investigación de Chagas, a partir de 1926, verificó la tripanosomiasis como endemia y como patología grave, desde la Misión de Estudios De Patología Regional Argentina (M.E.P.R.A), dependiente de la Universidad de Buenos Aires, en donde Mazza realizó una exploración sanitaria en cuanto al *Trypanosoma cruzi*: identificación de vectores y hospederos animales, domésticos y silvestres, búsqueda de casos en seres humanos, patología experimental, perfeccionamiento de métodos de diagnóstico y ensayos terapéuticos. Mazza muere en 1946, pero deja registrados 1,400 casos de enfermedad de Chagas en la Misión de Estudios De Patología Regional de Argentina, de los cuales cerca de 1,100 fueron diagnosticados por demostración directa del parásito en sangre o en los

tejidos de los enfermos (biopsias ganglionares, cutáneas, conjuntivales, punciones viscerales), habiéndose realizado cientos de necropsias de casos agudos y crónicos.

Mazza y colaboradores en 1946, demuestran la existencia de la enfermedad aguda letal, cardíaca y nerviosa, confirmando la cardiopatía crónica así como las lesiones cutáneas dentro de ellas el chagoma (lesión que produce un edema según el sitio de penetración del parásito ya sea en la cara o en otras partes del cuerpo), adenopatías satélites como sistémicas; estudio el cuadro febril de la enfermedad aguda; señaló las lesiones cutáneas en la fase aguda; realizó las primeras tentativas terapéuticas con la bisquinaldina; aclaró la participación de la inmunidad en la patogenia, encontró una serie de hospederos silvestres con la infección y demostró la enfermedad en Bolivia.

Romaña en 1935, descubre que el edema palpebral unilateral, con conjuntivitis, y adenopatías satélites representan un signo característico de la fase aguda de la enfermedad. El signo llamado también complejo perioftalmoganglionar era muy característico y permitió reconocer algunos casos sospechosos de enfermedad de Chagas aguda, no conocida en áreas endémicas, descubriéndose así un elevado número de casos.

Años después Romaña creo y dirige el Instituto de Medicina Regional de la Universidad de Tucumán con la ayuda de sus colaboradores realiza estudios sobre encuestas epidemiológicas regionales, confirma la cardiopatía crónica, el estudio de las formas crónicas neurales, demostración de la transmisión congénita, medidas de prevención y control antivinchuca, comprobación del comportamiento del *Trypanosoma cruzi* en cultivos de tejido y múltiples revisiones metodológicas.

En 1949 se llevo a cabo la primera reunión panamericana sobre la enfermedad de Chagas (Tucumán) y en 1953, Ramón Carrillo, organizó la primera conferencia nacional sobre la enfermedad de Chagas.

En Brasil, después de la muerte de Carlos Chagas, Evandro Chagas, hijo de Carlos Chagas, profundiza en estudios electrocardiográficos de arritmias tripanosómicas. Emmanuel Dias, F. Laranja y G. Nobrega (1945-1946), realizaron amplios estudios anatomoclínicos sobre la miocardiopatía chagásica crónica, analizaron la epidemiología de la enfermedad en toda América, y entonces se llevaron a cabo las primeras campañas de desinsectación.

En 1944, el libro de Tállice sobre la enfermedad de Chagas el primero en

castellano, y su tratado de Parasitología fueron una guía importante de información de la tripanosomiasis durante años.

En la Facultad de Medicina de Santiago, de Chile, Amador Neghme, lleva a cabo una serie de estudios sobre la enfermedad de Chagas, que hasta la fecha tienen gran trascendencia así como el trabajo de J. Howard sobre casos de infección congénita, quién más tarde perfecciona el xenodiagnóstico lo que amplía los estudios epidemiológicos en gran escala bajo los modernos conceptos sanitarios junto a destacados colaboradores como J. Faiguenbaum, V. Bertin Soto, J. Román, Así como Neghme quién produce una obra ejemplar (Castagnino, 1980).

Pifano en Venezuela encamina el estudio de la enfermedad de Chagas con el apoyo del Instituto Oswaldo Cruz así como de sus colaboradores, quienes sobresalen en la fisiopatogenia de la cardiopatía humana, tipifican la miocarditis tripanosómica en perros, realizan encuestas epidemiológicas con respecto a vectores y hospederos, perfeccionan métodos de diagnóstico, desarrollan un Instituto de Medicina Tropical siendo uno de los más evolucionados en esa época.

En 1959, año del cincuentenario del descubrimiento de la enfermedad, una vez confirmada ya la endemia por *Trypanosoma cruzi*, los estudios relacionados al tema tuvieron un gran auge, estudios clínicos sobre todas las manifestaciones de la cardiopatía, investigaciones básicas sobre la estructura del parásito (con el microscopio), su bioquímica así como el metabolismo del parásito. También estudios sobre la relación hospedero-parásito en todas sus fases, *in vitro* e *in vivo*, se produjeron modelos experimentales de la enfermedad en diversos animales, se aclararon distintos aspectos fisiopatogénicos; inmunopatogénicos vinculados a la desnervación, y a la influencia de la patología microcirculatoria, las modalidades de la destrucción del sistema cardíaco, la presencia de lesiones cerebrales y sus secuelas.

Mientras, se experimentaba con los nuevos fármacos tripanocidas y se ensayaba con los insecticidas para la profilaxis en las viviendas.

La enfermedad de Chagas en los Estados Unidos tiene poca importancia epidemiológica pero a pesar de esto se han encontrado casos en humanos.

En 1909 y 1916 en Brasil se tenían cerca de 80 publicaciones de las cuales al menos 31 las realizó Chagas. En la actualidad se tienen más de 6000 publicaciones acerca del *Trypanosoma cruzi* de donde aproximadamente 5,500 son producto de las investigaciones realizadas desde 1927 en adelante (Castagnino, 1980).

En México, Mazzotti y colaboradores desde 1936, verificaron la presencia de hospederos silvestres y de triatomos transmisores, señalando también casos de la enfermedad en humanos. Así en 1940, Mazzotti describe los primeros dos casos de tripanosomiasis Americana. Hasta 1980, en la revisión de Tay y colaboradores, se incluyen 148 casos de tripanosomiasis Americana reconocidos en la República Mexicana, en su mayoría como enfermedad temprana parasitémica y sólo unos pocos con miocardiopatía congestiva crónica (Castagnino, 1980; Reyes, 1983; Salazar, 1984).

CAPITULO 2

CLASIFICACION TAXONOMICA DE *Trypanosoma cruzi*

La clasificación de los tripanosomas ha sido muy difícil desde el punto de vista puramente zoológico (no existen ejemplares fósiles), morfológico, estructural, genético y evolutivo, debido a las variaciones intraespecíficas y similitudes interespecíficas, ya que existen variantes de acuerdo al hospedero y el medio, para su clasificación se ha recurrido al criterio de Hoare (1957), que distingue, en el género *Trypanosoma* a dos subgrupos.

STERCORARIA: Tripanosomas que evolucionan dentro del tubo digestivo del vector invertebrado y cuya transmisión se produce a través del contacto cutáneo (mucosa del hospedero vertebrado, con heces cargadas de parásitos. Se caracterizan por cinetoplasto voluminoso y por multiplicarse en el vertebrado en forma discontinua, bajo formas de amastigote o epimastigote. En este grupo esta incluido el *Trypanosoma cruzi*.

SALIVARIA: Tripanosomas cuyo desarrollo se lleva a cabo en la porción cefálica del vector la transmisión es por inoculaciones inyectadas del parásito en las glándulas salivales o por introducción mecánica de parásitos que contaminan todo el aparato bucal del agente picador. La reproducción en el vertebrado se continúa en el estado tripomastigote. Se incluyen en este grupo a *Trypanosoma brucei* con sus variedades *gambiense* y *rhodesiense*, agentes etiológicos de la tripanosomiasis africana o enfermedad del sueño (Castagnino, 1980).

La clasificación de *Trypanosoma cruzi* esta basada en la propuesta por el Comité de Sistemáticos y Evolución de la Sociedad de Protozoólogos publicada por Levine y colaboradores en 1980, modificación de la clasificación de Honig Berg y colaboradores en 1964.

<i>Reino</i>	<i>Animalia.</i>
<i>Subreino</i>	<i>Sarcomastigophora</i> (organismos de una sola célula que efectuan todas las funciones esenciales de la vida).
<i>Subphylum</i>	<i>Mastigophora.</i>
<i>Clase</i>	<i>Zoomastigophora.</i>
<i>Orden</i>	<i>Kinetoplastida</i> (de 1 a 4 flagelos y un organelo accesorio que contiene DNA, el cinetoplasto autorreplicable con una mitocondrfa única adosada al mismo y un flagelo con cuerpos basales o sin ellos).
<i>Suborden</i>	<i>Tripanosomatina.</i>
<i>Familia</i>	<i>Tripanosomatidae.</i>
<i>Género</i>	<i>Trypanosoma</i> (compuesto en su mayoría por parásitos que evolucionan en dos hospederos, uno de los cuales es invertebrado, habitualmente un insecto, que actúa de vector en el cual prolifera y en otro, un hospedero vertebrado, generalmente uno o más mamíferos).
<i>Subgénero</i>	<i>Schizotrypanum</i> (<i>Trypanosoma cruzi</i> , por sus características biológico reproductivas, es ubicado en este subgénero, designación creada por Carlos Chagas en 1909, por lo que su designación completa es <i>Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi.</i>
<i>Especie</i>	<i>cruzi.</i>

(Castagnino, 1980; Kreier, 1977; Marcuschamer, 1978; Soulsby, 1988; Tay, 1982)..

CAPITULO 3

MORFOLOGIA DE *Trypanosoma cruzi*

T*rypanosoma cruzi*, presenta variaciones morfológicas, fisiológicas, ecológicas y patogénicas, lo que ha permitido identificar cepas diversas ; por lo que se ha propuesto considerarlo como "un complejo *cruzi*". En sus distintos hospederos y medios de cultivo, *Trypanosoma cruzi* pasa por diferentes formas, las que han sido designadas según la nomenclatura de Hoare y Wallace la cual ha sido adoptada universalmente.

AMASTIGOTE: Denominada forma leishmanoide de Wenyon, Leishman-Donovan, etc., es un elemento circular, ovalado con un extremo anguloso. Es el más pequeño de los estados morfológicos del parásito, cuerpo aflagelado que mide de 1.5 a 5.0 micrómetros (μm), en su mayor diámetro. En su interior se localiza un núcleo esférico vesicular y un cuerpo parabasal en forma de bastoncillo, muy cerca de éste se encuentra un blefaroplasto puntiforme que junto con el cuerpo parabasal constituye el cinetoplasto. Ocasionalmente con el microscopio electrónico se observa una fibrilla, el rizoplasto, que se extiende del blefaroplasto a la periferia del parásito. Es la forma de multiplicación del parásito en el interior de las células del mamífero.

EPIMASTIGOTE: Corresponde a la forma criticidal de la nomenclatura clásica. Tiene un aspecto fusiforme, de unos $20\mu\text{m}$ de largo. El cinetoplasto, con su cuerpo basal muy prominente, y el blefaroplasto menos sobresaliente, situado muy cerca y anteriormente al núcleo. El flagelo que se origina del blefaroplasto sale y se continúa formando el borde libre de una pequeña membrana ondulante que se extiende hasta la extremidad anterior del parásito, donde se convierte en flagelo libre. Para el *Trypanosoma cruzi* es la forma preponderante de multiplicación en el intestino de las vinchucas y en los tejidos de los mamíferos. Además, es la forma predominante en los cultivos en medios clásicos, y se le observa en la transición intracelular de amastigotes a tripomastigotes en los tejidos de los hospedadores mamíferos.

TRIPOMASTIGOTE: Está representado por una fase metacíclica y otra madura. La forma metacíclica es el tripanosoma joven e infectante que se desarrolla sólo en el insecto vector. Representa la culminación del estadio reproductivo de epimastigote que no es infectante para el mamífero. Cuando el tripanosoma metacíclico se encuentra en las glándulas salivales del insecto, se dice que está en una estación anterior; que cuando se desarrolla en el intestino y sale en las heces se usa el término estación posterior. El tripanosoma metacíclico es cuerpo corto y robusto a diferencia del tripanosoma maduro que es más largo y delgado. El tripomastigote es de aspecto fusiforme, de unos 20 μm de largo, se observan gránulos de volutina (material nutritivo de reserva) esparcidos en el citoplasma, con un núcleo central vesiculoso. El cinetoplasto está situado cerca de la extremidad posterior y consta de un cuerpo parabasal oval o alargado y del blefaroplasto que casi nunca se distingue. El flagelo sale después de un recorrido en el citoplasma y continúa formando una membrana ondulante, la cual queda libre en la extremidad anterior. El tripomastigote (Hoare y Wallace, 1966) corresponde a la forma tripanosómica de Wenyon (1926). Se encuentra en la sangre de mamíferos e intestino posterior de triatominos. No se multiplica pero constituye la forma infectante para mamíferos y triatomas, en éstas poseen actividad invasora transvascular e intracelular. En los mamíferos, es el diseminador de la infección por vía sanguínea. Los tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi* se han encontrado en dos formas:

a).- Anchos; de protoplasma voluminoso y denso, frecuentemente vacuolado. Las formas sanguíneas son más abundantes y de más larga vida. Son triatomófilas, se adaptan rápidamente y se reproducen en el tracto entérico de las vinchucas cuando estas succionan sangre de un hospedero infectado.

b).- Delgados; de citoplasma afilado, núcleo comprimido y citoplasma homogéneo, menos abundante en la sangre de mamíferos infectados, no hematófilos, sino histoinvasores. Predominan en los primeros días de invasión y en brotes de reagudización (etapa en la que hay liberación de tripomastigotes juveniles al romperse los nidos de amastigotes). No son triatomófilas, pues no se adaptan ni reproducen en el tracto entérico de las vinchucas, aunque en el intestino terminal de éstas aparecen las formas infectantes, que son tripomastigotes delgados similares, pero citoquímicamente no idénticos a los tripomastigotes delgados.

PROMASTIGOTE: Fase presente en el insecto y en cultivos pero no en el hombre. Es alargado y afilado terminado en punta, con un núcleo vesicular colocado más o menos centralmente. Un flagelo anterior en un cinetoplasto bien desarrollado, situado cerca de la extremidad anterior del cuerpo. En algunos especímenes pueden verse los componentes del cinetoplasto, cuerpo parabasal y blefaroplasto del cual se origina el flagelo. No hay membrana ondulante. En la figura 1 se muestran las diferentes fases morfológicas de *Trypanosoma cruzi*.

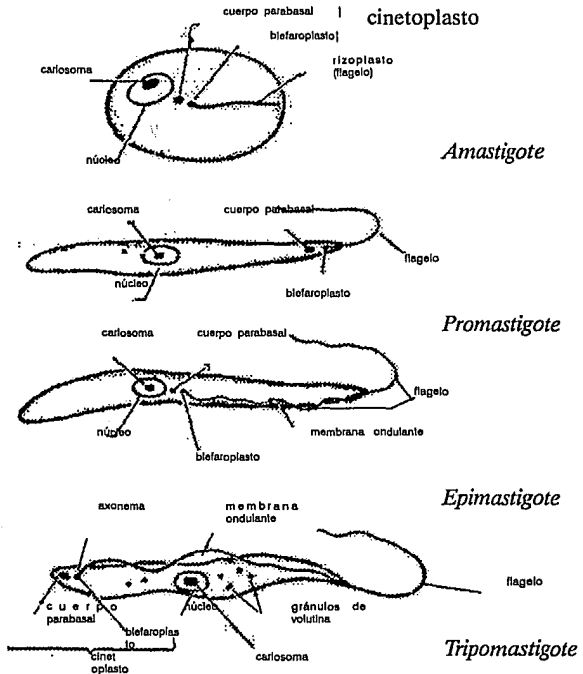


figura 1: Fases morfológicas de *Trypanosoma cruzi*

MULTIPLICACION La multiplicación de *Trypanosoma cruzi* se realiza por fisión binaria longitudinal. La división del blefaroplasto, el cuerpo parabasal y el núcleo precede a la división del citoplasma. El flagelo cuando existe, no se divide; según adelanta la división del blefaroplasto, rápidamente se forma un nuevo flagelo, persistiendo también el anterior. Con la división del citoplasma, se producen dos organismos flagelados. (Biagi, 1976; Carrada, 1983; Colonel, 1946; Kreier, 1977; Sierra, 1982; Tay-Lara, 1982).

CAPITULO 4

CICLO BIOLÓGICO DE *Trypanosoma cruzi*

El ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi* comprende dos fases.

- a).- Una en el hospedero vertebrado.
- b).- Otra en hospedero invertebrado.

FASE EN EL HOSPEDERO VERTEBRADO: La mayoría de las infecciones humanas, son una resultante del depósito del excremento semilíquido (mezcla de orina y heces) de chinches infectadas.

Los lugares más comunmente inoculados son a través de una abrasión en la piel o a través de una membrana mucosa intacta tal como el ángulo palpebral externo, alrededor de ventanas nasales, alrededor de labios y conjuntiva. Al picar el redúvido secreta histamina, la cual provoca vasodilatación, quimiotaxis, y aumento de la permeabilidad produciendo una lesión papulo-edematosa-pruriginosa, favoreciéndose así la penetración de tripanosomas metacíclicos (1).

En el humano, invaden histiocitos del corión de la piel y células adiposas del tejido subcutáneo. Al introducirse a las células pierden su flagelo y se redondean transformándose en amastigotes (2), se reproducen por fisión binaria (3), rompiendo células (4), e invadiendo leucocitos polimorfonucleares (PMN), linfocitos y monocitos, originando el chagoma. Los amastigotes liberados por la destrucción de células retículoendoteliales (5) pueden transportarse a través de vasos sanguíneos y linfáticos llegando a nodos linfáticos axilares e inguinales, pulmón, hígado, médula ósea y nodos mesentéricos, multiplicándose en histiocitos y fibras musculares, en la neuroglía, microglía, células piramidales de la corteza cerebral, tiroides, suprarrenales, órganos sexuales y capilares como los plexos autonómicos del tubo digestivo con su consiguiente desarrollo.

En los tejidos de los órganos, el parásito se multiplica en forma de amastigote y solo cuando grandes cantidades escapan simultáneamente al romperse las células, pasan al torrente circulatorio, pudiendo encontrarlos temporalmente en sangre bajo la forma de tripomastigotes (6). Estos tienen

dos caminos, vuelven a parasitar células del sistema retículo endotelial (7), o al alimentarse un redúvido con sangre de humano o vertebrado parasitado (8), iniciándose la segunda parte del ciclo.

FASE EN EL HOSPEDERO INVERTEBRADO: Cuando el tripanosoma llega al intestino del redúvido se convierte en epimastigote de forma elíptica así como otros de forma completamente redondeada, después del quinto día se observan promastigotes, hasta el octavo día se encuentran los epimastigotes largos (9). Al cabo de 8 a 10 días aparecen en el recto pequeños tripanosomas metacíclicos (10), los cuales son infectantes para el hombre y los animales. Cuando el redúvido pica, este simultáneamente defeca,

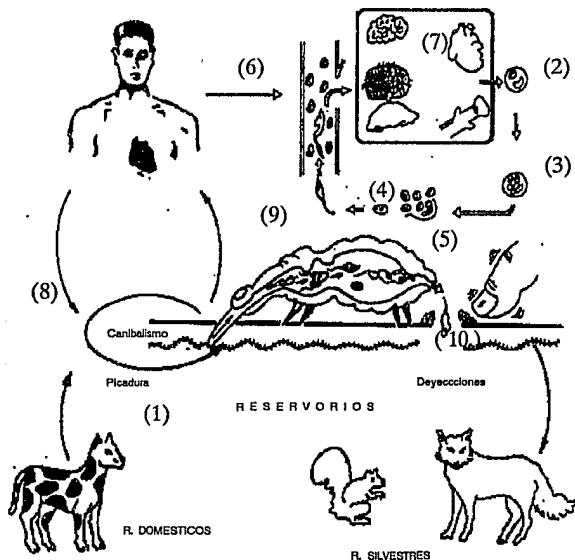


figura 2: Fases del ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi* en los huéspedes vertebrados e invertebrados.

eliminando así los tripanosomas e iniciando un nuevo ciclo (fig 2). (Biagi 1976; Carrada, 1983; Sierra, 1982; Tay-Lara, 1982).

Tay y colaboradores en 1980 realizaron un trabajo en el cual mediante fotografías y figuras presentan los distintos estadios morfológicos y cambios estructurales que sufre la cepa mexicana de *Trypanosoma cruzi* denominada "Tetitlán", la cual se aisló de las deyecciones de un ejemplar adulto de *Triatoma phyllosoma mazzotti*, que fué colectada dentro de una casa habitación del poblado de Tetitlán, estado de Guerrero. Se empleó como hospedero invertebrado a *Triatoma phyllosoma pallidipennis*, especie criada en el laboratorio, originalmente colectada en la población de Coatlán del Río, estado de Morelos, República Mexicana. Se resumen los cambios observados en *Trypanosoma cruzi* durante 33 días consecutivos, obtenidos de las distintas partes del tubo digestivo y en las heces del triatómimo.

En el primer día en el promesénteron se observan formas de epimastigotes en las que el cinetoplasto está agrandado y próximo al núcleo. Algunas de estas formas están en división. Otros parásitos adoptan una forma esférica. El núcleo ocupa hasta un tercio del cuerpo, gran cinetoplasto del que sale un flagelo pequeño que recorre la superficie del cuerpo formando una membrana ondulante pero sin salir de la membrana citoplásmica. En algunos se ve el flagelo libre.

Del segundo al octavo día las formas encontradas tanto en el promesénteron como en el postmesénteron son semejantes a las descritas en el primer día, sólo que los tripomastigotes van disminuyendo en número a nivel del promesénteron; en el postmesénteron ya para el octavo día no se encuentran; en cambio predominan los epimastigotes, también se encuentran en gran cantidad formas elípticas de epimastigotes así como otras completamente redondeadas, algunas con flagelo libre.

Después del quinto día se observan elementos con forma de promastigote ya que su cinetoplasto se encuentra en posición anterior al núcleo recorriendo el flagelo una pequeña porción del citoplasma sin formar membrana ondulante y saliendo libre una pequeña porción de él. Muchos de estos se observan formando conglomerados.

Hasta el octavo día se encontraron parásitos a nivel del proctodeo, correspondiendo a epimastigotes alargados y delgados, además de las formas anteriormente descritas. Durante estos primeros ocho días se vieron las diferentes formas de división binaria.

Del noveno al décimo día a nivel del promesénteron se encuentran escasos

epimastigotes. A nivel del postmesénteron y proctodeo se encuentran todas las formas ya descritas predominando los epimastigotes, muchos de ellos poseen dos núcleos, dos cinetoplastos y dos flagelos. Algunas formas presentan el cinetoplasto a punto de rebasar el núcleo en su desplazamiento hacia el extremo posterior para formar nuevamente tripomastigotes.

Del décimo tercer día en adelante ya no se encontraron formas a nivel del promesénteron. Aparecen tripomastigotes metacíclicos a nivel del postmesénteron, en los que el cinetoplasto se encuentra entre el núcleo y el extremo posterior; en otros se localiza ya en el extremo posterior. Se observan en el proctodeo a partir del décimo segundo día. Así mismo se distinguen formas redondas, unas con flagelo y otras sin él, estas toman la forma de amastigote; los promastigotes al igual que algunos epimastigotes se observan en conglomerados, los que, predominan sobre las demás en el postmesénteron, proctodeo y heces.

En el décimo octavo día se encuentran tripomastigotes elípticos.

Durante el vigesimotercer día las observaciones se dificultan debido a que el contenido intestinal es escaso en los diferentes niveles del tubo digestivo del insecto, aunque se siguen observando las formas ya descritas predominando los epimastigotes agrupados en rosetas y tripomastigotes metacíclicos, sobre todo en el proctodeo. Todas las formas se siguieron observando hasta el trigésimo día.

Gracias a este estudio realizado se pudo conocer que el protozooario pasa por diferentes formas transicionales intermedias entre las clásicas de amastigote, promastigote y tripomastigote. Durante los primeros nueve días no aparecen tripomastigotes en las heces de los triatóminos, pero una vez que aparecen permanecen en el triatómino por toda su vida, la cual puede ser de ocho meses o más dependiendo de la especie. Esto tiene importancia epidemiológica, ya que pueden permanecer con sus heces infectantes por varios meses y diseminar la parasitosis, además de la utilidad en las medidas de control o profilaxis tomando en cuenta las características particulares de cada cepa de *Trypanosoma cruzi*.

En la figura 3 se esquematizan los distintos estados morfológicos y cambios estructurales que sufre la cepa mexicana "Tetitlán" (Tay, 1980).

	PROMESENTERON	POSTMESENTERON	PROCTODEO	HECES
N-de días				
1° al 4°			—	—
5° al 10°				
11° al 14°	—			
15° al 16°	—			
17° al 18°	—			
19° al 30°	—			
31° al 33°	—			

figura 3: Evolución de *Trypanosoma cruzi* en el tubo digestivo del hospedero invertebrado.

CAPITULO 5

VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

ESTUDIOS INICIALES SOBRE EL VECTOR

Estos se realizaron de la siguiente manera; el *Triatoma infestans* fué descrito en 1773.

De Geer fué el primero que caracterizó este grupo de hemípteros, describiendo el *Cimex rubrofasciatus* proveniente de la India especie que en 1883, Laporte caracteriza como especie del género *Triatoma*, y posteriormente también caracterizada por Klug en Chile, en 1834 en Argentina, el estudio de los triatomíneos comienza en 1859 con Stal, quién describe el *Triatoma circummaculata*. En forma parecida describe al *Triatoma rubrovaria*. En 1861, Burmeister reconoce y tipifica por primera vez al *Triatoma infestans*, descrito originalmente en Chile y Argentina (Castagnino, 1980).

CLASIFICACION TAXONOMICA DEL AGENTE TRANSMISOR

<i>Reino</i>	<i>Animalia.</i>
<i>Phylum</i>	<i>Arthropoda.</i>
<i>Clase</i>	<i>Insecta.</i>
<i>Orden</i>	<i>Hemíptera</i> (media ala, constituido por unas 55,000 especies terrestres y acuáticas, poseen poderosa probóscide picadora, muchas de estas especies están constituidas por insectos predadores, otros son fitófagos, se alimentan de jugos vegetales, otro grupo son los hemípteros hematófagos vectores de enfermedades del hombre y animales.
<i>Suborden</i>	<i>Heteróptera</i> , el primer par de alas posee un segmento basal quitinoso y un apical membranoso.
<i>Grupo</i>	<i>Gymocerata</i> , hemípteros heterópteros con un par de antenas libres, de habitat terrestre, su trompa picadora es corta, constituida por tres segmentos a diferencia de los hemípteros no hematófagos en los que es más larga y consta de cuatro segmentos.
<i>Familia</i>	<i>Reduvidae</i> , constituida de unas 19 subfamilias de las más importantes <i>Triatominae</i> y <i>Cimicidae</i> .
<i>Subfamilia</i>	<i>Triatominae.</i>
<i>Superfamilia</i>	<i>Reduvidoidea.</i>
<i>Géneros</i>	Incluye varios géneros dentro de los más importantes; <i>Triatoma</i> , <i>Rhodnius</i> , <i>Panstrongylus</i> .

MORFOLOGIA DEL VECTOR

Son insectos que miden de 2 a 4 cm, aunque el tamaño y color varia según las especies, su cuerpo es largo y aplanado en sentido dorsoventral. Su cabeza, puede ser alargada, cilíndrica o cónica, aquí también se aprecia un cuello (figura 4).

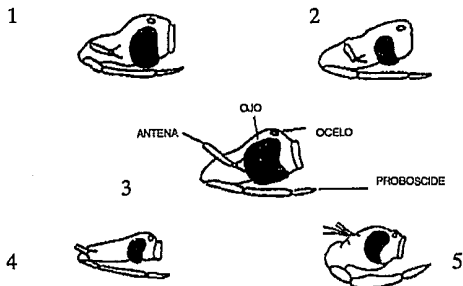


figura 4: Cabezas de : 1) *Triatoma protacta*, 2) *Triatoma rubida*, 3) *Panstrongylus megistus*, 4) *Rhodnius prolixus*, 5) *Melanolestes*.

Tienen ojos prominentes y redondeados además de un par de ocelos ubicados más atrás y por delante un par de antenas largas y finas contituidas de cuatro segmentos. La diferenciación entre los géneros *Rhodnius*, *Triatoma* y *Panstrongylus* es por la posición en que se encuentran sus antenas; en *Rhodnius*, estas nacen próximas al extremo anterior de la cabeza, en *Triatoma* estan en una posición intermedia, en *Panstrongylus* nacen inmediatamente por delante de los ojos (figura 5).

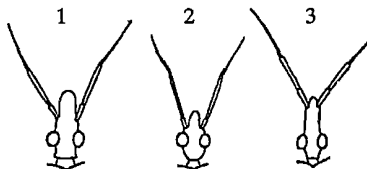


figura 5: Se ilustra la posición de las antenas, por medio de la cual se diferencian las triatomas. : 1) *Triatoma*, 2) *Panstrongylus*, 3) *Rhodnius*

Su probóscide es alargada con tres artejos, se encuentra flexionada bajo la cabeza durante el reposo y se extiende hacia adelante cuando el insecto pica. El tórax es firme y quitinoso, en el se distingue un segmento anterior (pronoto) trapezoidal dividido en lóbulo anterior y lóbulo posterior (escutelo) de forma triangular (figura 6).

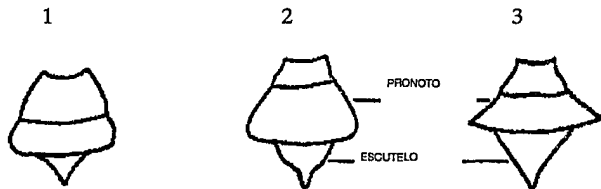


figura 6: Tórax de diversos géneros de triatomíneos . 1) *Melanolestes*, 2) *Triatoma*, 3) *Eratyrus*.

Del tórax nacen dos pares de alas bien desarrolladas; las anteriores gruesas y endurecidas en su porción basal y membranosas en su porción distal. Las alas posteriores son membranosas.

Aún cuando tienen alas su cuerpo es tan desproporcionadamente grande que en general los triatomíneos no vuelan; en México tenemos solamente dos especies que vuelan. Una en la altiplanicie, *Triatoma barberi* y otra en el Golfo de México, que es *Triatoma dimidiata*.

El abdomen es amplio y ensanchado más o menos aplanado en dirección dorsoventral, alrededor posee manchas que van del color rojo al amarillo según la especie. Este borde lateral oculta un pliegue que permite ampliar la capacidad del abdomen cuando el insecto se alimenta. Poseen patas alargadas cuyos tarsos tienen tres artejos y terminan en dos pequeñas uñas.

Los órganos bucales salen de la parte anterior de la cabeza y son: Labrum articulado; labium acanalado con tres segmentos; maxilas acanaladas, un par

que forman el tubo chupador, mandíbulas y dientes; hipofaringe de forma cónica (figura 7).

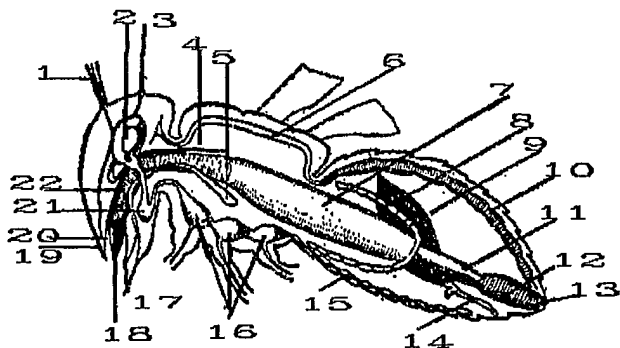


figura 7: Estructura Interna de un Insecto. 1)Antenas; 2)Ganglio supraesofágico; 3)Ocelo; 4)Esófago; 5)Glándula salival; 6)Aorta; 7)Intestino medio; 8)Gónada; 9)Túbulo de Malpighi; 10)Vaso pulsátil dorsal; 11)Intestino; 12)Recto; 13)Ano; 14)Conducto gonadal; 15)Ganglio del nervio abdominal; 16)Ganglio del nervio torácico; 17)Maxilar; 18)Mandíbulas; 19)Labro; 20)Boca; 21)Subesofágico; 22)Faringe.

El aparato digestivo esta constituido de: faringe, esófago, e intestino medio, el cual consta de una porción anterior en forma de saco y una porción posterior larga y tubular, un recto y cuatro tubos de Malpighi que se abren en el extremo anterior del recto.

Poseen dos pares de glándulas salivales con dos largos conductos que desembocan en otro par de glándulas más grandes de las que se origina otro conducto desembocado en una bomba salival. La saliva sale de aquí bajando al tubo maxilar por medio de la cual se deposita en la piel de la víctima; que en el caso de las chinches hociconas se cree que poseen un anticoagulante (figura 8).

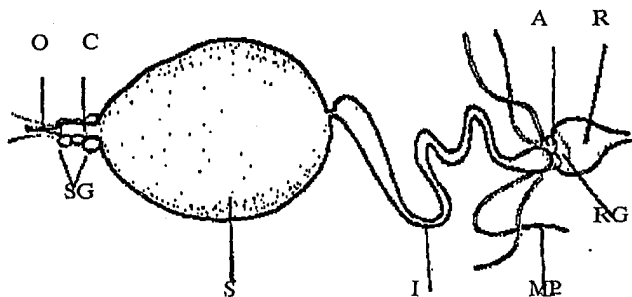


figura 8: Diagrama del tracto digestivo de *Triatoma infestans*. O)Esófago; C)Intestino medio cardíaco; A)Gran ampula; R)Recto; RG)Glándula rectal; MP)Tubo de Malpighi; I)Intestino; S)Estómago; SG)Glándulas salivales.

Aparato reproductor:

Masculino

Un par de testículos lobulados cada uno con un conducto deferente.
 Un par de glándulas accesorias ramificadas cada una con un depósito que se abre en la extremidad distal del conducto deferente. Una cámara colectora.
 Un pene. Un edeago curvo y quitinoso.

Femenino

Dos ovarios cada uno con siete ovariolas digitiformes. Un oviducto.
 Un receptáculo seminal. Un oviducto común.

Hay diecinueve géneros de triatominos en América. Para clasificarlos se toman ciertas características como: Lugar de inserción de las antenas, forma del prototórax, escutelo y vellosidad del cuerpo. Así *Reduviidae* (salvo *Triatominae*) presenta: Pico grueso y curvo, antenas insertadas delante de los ojos, en la parte superior de la cabeza la cual es relativamente corta.

CLAVE TAXONOMICA PARA LA CLASIFICACION DE HETEROPTEROS DE LA FAMILIA *Reduviidae*.

1a. Lomo parecido a una rueda dentada en el pronoto.

1b. Sin lomo dentado.

2a. Tórax constreñido en su región media o anterior a la misma, con color casi uniforme pardo oscuro.

2b. Tórax constreñido detrás de su región media.

3a. Alas y cuerpo negros o castaño oscuro.

Triatominae: Pico recto y fino, antenas insertas en los lados de la cabeza; alargada delante de los ojos; tórax constreñido en su región anterior o media; color blanco o pardo, manchas rojas o amarillas.

1a. Antenas insertadas cerca del ápice de la cabeza ..*Rhodnius*.

1b. Antenas insertadas delante de los ojos.

1c. Antenas insertadas en el centro, entre los ojos y ápice de la cabeza.

2a. Cuerpo revestido de largos pelos curvos..... *Panstrongylus*.

2b. Cuerpo casi lampiño *Panstrongylus*.

3a. Escutelo con larga espina puntiaguda en la parte posterior y el pronoto con los ángulos posteriores puntiagudos..... *Eratyrus*.

3b. Escutelo sin espina larga, ángulos del pronoto redondeados, cuerpo de 12 a 25 mm de longitud, aparece diversamente coloreado..*Triatoma* (figura9).

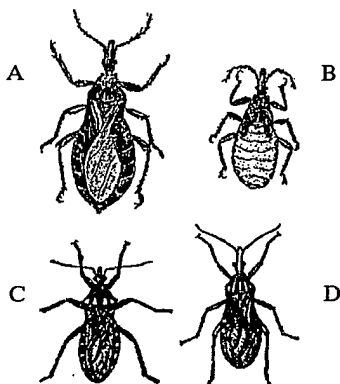


figura 9: A) y B): Adulto y ninfa de *Triatoma protacta*; C) *Panstrongylus megistus*; D) *Rhodnius prolixus*.

CICLO BIOLÓGICO DEL VECTOR

La hembra fecundada deposita sus huevos en diferentes lugares (telas, plumas de aves, hojas de los árboles etc.) dependiendo de la especie. Son lisos, blandos, blancos o rosado-amarillentos con aspecto de barril y en cantidades variables según la especie (de 12 hasta 300); la eclosión se efectúa de diez a treinta días después de la postura, su desarrollo es por metamorfosis incompleta pasando por varios estadios ninfales de cuatro a seis hasta alcanzar la etapa adulta. Ciclo cuya duración es lento, requiriendo varios meses para completarse y depende de la especie, temperatura, humedad ambiental así como de la provisión de alimento. Las condiciones óptimas naturales para el desarrollo se encuentran especialmente en zonas cálidas secas, con temperaturas que oscilan entre los 15 °C y 33 °C.

El insecto joven realiza su primera ingestión de sangre a los cinco días, sufriendo una larga metamorfosis de más de un año, con ingestión de sangre en cada una de ellas. Hembras y machos en todas sus fases son hematófagos,

así que la transmisión se lleva a cabo por ambos sexos y a lo largo de toda su vida, siendo esta de aproximadamente dos años (figura 10) (Atfas, 1979; Goncalves, 1987; Tay-Lara, 1982).

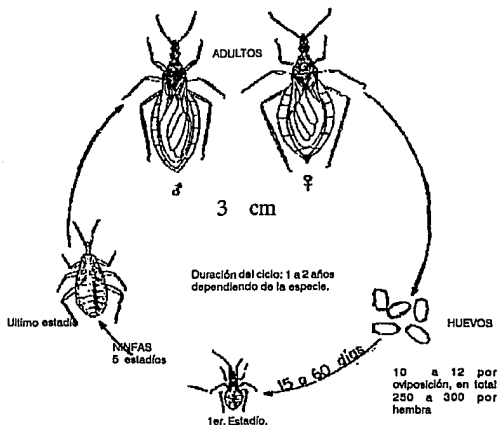


figura 10: Ciclo biológico de *Triatoma* sp.

SINONIMIAS

Estos insectos reciben diferentes denominaciones de acuerdo a el lugar donde se localizen. En los países sudamericanos de habla española el nombre más generalizado es el de "vinchuca", vocablo proveniente de la palabra quechua "huijchukuy" que significa el que se deja caer, esta denominación describe uno de los hábitos nocturnos más característicos del invertebrado durante sus incursiones hematofágicas, al precipitarse sobre su víctima. Otras denominaciones en América son; Pick (en lengua maya, lo que indica que se les conocía desde antes de la llegada de los españoles), bedrodum en zapoteco (Oaxaca), ahorcadora, pedorros, chinche voladoras, chinche asesina, pitos, turicatas, chinchona, chinche picuda, chinche del

monte, chupasangre, talaje, chinche hocicona, chinche de compostela, chinche besucona, chincharro bandolita, chipo, chirimacha, quipito, chepito.

En Brasil se le llama barbeiro, en Paraguay "chinha yurú-pucú" (chinche de pico largo), así como guazú. En los Estados Unidos de Norteamérica recibe el nombre de kissing bugs y cone nose bugs.

Es importante tener en cuenta, las diferentes sinonimias para llevar a cabo programas de educación para la salud, a fin de que la gente del lugar pueda comprenderlos (Borda, 1981; Castagnino, 1980; Cunningham, 1980; Goncalves, 1987; Leon, 1978; Salazar, 1982; Schenone, 1985; Tay-Lara, 1982).

HABITOS Y COSTUMBRES DE LOS TRIATOMINOS

Las especies silvestres de triatominos, se asocian con gran diversidad de animales, algunos se han convertido poco o totalmente domiciliarios (aquellos que por lo general se les encuentra en casa-habitación). Por lo cual se consideran importantes transmisores de la enfermedad de Chagas.

El comportamiento de adaptación a la casa-habitación de estos triatominos empezó desde el momento en que el hombre compartía las cavernas con los murciélagos y las golondrinas, durante la época glacial, y desde entonces se han vuelto domésticos. Otros factores que propiciaron el hecho de que los triatominos se convirtieran en domiciliarios son:

- 1). Expropiación irracional de las riquezas naturales por parte de los colonizadores, con ruptura posterior de el equilibrio ecológico, por ejemplo el desmonte (devastación de la floresta) para la construcción de nuevas ciudades.

- 2). El surgimiento de un nuevo tipo de habitación precaria desconocida para los nativos y con materiales (barro) que facilitaron la anidación de los insectos.

La enfermedad de Chagas fué primitivamente una enzootia silvestre pura, y ha pasado a convertirse en una zoonosis.

Las diferentes especies vectoras transmitiran al *Trypanosoma cruzi* dependiendo de sus características biológicas y de comportamiento, por lo que se consideran vectores potencialmente infectantes en todos sus estadíos

de vida ya que ninfas y adultos son hematófagos, pican zonas descubiertas de la piel del hombre y otros vertebrados, eliminando sus heces con tripomastigotes metacíclicos que penetran por el sitio de la picadura o por mucosas (Zárate, 1984).

Las características de comportamiento estudiadas son las preferencias alimenticias o del hospedero, por medio de los triatominos en donde se ha visto que se pueden alimentar de cualquier tipo de hospedero (incluyendo reptiles y anfibios) pero algunas especies tienen tropismos por ejemplo el *Cavernicola pilosa* la cual sólo se ha relacionado con murciélagos (Zeledón, 1976) pero no con ratas, pájaros o humanos. En *Panstrongylus geniculatus* con armadillos, el *Triatoma protacta* con ratas del género *Neotoma* y especies del género *Psammolestes* con pájaros (Ryckman, 1962; Carcavallo y col. 1965; Minter, 1976; Zeledón, 1976). En especies domiciliarias se ha visto preferencia por cualquier tipo de hospedero, aumentando de esta manera su potencialidad de vector ya que gran variedad de reservorios, incluyendo al hombre, pueden ser la fuente de alimento durante la vida de una chinche. La identificación de sangre en cada uno de los vectores ha permitido ver el patrón de movimiento en relación a la disponibilidad de hospederos, así como también que hospedero está recibiendo un contacto primario con el vector.

Triatoma infestans: Es importante por su adaptación al ámbito humano, siendo la más domiciliaria de los triatominos. Tiene su origen a nivel silvestre por encontrarse tanto en la vivienda humana así como en el hábitat silvestre. Se encuentra en regiones de clima árido y caliente, donde constituye un habitat casi obligado de las zonas rurales, se refugia en la profundidad de las grietas de paredes, principalmente las construidas de adobe sin enjarre o con ramas cubiertas por una delgada capa de barro que se deteriora fácilmente por los efectos del clima así como en lugares habitados por cuyos, gallinas, palomas etc.

Entre más rústica es la vivienda, mayor hacinamiento de gente y animales domésticos, mayores serán las posibilidades de infestación con triatominos. Es un insecto nocturno que abandona su refugio cuando hay tranquilidad suficiente para atacar a las personas y animales mientras estos duermen. En el día se encuentran en la profundidad de grietas, detrás de cuadros, papeles, muebles o ropa (figura 11).

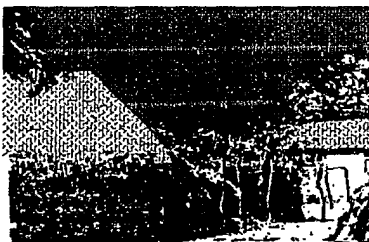


figura 11: Tipo de habitación rural mexicana, ideal para el criadero de Triatominos.

El transporte de este triatominos es por medio de personas habitantes de zonas endémicas al trasladarse a otras regiones. Pueden entonces ser vehiculizados en equipajes, baúles, canastos, ropa y otros enseres mobiliarios, por lo que se ha encontrado en carros de ferrocarril. La forma en que los triatominos localizan su alimento es compleja y poco estudiada. Lo que se conoce son ciertos mecanismos de atracción de los triatominos con respecto a sus hospederos como son:

a). El calor es un estímulo suficiente para despertar una respuesta a un hospedero cercano.

b). El dióxido de carbono tiene la capacidad de despertar un "estado de alarma" en triatominos.

c). Presencia de feromonas de congregación en materia fecal fresca en ninfas de *Triatoma infestans* así como en *Rhodnius prolixus*. Esta feromona atrae ninfas no alimentadas e impide la locomoción de las ya alimentadas. Como estas dos especies defecan durante e inmediatamente después de alimentarse del hospedero en donde depositan esta feromona en materia fecal, teniendo como función atraer chinches adicionales al sitio de alimentación asegurando además que las ya alimentadas permanezcan próximas y continuen su proceso de defecación aumentando de esta manera la posibilidad de que el hospedero sufra la infección.

Triatoma infestans es altamente agresiva debido a la necesidad de encontrar alimento en una área relativamente grande. Las especies con áreas limitadas como nidos de pájaros y roedores son tímidas y fácilmente se asustan, pero especies silvestres que viven en lugares secos como el *Dipetalogaster máxima* encontrada en zonas rocosas de Baja California Sur, en donde hay pocos hospederos de los que se alimentan rápidamente, caminando incluso sobre las rocas a plena luz del día para obtener su alimento.

El canibalismo es otro fenómeno de importancia en los triatominos observado en condiciones de hacinamiento, en donde chinches recién alimentadas se mezclan con chinches hambrientas. Fenómeno dado durante la alimentación, ya que chinches que van llegando, en lugar de alimentarse del hospedero le roban sangre a chinches que se están alimentando. Fenómeno observado principalmente en especies agresivas. El *Dipetalogaster mexicana* se ha encontrado en cadenas de hasta cuatro chinches alimentándose una de la otra (observaciones de laboratorio, según Zarate, datos no publicados). Con un solo individuo que se alimente basta para proveer alimento a otros más, ayudando a la sobrevivencia de la especie.

Para autopreservación los triatominos han desarrollado diferentes comportamientos como es el de permanecer inmóviles dentro de grietas y ranuras por largos períodos. Su aplanamiento dorsoventral, con excepción

del volúmen que adquieren después de alimentarse, contribuye altamente a esta habilidad. Chinchas que son fácilmente visibles cuando se les expone o cuando se mueven desaparecen completamente a plena luz en una hendidura superficial.

Triatoma infestans es una de las especies que tiene la capacidad de fingirse muerta aún cuando esta sea estimulada, esto ha sido comprobado a nivel de laboratorio con el uso de insecticidas, observando que esta permanece inmóvil por períodos prolongados. Este mecanismo también actúa como protección contra predadores, ya que gallinas, lagartijas, roedores y arañas atacan solo lo que se mueve.

La mayoría de las especies cuando son molestadas, emiten un fuerte olor, producido en las glándulas metatorácicas. Esta secreción ha sido identificada como ácido isobutírico, el cual se cree sea una secreción de defensa en vista de que en grandes dosis es corrosivo y con olor desagradable. Barret (1976) sugirió que esta secreción puede ser una feromona de alarma.

Algunas especies de triatomos estridulan, frotando la punta de su probóscide en una serie de pequeñas arrugas en una ranura prototorácica. La mayoría tiene bien desarrolladas estas ranuras, pero todas producen ruido. Solo los adultos de *Dipetalogaster maxima*, estridulan cuando son molestados, haciendo ruido audible, el cual en algunas especies tiene componentes ultrasónicos, que pudieran ser oídos únicamente por otras chinchas. Sin embargo hasta ahora no se ha podido encontrar algún órgano auditivo en los triatomos, y el propósito de la estridulación no se ha identificado, aparte de ser un posible mecanismo de defensa.

Los huevos de *Triatoma infestans*, *Triatoma dimidiata*, *Dipetalogaster maxima*, y el complejo de *Triatoma phyllosoma*, son puestos separadamente y estos no presentan adhesividad a algún objeto, estos permanecen en ranuras o caen al suelo, en donde ninfas pequeñas pueden obtener un camuflaje inmediato con tierra, después de la eclosión. No hay una transmisión pasiva con los huevos ya que permanecen en ranuras y caen al suelo en donde sufren un camuflaje inmediato.

Los hábitos de defecación y alimentación de los triatomos son uno de los aspectos más importantes dentro de su comportamiento ya que representan

el único contacto primario entre el vector y hospedero y la vía más directa de transmisión de *Trypanosoma cruzi* entre ellos.

Triatoma infestans tiene un número elevado de defecaciones durante su alimentación así como después de ella, propiciando tener un potencial infectante mayor.

Triatoma barberi; especie estudiada en México, encontrada a nivel domiciliario, distribuida en doce estados del país, en Oaxaca tiene una prevalencia de infección con *Trypanosoma cruzi* del 72% encontrándose que el 70% de las chinches se alimentan de roedores peridomésticos que viven en los techos de teja (permiten la existencia de nidos por la construcción especial que tienen). por lo que se dice que los ratones son los animales más infectados con *Trypanosoma cruzi* (determinado por serología y xenodiagnóstico).

Triatoma barberi es móvil, desplazándose libremente aún en estado ninfal, del interior al exterior de las casas; por lo que en ella se han encontrado alimentaciones mixtas de dos hasta seis hospederos representando un 48%.

Las ingestiones de sangre se han identificado serológicamente hasta tres meses después de la alimentación, y hasta cuatro meses y medio cuando es seguida de una segunda alimentación.

Se ha comprobado que *Triatoma barberi* solo se alimenta cuando se encuentra apoyado en el piso o paredes y retrocede inmediatamente después de terminar o cuando es perturbado, factor que reduce la contaminación en el hospedero, teniendo así una baja prevalencia de infecciones en el hombre. Los ratones adquieren la infección más por la ingestión de las chinches, que por medio de las heces.

El canibalismo de *Triatoma barberi*, solo se ha manifestado con la toma de hemolinfa de otra chinche. En *Triatoma sanguisuga*, han ocurrido mudas satisfactorias en ninfas alimentadas solo con hemolinfa. Aunque se ha observado que algunas especies se alimentan de otros insectos, esto es quizá debido a ayunos prolongados en un medio ambiente con pocos hospederos a su alcance. Tiene una conducta predatoria, primitiva, característica de todos los grupos de la familia *Reduviidae*.

Triatoma barberi carece de técnicas de camuflaje, se encuentra por lo regular en techos o rendijas de paredes. Especie relacionada con *Triatoma protacta*, quién está asociada principalmente con nidos de roedores, en donde el camuflaje no tiene utilidad importante. Este es un mecanismo por el cual se puede tener un control con insecticidas tópicos. *Triatoma barberi* pone huevos sobre algodón, telas o plumas en lugar de hacerlo en madera, papel o vidrio. Como los huevos tienen una sustancia pegajosa, por lo que pueden ser transportados en lugares suaves y fibrosos (aún en pájaros).

En el caso de *Triatoma sordida* y *Triatoma dimidiata*, ninfas como adultos son transportadas a las casas por medio de la leña, sin embargo *Triatoma sordida* ha sido encontrada entre plumas de gorriones.

Los triatomínos han desarrollado una capacidad de ayuno grande. *Triatoma barberi* a una temperatura de 28 °C, su longevidad varía según el estadio y el número previo de alimentaciones, así con una comida la vida de ninfas del primero y quinto estadio oscila entre dos y cinco meses, así con dos alimentaciones la longevidad se duplicó en ninfas pequeñas y aumenta en ninfas del cuarto y quinto estadio. Los adultos sobreviven menor tiempo que las ninfas, debido quizás al gasto de energía usada durante su reproducción. En el caso de *Triatoma mazzotti*, especie que sobrevive hasta un año con una sola alimentación, esto es en ninfas del cuarto y quinto estadio y sobrevivencia de ocho meses en adultos vírgenes.

En cuanto a los hábitos alimenticios y de defecación de *Triatoma barberi* se ha visto que el tiempo promedio de alimentación varía en diez minutos (rango de 4 a 30 min) en el primer estadio, a veinticuatro minutos en ninfas del quinto estadio (rango de 10 a 69 min). El tiempo de contacto entre el vector y el hospedero es epidemiológicamente importante ya que entre mayor sea el tiempo de alimentación, mayor será el riesgo de que el vector adquiera la infección de un hospedero portador de una enfermedad crónica. El 13% de estas chinches defecan durante su alimentación y solo el 24% inmediatamente después. Este comportamiento aunado a su gran timidez, reduce la posibilidad de contacto con materia fecal infectante. En el *Triatoma mazzotti*, la defecación ocurre en un 90% de las chinches durante o inmediatamente después de la alimentación representando un riesgo mayor para el hombre en las áreas donde se ha domiciliado esta.

La frecuencia de defecación de todos los estadios de *Triatoma barberi* es extremadamente baja, no alcanzándose el promedio de una defecación sino una hora después de la alimentación, el promedio mayor ocurrió entre una y cinco horas después. Debido al lugar en donde se encuentra *Triatoma barberi*, sus defecaciones pueden caer sobre las personas o en la comida. Contaminaciones de este tipo también se han observado por *Rhodnius prolixus* y con *Triatoma infestans*. Por lo que el riesgo de contaminación es grande en una casa infestada de chinches aún en el caso de especies poco defecadoras como es el caso de *Triatoma barberi* (los machos defecan menos que las hembras).

La capacidad vectorial, en relación con el contacto y la defecación, varía mucho no solo entre diferentes especies sino también entre diferentes estadios evolutivos de los triatomíneos. Estudios comparativos nos describen que cada especie posee diferentes adaptaciones a su medio ambiente. Sólo con estudios por especie se obtendrá una dinámica de transmisión para cada área.

Rhodnius prolixus; vector importante desde México hasta Venezuela, en este último predomina en áreas situadas entre los 400 y 1200 m, con temperatura, precipitaciones y humedad de tipo tropical. También se ha encontrado en zonas xerófilas y áreas subtropicales hasta 1500 m sobre el nivel del mar.

En la vivienda humana se alimenta por lo regular de sangre de mamíferos y reservorios de *Trypanosoma cruzi*; este triatomíneo se ha encontrado infectado con *Trypanosoma cruzi* tanto a nivel domiciliario como silvestre, el fenómeno de domiciliación de los triatomíneos a partir de un habitat selvático es el resultado de una mutación genética, adaptación posterior a la vivienda humana. Aunque ciertos autores dicen que se trata de una adaptación a nuevas condiciones a la casa-habitación y no de una mutación o selección de una especie silvestre a doméstica, sólo se trata de una adaptación del insecto a un ambiente favorable. Este triatomíneo es nocturno hematofágico, ataca al hombre y animales domésticos. Su ciclo es más corto que el de *Triatoma infestans* ya que tarda de 90 a 120 días en completarse.

Las ninfas están adaptadas para picar a las 24 hr de nacidas; los adultos tienen una sobrevivencia de 6 a 8 meses. El habitat preferente de este triatomíneo

lo constituyen algunas especies de palmeras y nidos de aves, la colonización pasiva es frecuente ya que las hojas de palmera son usadas para hacer techos, además de que ninfas de *Rhodnius prolixus* tienen una gran fuerza para adherirse a objetos resistiendo fuertes sacudidas. Las hembras de *Rhodnius prolixus* pegan sus huevos en cualquier tipo de superficie aun sobre si mismas, ya sea en forma individual o en grandes masas. El cemento es tan fuerte que es más fácil romperlos que despegarlos, tanto huevos como ninfas se han encontrado entre plumas de pájaros migratorios.

Rhodnius prolixus, *Triatoma infestans* y *Triatoma dimidiata*, tienen un potencial vectorial mayor que *Triatoma barberi* por tener un número elevado de defecaciones durante y después de alimentarse.

Panstrongylus geniculatus; vector silvestre que transmiten los parásitos a los mamíferos del área peridoméstica (ratas, ratones, murciélagos etc.), infectándose *Rhodnius prolixus* y *Triatoma maculata*. Aunque el mecanismo más simple es que los triatominos invaden la vivienda por diferentes vías y transmiten directamente la enfermedad al hombre y animales. *Panstrongylus geniculatus* se encuentra principalmente en madrigueras de armadillos, mostrando preferencia por sangre de mamíferos, infectándose así con *Trypanosoma cruzi* en las cuevas o refugios de ellos. Se considera un vector importante a nivel selvático, pero no doméstico. Aunque no se descarta la posibilidad de que este triatomino pueda llegar a la vivienda humana por fototropismo.

Panstrongylus megistus; especie con la que Chagas inicio sus estudios sobre la enfermedad de que lleva su nombre. No es domiciliaria, su hábitat son los árboles o madrigueras de animales silvestres.

Triatoma maculata; vector secundario en la transmisión de la enfermedad de Chagas, se localiza en los anexos de las casas en donde se alimenta de las aves que no son reservorios de *Trypanosoma cruzi*, sin embargo cuando invade la vivienda se alimenta de mamíferos infectados con *Trypanosoma cruzi*. (Movel, 1976; Pinchin, 1982; Zarate, 1984).

CAPITULO 6

DISTRIBUCION GEOGRAFICA

La tripanosomiasis americana es una parasitosis adquirida y determinada por la relación entre mamíferos silvestres, reducidos y el hombre. Zoonosis adaptada al microclima proporcionado por el hombre y su vivienda

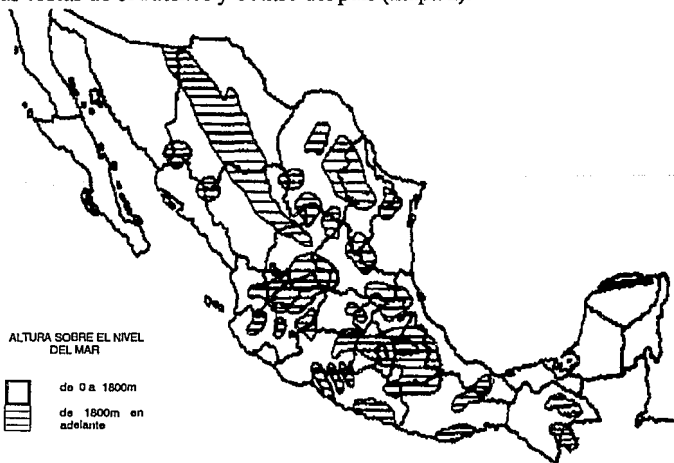
Este problema se extiende prácticamente por todo el Continente Americano, con excepción de Canadá y Alaska. Abarca el hemisferio occidental, principalmente zonas cálidas y húmedas, países tropicales y subtropicales de América Latina, áreas templadas del Continente Americano; Sur de Estados Unidos de Norteamérica (mapa 1).



mapa 1: Incidencia de la enfermedad de Chagas en Latinoamérica.

Los triatominos transmisores de la infección se encuentran ampliamente distribuidos por todo el continente; desde el paralelo 43° al Norte de Estados Unidos de América, Sur e incluso el estado de Illinois paralelo 40° 51' latitud norte, hasta el paralelo 49° latitud Sur; esto es hasta la Argentina. La magnitud con que se reporta el padecimiento en los distintos países de América es variable, dependiendo de diferentes factores tales como: Falta de encuestas epidemiológicas, desconocimiento del problema, prevalencia del padecimiento en zonas rurales o suburbanas en donde los servicios médicos y nuevas técnicas inmunodiagnósticas no llegan y por lo tanto los casos no son detectados, factores relacionados con las cepas de *Trypanosoma cruzi* (virulencia, variabilidad en la patogenicidad etc.).

En la República Mexicana se consideran como probables áreas endémicas aquellas hubicadas entre los 0 y 1800 m sobre el nivel del mar, dado que en estas zonas altitudinales se han encontrado altos índices de infección entre los triatominos; En el país hasta ahora no se han encontrado infecciones a alturas mayores. De acuerdo a lo anterior se puede decir que abarca las dos terceras partes de el territorio nacional, con tendencia a predominar hacia las costas de el Pacifico y Centro del país (mapa 2).

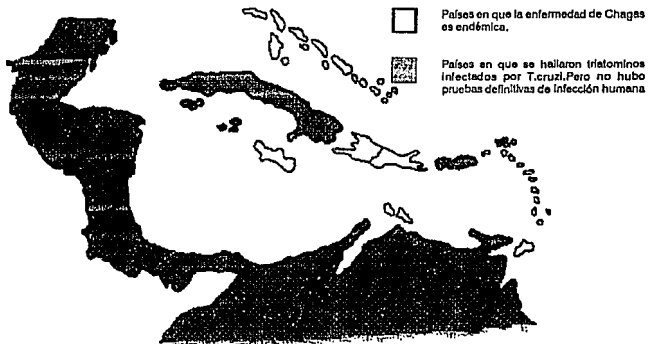


mapa 2: Distribución de acuerdo a la altura sobre el nivel del mar desde 0 a 1800m.

Para tener un conocimiento real acerca del problema se requiere de investigaciones de las zonas de dispersión de los triatomos, siendo algunos objetivos de trabajo de los investigadores relacionados con los factores ecológicos, hábitos domiciliarios y mecanismos de infección natural.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en 1960 calculo que existían 7,000,000 de personas infectadas por *Trypanosoma cruzi* y unos 35,000,000 de personas expuestas a la infección. En 1981 según cálculos de las Organizaciones Panamericana y Mundial de la Salud en Latinoamérica habían 24,000,000 de enfermos y 65,000,000 en riesgo (Biagi, 1976; Carrada, 1983; Marcuschamer, 1978; Pezzarossi, 1986; Reseña, 1984; Sierra, 1982; Suplemento, 1986; Tay, 1980; Tay-Lara, 1982; Velasco, 1986).

Desde 1960, hay informes sobre *Trypanosoma cruzi* en triatomos hematófagos, en animales y la presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en sueros humanos procedentes de: Antigua, Aruba, Bahamas, Cuba, Curazao, Granada, Guadalupe, Guyana Francesa, Haití, Islas Virgenes, Jamaica, Martinica, República Dominicana, Santa Cruz, San Vicente y Granadinas, Surinam y Trinidad así como Tobago. Belice se consideraba una excepción, pero en 1964 cuando Petana y Coura continuaron con los trabajos de Laison determinaron la presencia de *Triatoma dimidiata* (mapa 3). (Kreier, 1977; Petana, 1978; Reseña, 1984).



mapa 3: Distribución de la enfermedad de Chagas en el Caribe

De los países de América Latina en donde la prevalencia de infección es mayor se encuentran; Argentina, Brasil y Venezuela.

ARGENTINA: Tanto la enzoótia silvestre como la presencia de la enfermedad de Chagas se extiende por todo el territorio, incluye las zonas del país ubicadas por encima del paralelo situado a $44^{\circ} 45'$ de latitud Sur, abarcando aproximadamente un territorio de $1,946,000 \text{ km}^2$. La densidad de población del insecto no es uniforme, los trabajos epidemiológicos indican que se incluyen ocho provincias situadas tanto en el Centro y Norte del país donde se estima que hay unos 10,000,000 de personas expuestas a contraer la infección y 2,500,000 personas infectadas. La presencia de áreas de reproducción de los triatominos depende de factores macro y microclimáticos, pero vinculados fundamentalmente a la influencia térmica. El triatomo más común es *Triatoma infestans*, requiere para su ciclo biológico un período continuado de temperaturas no inferiores a 15°C .

BRASIL: Punto de origen del descubrimiento de la enfermedad de Chagas. Sus áreas de mayor prevalencia se encuentran en el Centro, Sur, Este y Noroeste, las cuales son las zonas más densamente pobladas del país. En base a la encuesta serológica realizada en los años de 1975 a 1981, se estimó que el 4.2% de la población de 40,000,000 de habitantes estaba infectada; la mayoría de los casos de megavisceras se han registrado en los estados de Sao Paulo, Minas Gerais, Goias y Bahía. Las actividades de control han interrumpido la transmisión domiciliaria en amplias regiones del estado de Sao Paulo y Minas Gerais. A partir de 1983 se observó una notable expansión de las medidas de control.

VENEZUELA: Area endémica que abarca el 80% del territorio y comprende más de 4,000,000 con riesgo de infección. El principal vector es *Rhodnius prolixus*. El compromiso cardíaco constituye el principal problema, no se han descrito megas. A principios del decenio de 1970, los datos indicaron que casi el 50% de una muestra de residentes en zonas rurales estaban infectados con *Trypanosoma cruzi*. La transmisión domiciliaria en zonas infectadas abarco 591 municipios y $697,049 \text{ Km}^2$ alojando una población estimada en 11,392,894 habitantes para 1982. Para 1984 los programas de control han logrado una reducción sustancial en la transmisión domiciliaria. (Investigadores de la OMS/OPS, 1974; Reseña, 1984). Los países en los cuales se ha registrado la enfermedad de Chagas se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Se mencionan los países en los cuales se ha registrado la enfermedad de chagas

PAISES EN LOS QUE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS ES ENDEMICA	PAISES EN LOS QUE SE HALLARON INFECTADOS POR <i>Trypanosoma cruzi</i> , PERO NO HUBO PRUEBA DEFINITIVA DE INFECCION HUMANA.
Argentina	Antigua
Belice	Aruba
Bolivia	Bahamas
Brasil	Curazao
Colombia	Granadinas
Costa Rica	Haíti
Chile	Islas Virgenes
Ecuador	Jamaica
Guatemala	Martinica
Guyana Francesa	República Dominicana
Honduras	San Vicente
México	Santa Cruz
Nicaragua	
Panamá	
El Salvador	
Surinam	
Uruguay	
Venezuela	

(Atias, 1979; Castagnino, 1980; Sierra, 1982).

Por otro lado se ha planteado ¿existe o no la enfermedad de Chagas en Asia? debido a que se han encontrado monos macacos infectados con *Trypanosoma cruzi*; Las respuestas con respecto a este punto son:

a). Dichos monos pudieron haber sido infectados accidentalmente durante su cautiverio en América o Europa.

b). Sólo ha sido encontrado *Trypanosoma cruzi* en monos asiáticos, pero no en especies africanas. Además de haber detectado pocos casos en Asia, los

parásitos raramente se han visto en la sangre de casos crónicos. El problema de la enfermedad de Chagas en Asia permanece aun sin resolver. (Hoare, 1969; Velasco, 1986).

Hay aproximadamente 114 especies mundiales de triatominos, divididos en 16 géneros, de los cuales seis especies han sido encontradas fuera del Continente Americano. *Triatoma nigrans*, *Triatoma bouvieri*, *Triatoma pugasi*, *Linshcosteus carnifex* en Asia; *Triatoma leopoldi* y *Triatoma amicitiae* en Australia. El resto corresponde a América y sólo hay una especie cosmopolita; *Triatoma rubrofasciata* originaria de la India pero también localizada en Brasil, Guyana Francesa, Venezuela, Estados Unidos de Norteamérica, Bahamas, Jamaica, Trinidad y Argentina. En el Continente Americano los géneros más comunes de triatominos son: *Triatoma* (53 especies), *Panstrongylus* (3 especies), *Rhodnius* (2 especies), siendo *Triatoma* y *Rhodnius* los de más importancia epidemiológica.

En Estados Unidos de Norteamérica existen no menos de diez especies de triatominos todas con nichos ecológicos silvestres, aunque ninguna se ha adaptado y criado en domicilios humanos (cuadro 2).

Cuadro 2..Especies que se han localizado en la habitación humana.

ESTADOS	TRIATOMINOS
Arizona	<i>T. longipes</i>
Arizona, California	<i>T. uhleri</i>
Nuevo México	<i>T. protacta woodi</i>
Nuevo México, California	<i>T. protacta</i>
Texas	<i>T. gertakeri</i> , <i>T. heidmanni</i> , <i>T. ambigua neiva</i> , <i>T. sanguisuga</i> .

(Atias, 1979).

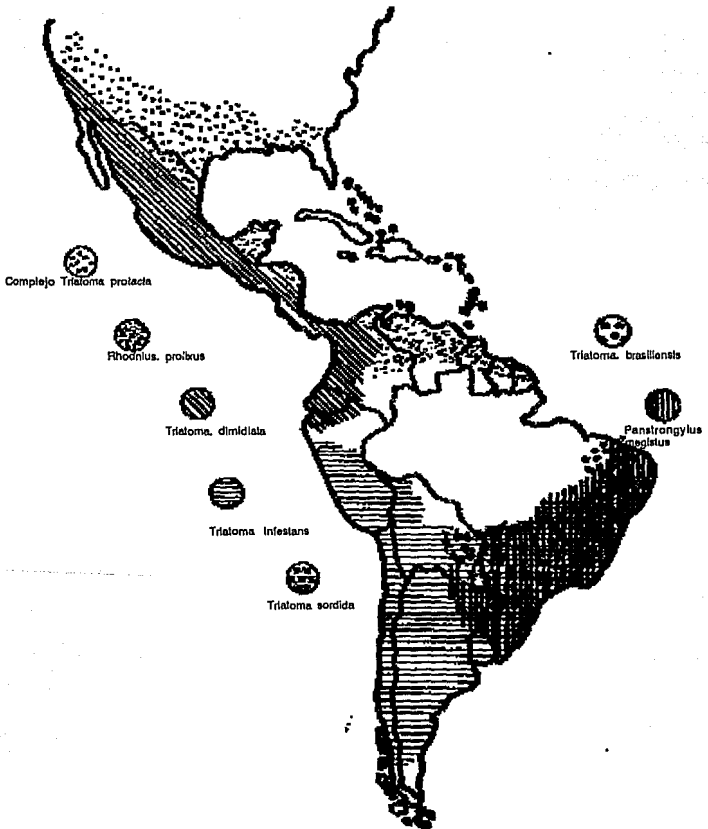
A continuación se presentan los triatominos más importantes en los diferentes países de América latina.(cuadro 3).

Cuadro 3. *Triatominos más importantes en los diferentes países de América Latina.*

PAISES	TRIATOMINOS
Argentina	<i>Triatoma infestans*</i> , <i>Panstrongylus megistus</i> , <i>Eutriatoma sordida</i> , <i>Psamolestes coreodes</i> , <i>Triatoma patagónica</i>
Bolivia	<i>Triatoma infestans*</i> , <i>Eutriatoma sordida</i> , <i>Rhodnius prolixus</i> , <i>Panstrongylus megistus</i> , <i>Triatoma sordida</i> .
Brasil	<i>Panstrongylus megistus*</i> , <i>Triatoma infestans</i> , <i>Rhodnius prolixus</i> , <i>Triatoma brasiliensis</i> , <i>Eutriatoma sordida</i> , <i>Triatoma sordida</i> , <i>Triatoma chagasi</i> , <i>Triatoma vitticeps</i> , <i>Triatoma dimidiata</i> .
Colombia	<i>Rhodnius prolixus*</i> , <i>Triatoma dimidiata</i> , <i>Rhodnius pictipes</i> .
Costa Rica	<i>Rhodnius prolixus*</i> , <i>Triatoma dimidiata</i> .
Chile	<i>Triatoma infestans*</i> , <i>Mepraia spinolai</i> .
Ecuador	<i>Triatoma infestans</i> , <i>Triatoma dimidiata</i> , <i>Triatoma carrioni</i> .
Guatemala	<i>Rhodnius prolixus*</i> , <i>Triatoma dimidiata</i> .
Guayanas	<i>Rhodnius prolixus*</i> , <i>Triatoma dimidiata</i> , <i>Panstrongylus megistus</i> .

Nicaragua	<i>Rhodnius prolixus*</i> , <i>Triatoma dimidiata</i> .
Panamá	<i>Rhodnius pallescens*</i> , <i>Rhodnius prolixus</i> , <i>Triatoma dimidiata</i> , <i>Eratyrus cuspidatus</i> , <i>Panstrongylus geniculatos</i> .
Paraguay	<i>Panstrongylus megistus*</i> , <i>Eutriatoma sordida</i> .
Perú	<i>Triatoma infestans*</i> .
El Salvador	<i>Rhodnius prolixus*</i> .
Uruguay	<i>Triatoma infestans*</i> , <i>Panstrongylus megistus</i> , <i>Eutriatoma sordida</i> .
Venezuela	<i>Rhodnius prolixus*</i> , <i>Triatoma dimidiata</i> , <i>Psamolestes geniculatos</i> , <i>Panstrongylus rufotuberculatus</i> , <i>Psamolestes arthuri</i> .

*Triatomínos más representativos según el país. (Atias, 1979; Castagnino, 1980; Sierra, 1982). Lo anterior se muestra en el mapa 4.



mapa 4: Distribución geográfica de las especies más importantes de triatomíneos transmisores de *Trypanosoma cruzi*.

En la actualidad se cuenta con gran cantidad de información con respecto a la localización de *Trypanosoma cruzi* en el territorio nacional, desde los trabajos realizados por Mazzotti, Biagi, Tay y colaboradores, prácticamente encontraron triatominos infectados con *Trypanosoma cruzi* en todos los estados de la República mexicana, localizados la mayoría de ellos en la vertiente del Pacífico, en altitudes comprendidas entre los 0 y 1800 m sobre el nivel del mar como se menciono con anterioridad.

En México se han encontrado entre otros, veinticinco especies del género *Triatoma* y una del género *Rhodnius* (*Rhodnius prolixus*). Las dos especies consideradas más importantes como transmisores en el cono Sur existen en México, una de ellas *Rhodnius prolixus*, en algunas poblaciones de los estados de Oaxaca y Chiapas es muy importante en la transmisión; *Triatoma infestans*, la cual en nuestro país es un insecto silvestre sin importancia epidemiológica, habiendose capturado a la luz del día, solo en los estados de Veracruz y San Luis Potosí. Cabe señalar que sólo Brasil se compara con México en el número de transmisores infectantes. A continuación se hace una lista de los triatominos importantes de la República Mexicana (cuadro 4 y mapas 5,6,7,8 ,9).

Cuadro 4. TRIATOMINOS EN LA REPUBLICA MEXICANA

ESTADO	TRIAATOMINOS	AÑO
Distrito Federal	<i>Triatoma barberi</i>	
Aguascalientes	<i>Triatoma longipennis</i>	
	<i>Triatoma mexicana</i>	
	<i>Triatoma phyllosoma intermedia</i>	1969

Baja California N.	<i>Thiatoma rubida</i>	
	<i>Thiatoma protacta</i>	1940
	<i>Thiatoma protacta protacta</i>	1949
	<i>Thiatoma rubida cochimiensis</i>	1967
	<i>Paratriatoma hirsuta yumenensis</i>	1961
	<i>Paratriatoma hirsuta kamiensis</i>	1967
Baja California S.	<i>Dipetalogaster maximus</i>	1924
	<i>Thiatoma peninsularis</i>	1940
	<i>Thiatoma rubida</i>	1940
	<i>Thiatoma rubida rubida</i>	1944
	<i>Thiatoma rubida sonora</i>	1956
	<i>Thiatoma rubida</i> entre <i>sonoriana</i> y <i>uhleri</i>	1965
	<i>Thiatoma rubida cochimiensis</i>	1967
	<i>Thiatoma rubida jaegeri</i>	1967
Campeche	<i>Thiatoma dimidiata maculipennis</i>	1937
Coahuila	<i>Thiatoma pallidipennis</i>	
	<i>Thiatoma picturata</i>	
	<i>Thiatoma protacta woodi</i>	1944
	<i>Thiatoma gerstaeckeri</i>	1947
	<i>Thiatoma protacta zacatecensis</i>	1962
Colima	<i>Eratyrus cuspidatus</i>	
	<i>Eratyrus mucronatus</i>	
	<i>Thiatoma protacta</i>	
	<i>Thiatoma recurva</i>	
	<i>Thiatoma sanguisuga</i>	
	<i>Thiatoma phyllosoma pallidipennis</i>	1939
	<i>Thiatoma phyllosoma picturata</i>	1941

	<i>Triatoma phyllosoma usingeri</i>	1944
	<i>Rhodnius prolixus</i>	
Chiapas	<i>Triatoma longipennis</i>	
	<i>Triatoma dimidiata maculipennis</i>	
		1939
	<i>Rhodnius prolixus</i>	1949
Chihuahua	<i>Triatoma mexicana</i>	
	<i>Triatoma sanguisuga indictiva</i>	1944
	<i>Triatoma protacta woodi</i>	1962
	<i>Triatoma recurva nigricollis</i>	1964
	<i>Triatoma rubida uhleri</i>	1967
	<i>Triatoma phyllosoma intermedia</i>	1969
Durango	<i>Triatoma phyllosoma phyllosoma</i>	1949
	<i>Triatoma protacta zacatecensis</i>	1965
Estado de México	<i>Triatoma longipennis</i>	
	<i>Triatoma pallidipennis</i>	
	<i>Triatoma incassata</i>	1930
	<i>Triatoma sanguisuga sanguisuga</i>	1939
	<i>Triatoma phyllosoma pallidipennis</i>	1941
Guanajuato	<i>Triatoma phyllosoma</i>	
	<i>Triatoma barberi</i>	1983
Guerrero	<i>Triatoma phyllosoma pallidipennis</i>	1939
	<i>Triatoma barberi</i>	1939
	<i>Triatoma rubida</i>	1949
	<i>Triatoma phyllosoma mazzotti</i>	1964
	<i>Triatoma dimidiata maculipennis</i>	1972
Hidalgo	<i>Triatoma barberi</i>	1940

	<i>Triatoma mexicana</i>	1940
Jalisco	<i>Triatoma brailovskyi</i>	
	<i>Triatoma pallidipennis</i>	
	<i>Triatoma bolivari</i>	
	<i>Triatoma dimidiata maculipennis</i>	1939
	<i>Triatoma phyllosoma pallidipennis</i>	1940
	<i>Triatoma phyllosoma picturata</i>	1940
	<i>Triatoma phyllosoma usingeri</i>	1943
	<i>Triatoma phyllosoma mazzotti</i>	1964
	<i>Triatoma barberi</i>	1962
Michoacán	<i>Triatoma phyllosoma pallidipennis</i>	1939
	<i>Triatoma phyllosoma mazzotti</i>	1964
	<i>Triatoma barberi</i>	1964
Morelos	<i>Triatoma barberi</i>	1939
	<i>Triatoma phyllosoma pallidipennis</i>	1940
Nayarit	<i>Triatoma rubida</i>	1939
	<i>Triatoma phyllosoma picturata</i>	1939
	<i>Triatoma phyllosoma phyllosoma</i>	1939
	<i>Triatoma rubida sonoriانا</i>	1941
	<i>Triatoma recurva nigricollis</i>	1944
	<i>Triatoma rubida rubida</i>	1949
	<i>Triatoma recurva</i>	1949
	<i>Triatoma phyllosoma longipennis</i>	1949
	<i>Triatoma dimidiata maculipennis</i>	1951
	<i>Triatoma phyllosoma mazzotti</i>	1969
Nuevo León	<i>Triatoma gerstaeckeri</i>	1944

	<i>Triatoma lectularius occulta</i>	1944
	<i>Triatoma protacta zacatecensis</i>	1967
	<i>Triatoma neotomae</i>	1962
Oaxaca	<i>Triatoma pallidipennis</i>	
	<i>Triatoma phyllosoma phyllosoma</i>	1937
	<i>Triatoma barberi</i>	1938
	<i>Rhodnius prolixus</i>	1938
	<i>Triatoma dimidiata maculipennis</i>	1940
	<i>Triatoma phyllosoma mazzotti</i>	1942
	<i>Triatoma phyllosoma picturata</i>	1960
	<i>Triatoma gerstaeckeri</i>	1985
Puebla	<i>Triatoma picturata</i>	
	<i>Triatoma dimidiata</i>	1956
	<i>Triatoma barberi</i>	1956
	<i>Triatoma phyllosoma pallidipennis</i>	1956
Queretaro	<i>Triatoma barberi</i>	1983
Quintana Roo	<i>Triatoma dimidiata</i>	
	<i>Triatoma dimidiata maculipennis</i>	1937
	<i>Triatoma hegneri</i>	1940
San Luis Potosí	<i>Triatoma infestans</i>	
	<i>Triatoma dimidiata</i>	
	<i>Triatoma dimidiata maculipennis</i>	1944
	<i>Triatoma protacta zacatecensis</i>	1962
	<i>Triatoma gerstaeckeri</i>	1969
Sinaloa	<i>Triatoma rubida</i>	1939
	<i>Triatoma phyllosoma longipennis</i>	1939
	<i>Triatoma phyllosoma phyllosoma</i>	1949

	<i>Triatoma rubida rubida</i>	1949
	<i>Triatoma recurva nigricollis</i>	1960
	<i>Triatoma protacta nahuatlae</i>	1962
	<i>Triatoma recurva</i>	1967
	<i>Triatoma dimidiata</i>	
	<i>Triatoma sanguisuga occidentalis</i>	1944
	<i>Triatoma rubida sonora</i>	1949
	<i>Triatoma sinaloensis</i>	1962
Sonora	<i>Triatoma increassata</i>	
	<i>Triatoma rubida uhleri</i>	1939
	<i>Triatoma rubida rubida</i>	1949
	<i>Triatoma rubida sonora</i>	1949
	<i>Triatoma recurva</i>	1955
	<i>Paratriatoma hirsuta papagoensis</i>	1960
	<i>Triatoma sinaloensis</i>	1962
	<i>Triatoma protacta protacta</i>	1962
	<i>Triatoma rubida entre sonora y uhleri</i>	1965
Tabasco	<i>Triatoma dimidiata maculipennis</i>	1901
Tamaulipas	<i>Triatoma gerstaeckeri</i>	1947
	<i>Triatoma neotomae</i>	1962
Tlaxcala	<i>Triatoma barberi</i>	1969
Veracruz	<i>Paratriatoma hirsuta</i>	
	<i>Eratyrus mucronatus</i>	
	<i>Triatoma infestans</i>	
	<i>Triatoma dimidiata maculipennis</i>	1901
	<i>Eratyrus cuspidatus</i>	1977
	<i>Panstrongylus geniculatus</i>	1977

Yucatán	<i>Triatoma dimidiata maculipennis</i>	1901
	<i>Triatoma nitida</i>	1967
	<i>Triatoma phyllosoma longipennis</i>	1977
Zacatecas	<i>Triatoma phyllosoma</i>	1944
	<i>Triatoma phyllosoma phyllosoma</i>	1949
	<i>Triatoma protacta zacatecensis</i>	1967
	<i>Triatoma phyllosoma pallidipennis</i>	1972

Actualmente se conocen cinco géneros del género *Triatominae* y son :

a). *Triatoma*; con treinta y seis especies y subespecies, distribuidas en casi toda la República.

b). *Dipetalogaster*; con la especie *maximus*.

c). *Rhodnius*; con la especie *prolixus*.

d). *Paratriatoma*; con tres especies, *Paratriatoma hirsuta papagoensis*, *Paratriatoma hirsuta yumanensis*, *Paratriatoma hirsuta kamiensis*.

En 1977 el Dr. Peláez informa la presencia de:

e). *Panstrongylus geniculatus*.

f). *Eratyrus cuspidatus*, en el estado de Veracruz. (Cortéz, 1985; Monteón, 1987; Salazar, 1987; Salazar, 1983; Tay, 1980; Tay, 1987; Velasco, 1970).



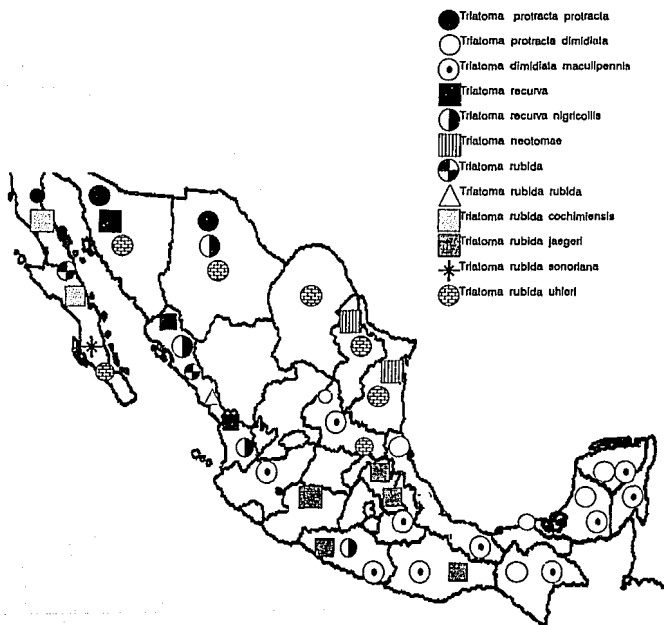
mapa 5: Estados en donde se han encontrado triatomines infectados con *Trypanosoma cruzi*. (O)



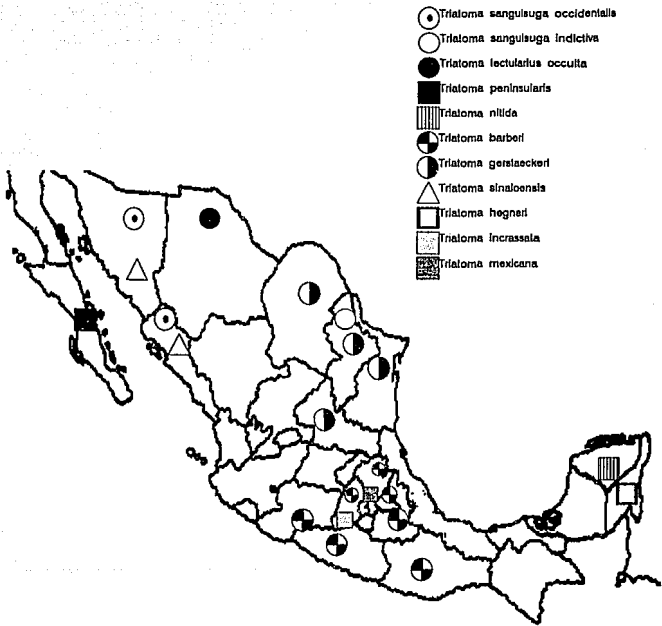
mapa 6: Distribución de los triatomíneos en la República Mexicana.



mapa 7: Distribución de los triatóminos en la República Mexicana.



mapa 8: Distribución de los triatomíneos en la República Mexicana.



mapa 9: Distribución de los triatomíneos en la República Mexicana.

RESERVORIOS QUE PARTICIPAN EN LA TRIPANOSOMIASIS

Los reservorios los constituyen, animales silvestres, peridomésticos y domésticos, entre ellos ovinos, caprinos, equinos, bovinos, perros, gatos, armadillos, murciélagos, hurones, zorros, ardillas, primates, ratas, ratones, cerdos, tlacuaches, cabras, pollos, lagartos, cuyos y conejos.

Se pone de relieve el hecho de que el hombre al destruir los focos naturales donde se lleva a cabo la cadena epidemiológica hara que el transmisor más que el reservorio, vaya a buscar focos de infección. Esta situación hace que el ciclo pase de ser silvestre a peridoméstico en donde el hospedero principal es el hombre o bien creara nuevos lugares de enzoótia. También es importante señalar que se ha encontrado serología positiva a *Trypanosoma cruzi* en animales que se consideran mascotas y que se tienen enjaulados dentro del domicilio, aunque la mayoría de los triatomínos se alimentan de cualquier tipo de hospedero incluyendo reptiles y anfibios (Borda, 1981; Harold, 1981; Kreier, 1977; Leon, 1978; Mark, 1986).

Todas las formas de mamíferos domésticos no sólo perros y gatos pueden actuar como reservorios de la infección por *Trypanosoma cruzi*. Las proporciones de infectividad son principalmente en gatos, esto es explicado parcialmente por las grandes poblaciones de ratones caseros infectados, y la suposición de que los gatos adquieren la infección por vía oral, mediante la captura de los ratones. Además de los ratones y los gatos, otros mamíferos pueden comer también chinches triatomíneas. Aunque en otros países se les considera a los perros como los mejores transmisores de parásitos para las chinches, siendo los principales contribuyentes desde el punto de vista cualitativo y cuantitativo ya que los gatos no son residentes domésticos permanentes (Falasca, 1980; Gürtler, 1986; Miles, 1985; Rojas, 1973; Wisniveski-Colli, 1985).

Los reservorios silvestres de *Trypanosoma cruzi* como los armadillos tienen la capacidad de acercarse a la vivienda e infectar triatomínos de hábitos peridomiciliarios (*Rhodnius*, *Triatoma*). Reservorios como el *Didelphys marsupialis* se ha visto que presentan un porcentaje mayor de infección en

épocas de lluvia debido quizá, sobre todo a vectores adultos o a las ninfas de más edad que pudieron haber sido infectadas cuando eran jóvenes durante la estación seca, época en que se han observado índices más altos de infección en este reservorio (Telford, 1982).

Por estudios realizados en la República Mexicana con respecto a reservorios de *Trypanosoma cruzi*, se ha reportado que dentro de los mamíferos vertebrados se han encontrado a los que a continuación se describen en el cuadro 5.

Cuadro 5. REPORTE DE INFECCIONES COMPROBADAS EN HOSPEDEROS DE *Trypanosoma cruzi* EN LA REPUBLICA MEXICANA.

ORDEN	NOMBRE	AUTOR	AÑO	LUGAR	INF
Carnívoros	<i>Canis familiaris</i> (perro doméstico)	Mazzotti, Dias, Velasco	--	--	-
--	<i>Felis catus</i> (gato doméstico)	--	--	--	-
Herbívoros	Ovinos y caprinos <i>Bos taurus</i>	Velasco	1985	Jiutepec, Morelos	+
Insectívoros	<i>Dasyus novemcinctus mexicanus</i> (armadillo)	Ryckman, Mazzotti, Dias, Biagi y Tay	1940 1949 1964	Colima	+
--	<i>Dasyus pallidus mexicanus</i> (armadillo)	--	--	--	-
Marsupiales	<i>Didelphys marsupialis</i> (tlacuache)	Dias, Perkin, Brenes	1947	Agua Buena Michoacán	+
Primates	<i>Ateles peniscus</i> (mono araña)	--	--	--	-
--	<i>Macacus rhesus</i> (mono macaco)	--	--	--	-
--	<i>Callithrix jacchus</i> (simio pequeño, titis)	--	--	--	-
Quiróptero	<i>Desmodus rotundus</i> (murciélago hematófago)	--	--	--	-
--	<i>Antrozous pallidus pacificus</i> (murciélago)	--	--	--	-
Roedores	<i>Rattus norvegicus</i>	Beltrán, Tay	1949 1979	Ciudad de México Zacoalco de Torres, Jalisco	+ +
--	<i>Neotoma allenii</i> (rata de campo)	--	--	--	-
--	<i>Cavia porcellus</i> (cobayo)	--	--	--	-
--	<i>Sciurus vulgaris</i> (ardilla)	Tay	1979	Zacoalco de Torres, Jalisco	-
--	--	Salazar	1981	Miahuatlán, Oaxaca	-

(Leon, 1978; Tay, 1980).

MODELO ANIMAL Es de gran utilidad disponer de un modelo animal de la enfermedad de Chagas en el hombre para estudios de laboratorio, inmunopatología, inmunoprofilaxis y evaluación de los efectos quimioterapéuticos de los fármacos. Este modelo debe reproducir los rasgos típicos de la enfermedad, en sus formas aguda y crónica tal como se manifiestan en individuos infectados en forma natural. Se han estudiado varios modelos animales como; Ratas y ratones, conejos, cuyos, perros y primates.

En ratones; se han inducido infecciones graves con cepas de *Trypanosoma cruzi*, que por lo general causan la muerte en un lapso de diez a veinte días. Existe la posibilidad de que algunos ratones infectados puedan superar la fase aguda en este tiempo, y pasar a una fase crónica en donde no hay pruebas concluyentes de que los sobrevivientes mueran a causa de la enfermedad de Chagas crónica. Lo que si se ha visto es que al utilizar pequeñas cantidades de inóculo, parásitos de escasa virulencia o cepas de ratones más resistentes han dado tasas de mortalidad más bajas.

En general las infecciones crónicas por *Trypanosoma cruzi* en ratones y ratas muestran un curso errático y síntomas más bien leves. Aunque no todas las cepas presentan la misma susceptibilidad como es el caso de la cepa C3H que es la más sensible a la infección, mucho más que la albina Suiza o la AC de empleo común. Le sigue en sensibilidad la cepa Rockland. Así las cepas CF1 y CFW se prestan más para el análisis de la influencia de la magnitud del inóculo, vía de inoculación, virulencia de la cepa parasitaria así como de las lesiones que estas sufren por su reacción inmunogénica frente a *Trypanosoma cruzi*, de manera que en estas cepas se ha visto ligera similitud con las alteraciones en el hombre que en las obtenidas en la cepa C3H. Así en el ratón como en otros animales de experimentación se debe tener cuidado de ciertos parámetros dependientes como son:

- (a).- Susceptibilidad de la cepa.
- (b).- Vía de inoculación.
- (c).- Número de parásitos inoculados.
- (d).- Estado nutricional.
- (e).- Virulencia de la cepa del parásito.

(f).- Tiempo de vida para poder observar una fase aguda o crónica.

(g).- Edad y sexo.

En el caso de los ratones una de las variables importantes es el tipo de cepa por la cual algunos autores nos reportan que la infección por *Trypanosoma cruzi* en ellos no se asemeja a la enfermedad de Chagas en el hombre, las observaciones más notables sólo se han visto en una fase aguda con linfadenitis focales en el área de inoculación, miocarditis infiltrativa generalizada, miositis, focos encefalíticos e invasión de los planos conjuntivos intermiofasciculares de la pared intestinal con lesiones en ganglios mesentéricos; son frecuentes la hepatomegalia y esplenomegalia. En las cepas CFI y CFW la infección en cierto número de animales se atenúa, encontrándose lesiones infiltrativas mínimas con predominio de grandes mononucleares y muy escasos focos parasitarios.

Existe la probabilidad de tener éxito con el modelo del ratón en el caso de la enfermedad crónica, solo que es necesario tener cuidado y paciencia para obtener resultados confiables en estos animales infectados. Algunos autores relatan que los ratones son la especie más eficaz en cuanto al costo y espacio que requieren, además de ser el mejor definido desde el punto de vista genético e inmunológico, además de contar con más información básica para su estudio que sobre cualquiera de las otras especies comúnmente usadas. (Castagnino, 1980; Dvorak, 1987; Hudson, 1984; Reseña, 1987)

El conejo; como modelo animal ha tenido gran utilidad por poseer una fuerte resistencia natural a la infección por *Trypanosoma cruzi*, pero con frecuencia es difícil comprobar una parasitemia mediante un exámen microscópico. Según Texeira (1979) quien estudio la infección en estos animales, encontro que se desarrollan manifestaciones semejantes en la fase crónica humana, como son: Miocarditis difusa sin parásitos, megacolon, disturbios severos, decremento en el número de ganglios neuronales y muerte repentina debida quizá a tromboembolia e insuficiencia cardíaca. Estos hallazgos se han confirmado usando conejos consanguíneos y la cepa Ernestina de *Trypanosoma cruzi*, aunque son pocos los laboratorios que han usado este modelo animal a nivel experimental.

El comportamiento de esta enfermedad también se ha demostrado en conejos blancos exogámicos de raza Nueva Zelandia, parasitemias patentes y en algunos se ha observado el chagoma que indica la fase aguda de la infección la cual pasa inadvertida y es asintomática. La fase de latencia en

las infecciones crónicas asintomáticas se caracteriza por parasitemias subpatentes y ausencia de alteraciones electrocardiográficas (ECG), pero la persistencia de resultados positivos en pruebas serológicas y de reacciones cutáneas retardadas ante un antígeno del parásito demuestran que continua la infección. Las alteraciones en la fase crónica que fueron observadas en estos animales a nivel patológico son: miocarditis e hipersensibilidad cutánea retardada a los antígenos de *Trypanosoma cruzi*, siendo razonable pensar que este podría ser un modelo animal de la enfermedad de Chagas en el hombre, tomando en cuenta los mecanismos inmunitarios de resistencia a la infección del hospedero los cuales desempeñan un papel fundamental en la patogénesis de la enfermedad. (Castagnino, 1980; Falasca, 1987; Ramirez, 1987; Reseña, 1987).

Los cuyos o cobayos; han sido estudiados como modelo en la tripanosomiasis americana por Carlos Chagas, Vianna, Mayer y Rocha, quienes describieron que estos animales son sensibles a las infecciones por *Trypanosoma cruzi*, presentando lesiones agudas en el miocardio y músculo esquelético.

Mazza al realizar un trabajo experimental en el que empleo cuyos de la cepa que el mismo trajo del Instituto Nicolle de Argelia en donde observo infecciones atenuadas inespecíficas aún inoculando cepas brasileñas provistas por el Instituto Oswaldo Cruz con las que presentaron focos parasitarios menos del 10% de los animales, por lo cual los científicos de la M.E.P.R.A. desecharon al cuyo para trabajos experimentales de este tipo, lo que se sugiere experimentar con otras cepas del parásito como la Tulahuén, Y, Brasil y la Colombiana con las cuales han trabajado otros autores quienes emplean inóculos dosificados por Kg de peso, partiendo de dosis infectantes mínimas en cualquier animal. (Castagnino, 1980).

El perro; como modelo se ha visto que mezclas de perros callejeros, mestizos en cuanto a su origen, tienen susceptibilidad variable que va desde un 50% hasta el desarrollo de la enfermedad aguda en menos del 10% con mortalidad en un promedio de 40 días. Las razas foxterrier, airedale y los gran danes han sido estudiados, ya que es posible inyectar a los cachorros hasta 20 ml de sangre intraperitonealmente, se vio que estos fueron sensibles a la infección teniendo hasta 1×10^5 tripomastigotes por Kg de peso (infectados con una cepa virulenta aislada de casos mortales). La edad en estos animales es importante ya que la posibilidad de infección

experimental disminuye a medida que los perros tienen mayor edad. Durante la lactancia su sistema inmunitario canino no detiene la proliferación tripanosómica y es posible lograr poblaciones parasitarias grandes, con frecuente mortandad.

Al emplear cepas indeterminadas e inocular deyecciones de "vinchucas" o sangre de animales silvestres o de laboratorio con parasitismo, la infección del perro es impredecible en cuanto a gravedad y duración. Por esta razón y por la dificultad para obtener cachorros de cria estabilizada, Mazza tendía a descartar al perro como animal para estudiar la infección humana crónica.

En cuanto al tamaño del inóculo, que es también de importancia, hay desacuerdo entre autores. Por lo que se cree que para cada cepa y especie animal existe una dosis infectante mínima para causar la enfermedad aguda en animales.

La vía de inoculación es variable, se han observado mejores resultados con la intraperitoneal. En el caso de inoculaciones venosas puede producir infecciones leves o retardadas, porque el sistema del complemento, puede inhibir la colonización del tripanosoma por inhibición en el plasma.

En 1953 Laranja logró reproducir las fases aguda y crónica; en la aguda se presentó dilatación cardíaca, miocarditis aguda difusa o focal, parasitismo de intensidad variable y bloqueo de la rama derecha; en la fase crónica de diez a doce animales estudiados no se encontró parásitos en nueve de ellos y hubo varios grados de miocarditis crónica a nivel histológico.

En 1981 según Andrade y colaboradores el perro podría ser considerado como el modelo experimental adecuado, con ciertas limitaciones como el usar perros isogénicos y no perros de otra clase. Aunque el megaesófago y el mega a nivel digestivo haya sido reportado en estos animales con infección natural con *Trypanosoma cruzi* nunca han sido reconocidos; sin embargo en otros experimentos se menciona que el perro no es un modelo para la reproducción de la patología digestiva asociada a la enfermedad de Chagas. (Castagnino, 1980; Gürtler, 1986).

En el caso de los primates; Dorland inoculó cepas de *Trypanosoma cruzi* aisladas en Texas y California, inoculando las heces de triatomíneos infectados en forma natural, en la conjuntiva de estos animales. Todos resultaron infectados y en algunos se observó el signo de Romaña. Los estudios histopatológicos revelaron la presencia de miocarditis difusa leve. Torres y Tavares investigaron el curso de la infección en monos *Cebus*

apella del Nuevo Mundo inoculándolos varias veces, utilizando distintas vías e inoculos. Los animales que murieron entre los 95 y 243 días después de la infección, presentaron miocarditis crónica difusa leve con notables variaciones según los individuos, lo cual dificultó la evaluación de los resultados, aunque se observaron lesiones más intensas en animales reinoculados después de intervalos breves.

Los resultados al utilizar el *Cebus apella* indican que la inoculación de estos animales con tres cepas de *Typanosoma cruzi* no provocó alteraciones clínicas comparables durante la fase aguda de la infección, pero causó alteraciones cardíacas y a nivel de colon, semejante a las observadas en casos crónicos de la enfermedad de Chagas en el hombre. Las lesiones histopatológicas encontradas en la necropsia también fueron semejantes a las observadas en la forma humana.

Estos resultados aunados a la asequibilidad de estos animales y el costo relativamente bajo para mantenerlos en cautiverio, indican que la especie *Cebus apella* podría ser el modelo adecuado para la forma crónica de la enfermedad de Chagas (Falasca, 1987). Otros investigadores han infectado a *Macacus rhesus* con *Typanosoma cruzi* y han vigilado las infecciones durante períodos prolongados. Por lo menos en dos ocasiones se señaló la presencia de megaesófago en estos primates, sin embargo esta especie no es autóctona de zonas donde es endémica la enfermedad de Chagas.

El progreso de estas investigaciones ha sido lento por la carencia de un modelo animal apropiado que pudiera presentar lesiones parecidas a las encontradas en seres humanos en específico aquellas que resultan de un proceso inflamatorio que produce fibrosis cardíaca y efectos sobre el sistema nervioso autónomo que origina dispeptismo y visceromegalias. Así el objetivo de la OMS en cuanto a investigaciones sobre enfermedades tropicales es obtener y evaluar esta clase de modelos animales para experimentos reproducibles, lo cual es esencial para tener un mejor conocimiento de la patogénesis e inmunopatología de la enfermedad de Chagas, principalmente para determinar cual es el mecanismo de las manifestaciones de la enfermedad crónica, evaluar los efectos quimioterapéuticos de los fármacos y producir una vacuna eficaz e inocua.

El objetivo de estas investigaciones es llegar a obtener un modelo ideal que reúna las siguientes características.

- 1). Dar cabida a una parasitemia subclínica prolongada, susceptible de ser identificada por xenodiagnóstico, hemocultivo, o por los estudios serológicos ordinarios.
- 2). Presentar reacciones inmunitarias celulares o humorales.
- 3). Contraer las formas cardíaca y digestiva de la enfermedad, con lesiones histopatológicas típicas.
- 4). Sobrevivir la fase aguda de la infección
- 5). Presentar lesiones después de un período relativamente breve.
- 6). Mostrar una evolución de la enfermedad independiente de la edad y sexo, particulares del animal infectado.
- 7). Utilizar animales autóctonos de la zona endémica y fáciles de obtener.
- 8). Ser asequibles a un costo razonable. (Falasca, 1987).

CAPITULO 8

MECANISMOS DE TRANSMISION

Entre las vías de transmisión para *Trypanosoma cruzi*, se pueden citar las siguientes:

- a). A través de triatominos.
- b). Hemotransfusión.
- c). Transplacentaria.
- d). Digestiva.
- e). Accidentes de laboratorio
- f). Manejo de animales contaminados
- g). Transplante de órganos.

a). A través de triatominos; probablemente por esta vía son más del 80% de los casos. Comunmente el hombre no es infectado a través de la picadura del insecto sino por un fenómeno secundario, el triatomo después de ingerir la sangre expele las heces semilíquidas, las cuales contienen grandes cantidades de la forma infectante del *Trypanosoma cruzi*, penetrando así por escoriaciones imperceptibles, o cruzando piel sana de regiones con epidermis delgada.

El rascado de la piel, ocasionado por la picadura así como el frotamiento de los ojos al percibir el contacto o picadura del triatomo son mecanismos que pueden facilitar la penetración.

La infección por la picadura misma, es muy rara, pero ha sido comprobada experimentalmente. La saliva del triatomo no contiene tripanosomas pero pueden llegar al órgano picador por regurgitación del contenido gástrico, el cual puede contener parásitos en abundancia (Castagnino, 1980).

b). Hemotransfusión; la transmisión de *Trypanosoma cruzi* a través de la transfusión sanguínea fué primero mencionada por Mazza y colaboradores en 1936 y Dias en 1949, en el mismo año Pellegrino detectó sangre infectada en donadores en Belo Horizonte, Brasil y poco después en 1950 por Freitas y colaboradores.

Durante 1951 y 1952 se toma en cuenta en Sao Paulo, Brasil, cuando las bases de la quimioprofilaxis de la enfermedad de Chagas transfusional en bancos de sangre son establecidas.

La transmisión por transfusión sanguínea constituye la segunda forma más importante, por lo que es probable que está se encuentre día con día en aumento.

Por medio de exámenes serológicos realizados en diferentes países se ha demostrado que en América Latina existen entre 0.4% y 63% de donadores sanguíneos infectados ya que la mayoría de los resultados recientes están entre el 2.9% y 13.4%.

Se ha señalado que en la transmisión transfusional el periodo de incubación es más grande que en los casos de transmisión por el vector, alcanzando hasta cuatro o cinco meses. Los recientes comités sobre la enfermedad de Chagas fortalecen la idea de que la vía transfusional cada vez adquiere mayor importancia en América Latina. Este problema tiende a agravarse debido a la progresiva migración de áreas rurales hacia las urbanas.

La práctica del "mercado de sangre" es otro de los problemas relacionados con la enfermedad. El pago a donadores de sangre era común entre la gente de bajos recursos económicos o sin empleo en diversos centros urbanos de Latinoamérica. El número de casos transfusionales reportados es aún pequeño, debido a la falta de interés por parte de los hemoterapeutas, con respecto a la identificación y comunicación de los "accidentes transfusionales", así como la presencia de casos asintomáticos y problemas técnicos en áreas rurales.

Entre los factores de riesgo para la transmisión de la enfermedad de Chagas por transfusión sanguínea se pueden citar: Cepa y virulencia del parásito, parasitemia del donador, condiciones generales del receptor, cantidad de sangre transferida, utilización de fracciones sanguíneas (eritrocitos, plasma y crioglobulinas) que también ofrecen riesgo de transmisión del *Trypanosoma cruzi* según Carvalho, Cardoso y Brener en 1977. Los tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi* son viables en sangre total almacenada por menos de dieciocho días.

Otros autores describen que *Trypanosoma cruzi* mantiene su viabilidad a temperatura de refrigeración de 45°C hasta por dos meses. En ciertas regiones alcanza hasta el 20% de los posibles donadores de sangre. En las pequeñas poblaciones endémicas, las transfusiones sanguíneas ocurren en situaciones de emergencia, cuando voluntarios de los pacientes se requieren de inmediato para la transfusión sanguínea.

El verdadero riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas por transfusión sanguínea no puede ser determinado por la presencia de

reacciones cruzadas que puedan ocurrir en las pruebas serológicas. Presencia de donadores serologicamente negativos (debido a la resistencia inespecifica del hospedero y falta de virulencia del parásito). Se muestra la seropositividad entre donadores sanguíneos en países de América Latina.(cuadro 6).

Cuadro 6. SEROPOSITIVIDAD PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS ENTRE DONADORES SANGUINEOS EN PAISES DE AMERICA LATINA, EN AÑOS.

PAIS	REFERENCIA	AÑO	EXAMINADOS	POSITIVOS (%)
Argentina	Alderette, Torres & Monteban	1984	5,434	14.7
B. Aires	Alderette, Torres	----	----	6.1
S. Estero	Alderette, Torres	----	----	23.3
Chubut	Alderette, Torres	----	----	2.9
Bolivia	Zuna	1984	420	46.7
Sao Paulo (Brasil)	Waldman y col.	1982	56,902	2.9
Minas Gerais	Dias & Brener	1984	2,300	5.7
Chile	Lorca y col	1983	1,332	6.0
Santiago DC	Lorca y col	1983	478	3.6
II Región	Lorca y col	1983	99	10.1
IV Región	Lorca y col	1983	492	8.7
V Región	Lorca y col	1983	225	3.7
Guayaquil	Chang de Tafur	1983	1,000	4.1
Honduras	Ponce	1984	364	13.4
México	Bayona y col	1984	200	16.5
Paraguay	Servin-Blaires	984	-----	16.9
Perú	Naquira y col	1972	893	5.8
Venezuela	Maekelt	1973	529,883	4.0

(Bergollo, 1974; Cerisola, 1967; Goldsmith, 1978; Pinto, 1984; Sagua, 1982; Tay-Lara, 1982).

c). **Transplacentaria;** Intuida en 1916 por Chagas y posteriormente demostrada por Mazza, se advierte más cada día. Dias en 1939 afirmo que la transmisión del *Trypanosoma cruzi* de vertebrado a vertebrado podía efectuarse vía transplacentaria.

La infección prenatal por vía transplacentaria de tripanosomas desde la circulación materna con infección aguda y crónica (aún latente) es posible pero no obligada. Se ha verificado el nacimiento de niños no infectados aún en presencia de placentas con elevado parasitismo, también se ha comprobado lo contrario, madre con baja parasitemia, placenta sin parásitos y neonato con enfermedad de Chagas (hepatomegalia, esplenomegalia, distrofia, edemas, fiebre y parasitemia elevada).

Publicaciones pedfátricas parasitológicas informan de más de cien casos de enfermedad de Chagas congénita en los últimos años, en especial en Santiago de Chile. La transmisión congénita frecuentemente produce abortos espontáneos, alumbramientos prematuros, esto es muerte del recién nacido.

Sin embargo el pronóstico para el sobreviviente con enfermedad de Chagas es grave a no ser que se haya iniciado una terapia pre-parto. Las secuelas en un niño con infección congénita se encuentran entre las anomalías cardíacas, megaesófago, megacolon, encefalitis, hepatomegalia, esplenomegalia, edema pulmonar. Relativamente pocos de estos niños alcanzan la pubertad.

Se han observado casos de niños que han logrado sobrevivir, siendo detectados hasta los seis años de edad sin presentar signos de enfermedad crónica, lo cual plantea la interrogante de si se trata de una curación o un prolongado período de latencia.

La madre puede ser directamente la responsable de la transmisión post-parto de la infección a infantes (Carrada, 1983; Castagnino, 1980; Kreier, 1977; Sierra, 1982).

d). **Digestiva;** *Trypanosoma cruzi* ha sido encontrado en la leche materna, bajo estas condiciones, el riesgo de los infantes de adquirir la infección por vía oral durante la lactancia es significativo, siendo verificado clínicamente y experimentalmente, aunque muchos especialistas lo consideran un riesgo muy remoto, sin embargo, es conveniente que el hijo de una mujer que sufre enfermedad de Chagas no sea alimentado con la leche del pecho materno (Castagnino, 1980; Kreier, 1977).

La infección transdigestiva es un hecho verificado *in natura*. Las ratas

leñeras de Estados Unidos se infectan fácilmente al devorar triatominos en épocas del año en que se escasea su alimento. El hecho también se ha confirmado en perros y gatos. Los gatos al igual que los perros viven en áreas endémicas y pueden ser infectados al caer las deyecciones de triatominos en su pelambre, el animal lo lame y así se contamina, o con la ingestión de ratones infectados.

La infección humana por alimento contaminado es sospechada por los estudiosos brasileños. El *Trypanosoma cruzi*, sobrevive en la leche de vaca o cabra durante por lo menos diez horas, de tal manera que se puede dar la contaminación ocasional (Castagnino, 1980).

e). Accidentes de laboratorio; Se han reportado diversos casos durante la manipulación de "vinchucas", animales infectados, cultivos de *Trypanosoma cruzi* o material biógeno, extracciones de sangre sin cuidado, provenientes de enfermos graves o animales infectados. Dentro de la revisión se mencionan tres casos reportados; en Chile en 1963; un caso ocurrido en Francia en 1964; además de el caso reportado en 1982, ocurrido a una mujer en España quién sufrió accidentalmente un piquete en el dorso del pie izquierdo con una aguja de una jeringa con sangre parasitada por *Trypanosoma cruzi*, dispuesta para un pase normal de ratón a ratón (Alvar, 1983; Castagnino, 1980).

f). Manejo de animales contaminados; También se han notificado casos en los que se contrajo la enfermedad al desollar animales y manipular sus carnes infectadas. La transmisión por vías accidentales, como picadura de chinches, pulgas, ácaros o dípteros que puedan albergar ocasionalmente a *Trypanosoma cruzi* son hechos excepcionales, sin significación epidemiológica (Castagnino, 1980; Kreier, 1977).

g). Transplante de órganos; Se ha señalado el peligro de transmitir la enfermedad por el transplante de vísceras provenientes de donadores chagásicos (situación semejante a las transfusiones sanguíneas, aumentando el riesgo por la inmunosupresión que habitualmente se práctica al receptor (Castagnino, 1980).

CAPITULO 9

INFLUENCIA DE LA EDAD Y SEXO

No hay una distribución especial de la enfermedad de Chagas de acuerdo a la raza o al sexo; sin embargo la infección predomina cuanto más joven es el individuo. Los lactantes ántes del sexto mes de vida son muy susceptibles, el 70% de los casos graves según estadísticas internacionales se presenta hasta la edad de cinco años (Atías, 1979; Castagnino, 1980; Colonel, 1946; Streiger, 1986).

En estudios efectuados en Argentina en 1988 se comprobó la presencia de individuos no infectados (notablemente mujeres adultas), los cuales residieron por varios años en viviendas infestadas. Estos estudios sugieren la existencia de factores relacionados con el sexo o la edad que impiden adquirir la infección. La influencia que tienen las hormonas progesterona y testosterona en ratones y el comportamiento que presentan algunos parásitos ha sido estudiada, se ha señalado una mayor frecuencia y severidad de infecciones por parásitos en machos que en hembras, aunque otros autores señalan que no hay influencia del sexo del hospedero en la parasitemia o índices de mortalidad en la enfermedad de Chagas. La mayoría de los estudios indican que los ratones machos son más susceptibles a la infección que las hembras.

Se registran elevadas tasas de enfermedad en individuos hasta de cuatro años, disminuyendo para mayores de edad, volviéndose a incrementar en la pubertad, aunque también se encuentra en adultos debido probablemente a que la infección fué adquirida durante su niñez (cuadro 7, 8, 9, 10, 11 y 12) (Cortéz, 1985; Faust, 1975; Gürtler, 1988).

Cuadro 7. DESCRIPCION DE LA DISTRIBUCION PORCENTUAL POR EDAD Y CASOS NOTIFICADOS POR MES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA REPUBLICA MEXICANA

Casos notificados por mes	Casos notificados por mes			Casos notificados acumulados		
	1986	1985	mediana	1986	1985	mediana
Enero	0	0	0	0	0	0
Febrero	0	0	-	0	-	0
Marzo	0	0	0	0	0	0
Abril	0	-	-	0	-	-
Mayo	6	-	-	6	-	-
Junio	0	-	-	6	-	-
Julio	0	-	-	6	-	-
Agosto	0	0	-	6	-	-
Septiembre	1	0	0	7	-	0
Octubre	0	0	0	7	0	0
Noviembre	1	0	0	8	-	0
Diciembre	0	0	0	8	0	0

Cuadro 8. DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS CASOS ACUMULADOS POR GRUPO DE EDAD DE 1985 A 1986.

	1	1-4	5-14	15-44	45-64	65	Ignorados
Enero	-	-	-	-	-	-	-
Febrero	-	-	-	-	-	-	-
Marzo	-	-	-	-	-	-	-
Abril	0	0	0	0	0	0	100
Mayo	0	0	0	0	0	0	100
Junio	0	0	0	0	0	0	100
Julio	0	0	20	80	0	0	0
Agosto	0	0	20	80	0	0	0
Septiembre	0	0	14.3	85.7	0	0	0
Octubre	0	0	14.3	85.7	0	0	0
Noviembre	0	0	0	0	0	0	0
Diciembre	0	12.5	12.5	75	0	0	0

Cuadro 9. DESCRIPCION DE LA DISTRIBUCION PORCENTUAL POR EDAD Y CASOS NOTIFICADOS POR MES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA REPUBLICA MEXICANA.

Casos notificados por mes	Casos notificados por mes			Casos notificados acumulados		
	1987	1986	mediana	1987	1986	mediana
Enero	0	0	-	0	0	-
Febrero	1	0	-	1	0	0
Marzo	0	-	-	1	-	-
Abril	0	0	-	1	0	0
Mayo	0	6	-	1	6	0
Junio	1	0	-	2	6	-
Julio	6	0	-	8	6	0
Agosto	15	0	-	23	6	0
Septiembre	4	1	-	27	7	0
Octubre	0	0	-	27	7	0
Noviembre	1	1	-	28	8	0
Diciembre	1	0	-	29	8	0

Cuadro 10. DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS CASOS ACUMULADOS POR GRUPO DE EDAD, DE 1986 A 1987.

	1	1-4	5-14	15-44	45-64	65	Ignorados
Enero	0	0	0	0	0	0	100
Febrero	0	0	0	0	0	0	100
Marzo	0	0	0	0	0	0	100
Abril	0	0	0	0	0	0	100
Mayo	0	0	0	0	0	0	100
Junio	0	0	0	0	0	0	100
Julio	0	66.7	0	0	0	0	33.3
Agosto	0	50.0	0	50.0	0	0	0
Septiembre	0	50.0	0	50.0	0	0	0
Octubre	0	50.0	0	50.0	0	0	0
Noviembre	0	50.0	0	50.0	0	0	0
Diciembre	0	25.0	0	75.0	0	0	0

Cuadro 11. DESCRIPCIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL POR EDAD Y CASOS NOTIFICADOS POR MES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA REPÚBLICA MEXICANA.

Casos notificados por mes	Casos notificados por mes			Casos notificados acumulados		
	1988	1987	mediana	1988	1987	mediana
Enero	10	0	-	10	0	0
Febrero	0	1	-	10	1	0
Marzo	8	0	-	18	1	0
Julio	4	6	-	29	8	0
Agosto	2	15	-	31	23	0
Septiembre	5	4	-	36	27	0
Octubre	3	0	-	39	27	0
Noviembre	7	1	-	46	28	0
Diciembre	4	1	-	50	29	0

Cuadro 12. DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LOS CASOS ACUMULADOS POR GRUPO DE EDAD DE 1987 A 1988.

	1	1-4	5-14	15-44	45-64	65	Ignorados
Enero	0	10	0	70	20	0	0
Febrero	0	10	0	70	20	0	0
Marzo	0	10	0	70	20	0	0
Julio	6.2	31.2	0	50	12.5	0	0
Agosto	5.9	29.4	0	52.9	11.8	0	0
Septiembre	5.6	27.8	0	55.6	11.1	0	0
Octubre	5.6	27.8	0	55.6	11.1	0	0
Noviembre	50	25	0	50	15	5	0
Diciembre	4.2	20.8	0	45.8	20.8	8.3	0

NOTA; Datos registrados según el Boletín Epidemiológico Mensual, SSA.

MORTALIDAD.

La mortalidad a causa de la enfermedad de Chagas depende de diversos factores tales como; morbilidad, factores socioeconómicos, existencia de transmisores eficientes y la infección de estos por cepas virulentas. En la etapa aguda, hay altas tasas de mortalidad para menores de dos años, disminuyendo para mayores de edad, volviéndose a incrementar durante la pubertad. En general en algunos países de Sudamérica, la tasa de letalidad en la niñez oscila del 4% al 10%, aumentando durante la infección intrauterina, donde prácticamente el 100% muere antes de alcanzar el cuarto mes de vida. Para los adultos constituye una causa importante de mortalidad. Chioneti y colaboradores, calculan que aproximadamente el 10% de los casos crónicos fallecen en los dos primeros años posteriores a su diagnóstico.

En México se ha notificado la muerte rápida de cinco a siete niños menores de dos años que sufrieron enfermedad de Chagas aguda. Así como de siete casos crónicos muertos por miocardiopatía, todos ellos antes de los dos años de haber realizado el diagnóstico parasitoscópico y tres de ellos menores de 30 años de edad (Velasco, 1986).

CAPITULO 10

PATOGENIA DE LA TRIPANOSOMIASIS

HISTORIA SOBRE LA PATOGENIA

Chagas en 1916; encontró disfgia en la fase aguda de la enfermedad. Mazzotti en 1940; describe el primer caso agudo de la enfermedad de Chagas en México.

Aceves en 1950; en el Instituto Nacional de Cardiología, describe el primer caso de miocarditis chagásica, diagnosticada mediante la prueba de fijación de complemento.

Fonseca y Toledo en 1952; describen por primera vez las alteraciones radiológicas en duodeno de pacientes por megaesófago y megacolon.

Hacia la década de los sesentas Tinajero, inicia la investigación sobre las megadeformaciones sin llegar a conclusiones precisas.

Biagi y Arce en 1965; presentan los dos primeros casos de miocarditis chagásica diagnosticados parasitoscópicamente, por medio de estudios histopatológicos post-mortem, en individuos de la Mixteca en Oaxaca.

Koeberle y colaboradores en 1967; hace que mediante sus estudios anatomopatológicos se acepte la presencia de megaesófago y megacolon en áreas endémicas.

Salazar y colaboradores en 1979; describen el tercer caso de miocarditis chagásica crónica comprobada parasitoscópicamente.

Conte en 1981; observó en la pared vesicular la desaparición total de células nerviosas .

Palmero y colaboradores en 1982; descubre la presencia de coleditiasis en pacientes chagásicos.

Tay y colaboradores en 1982; comunican el primer caso de megasigmoides.

Reyes y colaboradores en 1983; notifican treinta y cuatro casos de cardiomiopatía chagásica.

Salazar y colaboradores en 1984; presentan el primer caso de megaesófago con serología positiva a *Trypanosoma cruzi*, de una paciente originaria del estado de Oaxaca (Cortéz, 1984, 1986; De Rezende, 1984; Salazar 1984).

PATOGENIA

Los tripanosomas metacíclicos una vez que penetran en el hospedero, como ya se explico anteriormente, son fagocitados por los histiocitos del corion, invadiendo células adiposas del tejido subcutáneo y fibras musculares localizadas debajo del lugar de inoculación, se transforman en amastigotes, hay multiplicación por fisión binaria longitudinal durante unos tres días, hasta que las células se llenan de parásitos, originando así los llamados "pseudoquistes", en cultivo de tejido se ha determinado que la formación de "pseudoquistes" tarda aproximadamente cinco días (Chester, 1986; Faust, 1975; Pezarossi, 1986; Sierra, 1982; Suplemento, 1986; Zavala, 1979).

Muchos de estos amastigotes adquieren la forma de tripanosoma ántes de que la célula se destruya, después del cuarto o quinto día, los parásitos ya liberados invaden otras células, se produce la primera infiltración de neutrófilos, monocitos y linfocitos, seguido de la proliferación y movilización de histiocitos regionales, en particular en los nodos linfáticos cercanos.

Este foco inflamatorio prosigue y los histiocitos tienden a ocupar el centro, en la periferia se localizan los neutrófilos, esto origina la lesión primaria característica denominada "chagoma de inoculación", el cual bloquea los capilares linfáticos y produce un edema local, su localización es en el sitio de penetración del parásito, ya sea la cara u otras partes del cuerpo, siendo evidentes o detectables por palpación (Biagi, 1976; Faust, 1975; Kreier, 1979; Sierra, 1982; Zavala, 1979).

Desde el sitio inicial de desarrollo los amastigotes migran hacia nodos linfáticos satélites, posteriormente hay distribución a través de vasos sanguíneos, hacia nodos linfáticos axilares e inguinales, pulmón, bazo, hígado, médula ósea y nodos mesentéricos, multiplicandose en histiocitos del miocardio, neuroglia, microglia, células piramidales de la corteza cerebral, corteza suprarrenal, tiroides, órganos sexuales, y mucosa intestinal. Cualquier órgano del cuerpo puede ser invadido pero hay cierta predilección por músculo cardiaco, células de la neuroglia del sistema nervioso central (SNC), hecho para el cual no se tiene una explicación satisfactoria, aunque esta en función del tipo de cepa y virulencia de esta (Chester, 1986; Biagi, 1976; Kreier, 1979).

Las manifestaciones clínicas varían de acuerdo al tamaño de inóculo, virulencia de la cepa de *Trypanosoma cruzi* (Mazzotti en 1940, comprobo que en ratones y cobayos se obtenían resultados diferentes tras la

inoculación con cepas obtenidas de distintas especies de triatominos y la virulencia de las cepas variaba incluso cuando se obtenían de la misma especie de insecto en localidades distintas), así con ciertas características del hospedero (edad, sexo, estado nutricional, respuesta inmunológica), de acuerdo a estos factores también hay variación del período de incubación que puede ser de diez días aproximadamente y en un lapso de catorce a veintiocho días se puede encontrar los parásitos en sangre (Chester, 1986; Sierra, 1982; Tay-Lara, 1982; Zavala, 1979).

La enfermedad de Chagas puede ser dividida en tres fases:

1).- FASE AGUDA.

Fase posterior al período de incubación, en zonas de alta endemicidad ataca preferentemente a los niños (90%) en la primera década de la vida. De un 5% a 10% de los pacientes desarrollan la etapa aguda asintomática. Tiene una duración aproximada de 20 a 30 días. Desde que Chagas describió la sintomatología de la niña en quien descubrió la tripanosomiasis, pocas manifestaciones clínicas han sido agregadas pero se caracteriza por:

a) Altos niveles de parasitemia.

b) En esta fase pueden ser localizados los signos de entrada tales como el "chagoma de inoculación" o "signo de Romaña", cuando se presenta en el área ocular. El "signo de Romaña" es un edema palpebral, indoloro, violáceo, acompañado de dacriadenitis, hiperemia e inflamación de los nodos satélites, este signo puede encontrarse en uno o en ambos ojos, este complejo oftalmo-ganglionar desaparece en aproximadamente cuatro semanas (figura 12). (Atías, 1979; Castagnino, 1980).

Según Dias en 1955 al estudiar treientos pacientes en estado agudo, encontro sólo el 48.7% con alteraciones oculares (el 57% en la cabeza, y el 23.3% sin indicación aparente del sitio primario de infección y el resto generalmente en extremidades).

El chagoma a nivel cutáneo puede presentar las siguientes formas; furunculoide, erisipeloide, con aspecto tumoral, y lupoide (Castagnino, 1980; Chester, 1986). Las heces del parásito por sí solas pueden causar edema local en individuos hipersensibles.

c) La diseminación del parásito, a través del torrente sanguíneo puede provocar fiebre la cual no excede de los 40°C, pudiendo ser continua o

intermitente de predominio vespertino acompañada de cefaleas, astenia, dolor muscular, pérdida de peso, y anemia que por lo general no dura más



figura 12: Signo de Romãia

de cinco a seis semanas, encontrándose los parásitos en sangre.

d) En la segunda semana se puede observar edema generalizado (anasarca), el cual puede ser de naturaleza inflamatoria o debido a una insuficiencia cardíaca derecha..

e) Aumento del tamaño de la glándula tiroides, paratiroides, preauricular, submaxilar, así como de nodos linfáticos. Este aumento de tamaño perdura hasta por varios meses.

f) También se presenta hepatomegalia y esplenomegalia, las cuales pueden indicar activación del sistema reticuloendotelial (SRE). La esplenomegalia se verifica por palpación, es moderada, de consistencia blanda, la palpación no provoca dolor (De Aluja, 1985; Afas, 1979; Chester, 1986; Weller, 1985).

g) Dentro de las complicaciones en esta fase se encuentran la meningoencefalitis y miocarditis. En la meningoencefalitis *Trypanosoma cruzi* circula en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y puede encontrarse intracelularmente en cerebro y células reticulares de las leptomeninges. Se observan trastornos motores, convulsiones, vómito y afección sensorial. La

miocarditis se caracteriza por un alargamiento, debido al incremento temporal del fluido dentro del saco pericardico, los procesos inflamatorios pueden comprometer al miocardio y endocardio. Estas complicaciones pueden ser causa de muerte, suelen ocurrir en un 1% a 13% (Carrada, 1983; Pezzarossi, 1986).

2).- FASE LATENTE O INDETERMINADA

Fase cuya duración puede ser de varios años (de veinte a treinta años, perdurar de por vida o progresar a la fase crónica). Caracterizada por que el paciente se muestra asintomático. Persiste un bajo nivel de parasitemia, indicando la multiplicación intracelular en órganos y tejidos observandose una inflamación de tipo granulomatoso difuso. Su diagnóstico es de tipo radiológico y electrocardiográfico. Aproximadamente el 40% de los pacientes se encuentran en esta fase, prevalece también en la primera década de la vida, decreciendo con la edad en un 2% por año (Atías, 1979; Arribada, 1987; Biagi, 1976; Cortez, 1986; Chester, 1986).

3).- FASE CRONICA

Esta fase es más frecuente en adultos, pero también se presenta en niños que logran sobrevivir a la fase aguda. Los síntomas estan relacionados con el daño sufrido en la fase aguda, así como de la localización del parásito a nivel intracelular.

Los órganos o síntomas involucrados tienden a variar de acuerdo a la región geográfica, así en Argentina predomina la forma cardíaca, en Chile los síndromes neurológicos y en Brasil el magacolon, sin embargo en México, los casos crónicos proceden de casi todo el territorio nacional y predominan en los Estados de Oaxaca, Chiapas, Jalisco, Tabasco, Guerrero, Zacatecas, Michoacán, Veracruz y Puebla. La fase crónica se caracteriza principalmente por:

A) Alteraciones cardíacas.

B) Alteraciones digestivas.

A) Alteraciones cardíacas:

La insuficiencia cardíaca tiene evolución progresiva, predominando la descompensación derecha, yugular, hepatomegalia dolorosa y edema de miembros inferiores. Las alteraciones radiológicas se demuestran en un

52% de los casos.

Según Lima y Rassi (1962), las alteraciones electrocardiográficas (ECG) más frecuentes son extrasístoles ventriculares en un 67%, bloqueo de rama derecha en un 20% y bloqueo arterioventricular en un 93%.

La miocardiopatía en la fase crónica es una afección grave y progresiva que esta relacionada con la localización y extensión del tejido fibroso. Así predominan los fenómenos de fibrosis y los infiltrados de células mononucleares. Ante la dificultad del hallazgo de parásitos durante esta fase, se considera hoy que la lesión que mejor caracteriza a esta forma clínica es el aneurisma ventricular el cual se presenta debido a que placas de fibrosis se agrupan en áreas extensas dando a la pared una estructura foliácea. Este se encuentra en una proporción que oscila entre el 52% y 60% de acuerdo a diferentes autores (Anselmi, 1972; Castagnino, 1980; Chester, 1986).

Las fibras miocárdicas con procesos degenerativos ubicados en los focos inflamatorios evolucionan hacia la necrosis, estimulando la proliferación fibroblástica. El tejido fibroso, localizado en pequeñas áreas, es la secuela de un infiltrado celular igualmente, lo cual produce una reacción inflamatoria. Cuando la cantidad de tejido muscular destruido es pequeño, la respuesta de las fibras sanas es suficiente para mantener la dinámica cardíaca; por otro lado el tejido destruido es importante ya que la función cardíaca eficiente se mantiene porque el corazón pone en juego mecanismos de la reserva cardíaca que conducen a la elongación de las fibras, hay dilatación de las cavidades cardíacas según sea la intensidad de el proceso destructivo, por lo cual se encuentran corazones de tamaño y aspecto normal hasta grandes cardiomegalias.

Las alteraciones en endocardio por la presencia de placas de fibrosis y disminución de su motilidad favorecen la formación de trombos. Las fibrosis musculares con procesos degenerativos, aisladas en islotes dentro de focos de tejido fibroso ubicadas en el espesor de las paredes libres, experimentan alteraciones en sus propiedades electrofisiológicas y son el inicio de extrasístoles ventriculares aisladas. A medida que la fibrosis aumenta por destrucción de las fibras musculares, la fuerza de contracción sistólica se mantiene por la elongación de las fibras, lo cual conduce a la dilatación de las cavidades cardíacas y puede permanecer el paciente asintomático. Los signos que pondrían de manifiesto la miocardiopatía serían el crecimiento del corazón y/o signos electrocardiográficos. Cuando la fibrosis se localiza en el sistema de conducción A-V (auriculoventricular), en el endocardio o en la pared ventricular en forma de islotes aislados, el

cuadro clínico se da por las manifestaciones dependientes del síndrome de Stokes-Adams (complicación del bloqueo auriculoventricular completo).

Cuando la dilatación de las cámaras cardíacas llega a los límites críticos de distensión de las fibras, la contractibilidad se ve comprometida, reduciendo su fuerza de contracción sistólica. El volumen sistólico se hace menor, por lo que aumenta la presión diastólica final en las cavidades ventriculares, reduciendo el gradiente de presión entre los grandes vasos y el interior de las cavidades, el recorrido de las válvulas disminuye y determina el apagamiento de los ruidos cardíacos.

La presión arterial sistólica disminuye por reducción de la fuerza de contracción y del volumen sistólico. En este caso el cuadro clínico estará dominado por las manifestaciones de insuficiencia cardíaca derecha y/o izquierda, lo cual es, por lo general índice de la etapa final de la enfermedad.

Algunos corazones chagásicos pueden tener tamaño y forma normal por lo explicado anteriormente, pero la mayoría son marcadamente alargados o casi esféricos. Hay adelgazamiento de la pared muscular especialmente del lado derecho (figura 13). (Anselmi, 1979; Breve Reseña, 1989; Carrada, 1983; Castagnino, 1980; Kreier, 1977).

Entre los estudios para evaluar la función cardíaca están:

- a) Electrocardiografía.
- b) Ecocardiografía y Fonomecanocardiografía.



figura 13: Corazón chagásico. Aumento del grosor de las paredes ventriculares, lo que contrasta con la delgadez de la punta (aneurisma).

c) Estudios hemodinámicos y angiográficos selectivos.

Las alteraciones electrocardiográficas en la miocardiopatía chagásica son:

TRASTORNOS DE LA CONDUCCION

a) Bloqueo aurículo-ventricular.

b) Bloqueo completo.

c) Bloqueo de primer grado.

d) Bloqueo de segundo grado.

e) BRDHH (bloqueo de rama derecha del haz de His).

f) BRIHH (bloqueo de rama izquierda del haz de His).

g) BSARIHH (bloqueo de la subdivisión anterior de la rama izquierda del haz de His).

h) BRDHH + BSARIHH.

TRASTORNOS DEL RITMO

a) Extrasístole ventricular.

b) Extrasístole supraventricular.

c) Bradicardia sinusal.

d) Escape nodal.

e) Ritmo del empalme A-V.

ALTERACIONES

a) Isquemia subepicárdica.

b) Apicolateral.

- c) Zona inactivable anteroseptal.
- d) Zona inactivable posteroinferior.
- e) Zona inactivable lateral alta.
- f) Lesión subepicardica lateral alta.

HALLAZGOS ECOCARDIOGRAFICOS

- a) Hipocinesia generalizada.
- b) Dilatación de cavidades.
- c) Escaso movimiento septal.
- d) Aneurisma apical del ventrículo izquierdo.
- e) Engrosamiento septal y de las paredes lateral y posterior del ventrículo izquierdo (Arribada, 1987; Cortéz 1986).

B) Alteraciones digestivas:

Los órganos involucrados son esófago, estómago, duodeno, yeyuno, c colon y vesícula biliar siendo los más afectados el esófago y el colon, encontrándose con más frecuencia el megaesófago y megacolon formas reportadas en Bolivia, Chile, Perú y México (primer caso de megaesófago en Oaxaca 1984), pero no en todos los países se han verificado como en el caso de Panamá y Venezuela.

Los megasíndromes van acompañados de alteraciones electrocardiográficas como son el daño al miocardio, aunque en la mitad de los casos estudiados el electrocardiograma es normal. La disfunción de estos órganos es por anomalías peristálticas y aperistálticas causadas por la destrucción ganglionar.

Rezende (comunicación personal) con ayuda de un sensor midió los movimientos peristálticos en pacientes con megaesófago y observo que la pérdida de peristálsis ocurre en la porción anterior y progresa descendentemente hasta el esfínter cardíaco. Con este peristaltismo desordenado, el transporte se torna lento irregular y eventualmente se detiene. Se produce estancamiento del contenido, dilatación del órgano e

hipertrófia del músculo (Chester, 1986; Faust, 1975; Kreier, 1977; Rezende, 1984; Suplemento, 1986; Tay-Lara, 1982).

Megaesófago: En este síndrome hay destrucción de ganglios autónomos localizados en la pared visceral, alterando su motilidad con aparición de disfagia que es el síntoma principal del megaesófago y puede dar lugar a la regurgitación de alimentos no digeridos. El tamaño de este llega a ser de dos o a tres veces el calibre normal. Se presenta dolor epigástrico e hipogástrico (Brener, 1973; Carrada, 1983).

Cuando no hay persititismo esofágico, la utilización de los músculos de la deglución para realizar el descenso de los alimentos da lugar a una prominencia de las mejillas y de la región submaxilar debida a hipertrófia.

Los pacientes con megaesófago presentan desnutrición y sufren de frecuentes infecciones del aparato respiratorio, en el caso de los niños la desnutrición altera el crecimiento conduciendo a un verdadero enanismo chagásico. También se ha observado hipertrófia de las glándulas salivales en pacientes con obstrucción del esófago encontrándose en un 25% (figura 14) (Chester, 1986; Faust, 1975; Investigadores de la OMS/OPS, 1974; Salazar, 1982).

Megacolon: Cuando se presenta una reducción de aproximadamente el 55% de las células ganglionares se produce la hipertrofia y dilatación la cual esta localizada en un 80% de los casos en el recto sigmoide.



figura 14: Megaesófago chagásico.

Los síntomas frecuentes son: constipación, meteorismo y dificultad para defecar. Se presenta una dilatación cuya capacidad llega a ser de 30 a 40 litros, hay un extremado engrosamiento (0.5 cm) con una extensión del órgano hasta de 2.0 m. En los estudios de esofagopatías chagásicas se han observado alteraciones tales como: incoordinación sigmoide rectal, hiperactividad a estímulos colinérgicos/acetilcolina, acalasia del esfínter interno del ano (Carrada, 1983; Kreier, 1977).

Existen probables mecanismos acerca del daño que se produce a nivel digestivo. Según Koeberle en 1968 cita que la disfunción de las células ganglionares asociadas con el músculo, la alteración varía de acuerdo a la tolerancia a la denervación. Así las anomalías cardíacas aparecen cuando el 20% de neuronas son destruidas, mientras que la función del esófago puede ser normal con un 80% de neuronas destruidas. Koeberle propone que la destrucción de neuronas es debida a una neurotoxina liberada en tejidos adyacentes o cercanos al "pseudoquistes" cuando este se rompe, produciéndose tal vez una reacción autoinmune (inmunidad celular) (figura 15).

Muñiz y colaboradores, proponen que las lesiones las causan sustancias citotóxicas, histamina u otras sustancias liberadas en el sitio de reacción antígeno-anticuerpo-complemento y posiblemente una reacción

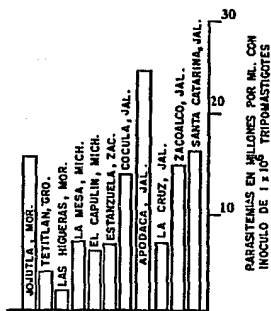


figura 15: Megacolon chagásico.

autoinmune (Castagnino, 1980; Kreier, 1977; Ribeiro y col., 1980; Zavala, 1979).

La patogenia esta estrechamente relacionada con la virulencia de las cepas de *Trypanosoma cruzi*, así como de los tropismos de estas, atacan sistemas orgánicos diferentes por lo que se pueden clasificar como neurotropas, viscerotropas o cardiotropas. Tay y colaboradores (1980) realizan un estudio en el cual se inocularon 1×10^6 tripomastigotes/ml de sangre, vía intraperitoneal, en ratones blancos, determinando el grado de parasitemia en un lapso de 30 días; comprobando que las cepas aisladas de humano tienen una virulencia incrementada, como se ve con las cepas Jojutla y Apodaca, ambas aisladas de sangre humana, al ser comparadas con cepas de triatomíneos como se muestra en la gráfica 1.

Un dato importante es que las cepas que tienen tropismos hacia el corazón fueron aisladas en lugares donde se encontraron casos humanos; mientras que aquellas con tropismo preferente hacia músculo esquelético, con excepción de la cepa Jojutla, no se han encontrado en casos humanos. Con la cepa Cocula se encontraron nidos de amastigotes en todos los órganos y cabe señalar que el corazón tuvo 100% de positividad, por lo cual se dice que es una cepa fuertemente cardiotrópica. En el cuadro 13 se hace una relación de dichas cepas (Tay, 1980).



gráfica 1: Promedios de las parasitemias producidas por las cepas de *Trypanosoma cruzi* en el ratón blanco.

Cuadro 13. CARACTERISTICAS DE LAS ONCE CEPAS DE *Trypanosoma cruzi* AISLADAS EN LA REPUBLICA MEXICANA Y ESTUDIADAS EN EL DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA HUMANA (UNAM)

Localidad de donde se aisló la cepa	Aislada de	En	Viscerotropismo
Tettilán, Guerrero	<i>Triatoma phyllosoma mazzottii</i>	Heces	Cardiotrópica
Estanzuela, Zacatecas	<i>Triatoma phyllosoma intermedia</i>	Heces	Cardiotrópica
Las Higueras, Morelos	<i>Triatoma phyllosoma pallidipennis</i>	Heces	Miotrópica
La Mesa Michoacán	<i>Triatoma barberi</i>	Heces	Cardiotrópica, Miotrópica
El Capulín, Michoacán	<i>Triatoma barberi</i>	Heces	Miotrópica
Jojutla, Morelos	<i>Triatoma barberi</i>	Cultivo	Miotrópica
Cocula, Jalisco	<i>Triatoma barberi</i>	Heces	Cardiotrópica
Sta. Catarina, Jalisco	<i>Triatoma barberi</i>	Heces	Cardiotrópica
La Cruz, Jalisco	<i>Triatoma barberi</i>	Heces	Miotrópica
Zacoalco, Jalisco	<i>Triatoma barberi</i>	Heces	Miotrópica

En el mapa 10: Se muestran las entidades federativas que son afectadas por la enfermedad de Chagas y en los cuadros 14, 15, 16 y 17 se presentan los casos notificados por mes.



mapa 10: Entidades federativas en las que se ha diagnosticado la enfermedad de Chagas aguda y/o crónica con demostración del parásito.

Cuadro 14. CASOS NOTIFICADOS POR ENTIDAD FEDERATIVA Y MES DURANTE 1989

ENE FEB MAR ABR MAY JUN JUL AGT SEP OCT NOV DIC

Distrito Federal		
Aguascalientes		
Baja California N.		
Baja California S.		
Campeche		
Coahuila		
Colima		
Chiapas		
Chihuahua		
Durango		
Guanajuato		
Guerrero	1	1
Hidalgo		
Jalisco	-	11
México		
Michoacán	-	9
Morelos		
Nayarit		
Nuevo León		
Oaxaca		
Puebla		
Queretaro		
Quintana Roo		
San Luis Postosi		
Sinaloa		
Sonora		
Tabasco		
Tamaulipas		
Tlaxcala		
Vcracruz	-	1
Yucatan		
Zacatecas		
TOTAL DE DATOS	1	22
ACUMULADOS		

Cuadro 15. CASOS NOTIFICADOS POR ENTIDAD FEDERATIVA Y MES DURANTE 1988

	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGT	SEP	OCT	NOV	DIC
Distrito Federal	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Agascalientes												
Baja California N.												
Baja California S.												
Campeche												
Coahuila	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Colima												
Chiapas	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1
Chihuahua												
Durango												
Guanajuato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2
Guerrero	-	-	-	-	-	-	3	3	3	3	3	3
Hidalgo												
Jalisco	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1
México												
Michoacán	-	-	-	-	-	-	1	1	3	3	3	3
Morelos												
Nayarit	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Nuevo León	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1
Oaxaca	-	-	7	7	7	7	7	8	9	9	9	9
Puebla	-	-	-	-	-	-	2	2	2	2	2	2
Queretaro												
Quintana Roo												
San Luis Potosí	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1
Sinaloa												
Sonora												
Tabasco												
Tamaulipas												
Tlaxcala												
Veracruz												
Yucatán												
Zacatecas												
TOTAL DE DATOS ACUMULADOS	10	10	18	18	18	18	18	29	31	36	39	4650

Cuadro 16. CASOS NOTIFICADOS POR ENTIDAD FEDERATIVA Y MES DURANTE 1987

	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGT	SEP	OCT	NOV	DIC
distrito Federal												
Aguascalientes												
Baja California N												
Baja California S												
Campeche												
Coahuila												
Colima												
Chiapas	-	-	-	-	-	1	1	22	5	5	5	5
Chihuahua												
Durango												
Guanajuato												
Guerrero	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Hidalgo	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1
Jalisco	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
México	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1
Michoacán	-	-	-	-	-	-	4	14	15	15	15	15
Morelos												
Nayarit												
Nuevo León												
Oaxaca	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1
Puebla												
Queretaro												
Quintana Roo												
San Luis Potosi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Sinaloa												
Sonora												
Tabasco												
Tamaulipas												
Tlaxcala												
Veracruz												
Yucatán												
Zacatecas												
TOTAL DE DATOS ACUMULADOS	0	1	1	1	1	1	1	8	23	27	27	2829

Cuadro 17. CASOS NOTIFICADOS POR ENTIDAD FEDERATIVA Y MES DURANTE 1986

	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGT	SEP	OCT	NOV	DIC
Distrito Federal												
Aguascalientes												
Baja California N.												
Baja California S.												
Campeche												
Coahuila												
Colima												
Chiapas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
Chihuahua												
Durango												
Guanajuato												
Guerrero												
Hidalgo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Jalisco												
México												
Michoacán												
Morelos												
Nayarit												
Nuevo León												
Oaxaca												
Puebla	-	-	-	-	1	1	1	1	-	1	1	1
Queretaro												
Quintana Roo												
San Luis Potosi												
Sinaloa												
Sonora												
Tabasco												
Tamaulipas												
Tlaxcala	-	-	-	-	5	5	5	5	5	5	5	5
Yucatán												
Zacatecas												
TOTAL DE DATOS ACUMULADOS	-	-	-	-	6	6	6	6	6	7	7	88

CAPITULO 11

TECNICAS EMPLEADAS EN EL DIAGNOSTICO

El diagnóstico de la cardiopatía chagásica se apoya en procedimientos parasitológicos directos e indirectos, serológicos e inmunológicos, incluyendo también la histopatología con ciertos métodos inmunohistoquímicos.

Se podrá obtener un diagnóstico certero de la enfermedad de Chagas mediante la integración de los elementos clínicos y paraclínicos, ninguna determinación es por sí sola totalmente confirmatoria, con excepción del aislamiento del parásito en sangre, líquido cefalorraquídeo (LCR) o su demostración en tejido (Castagnino, 1980).

PROCEDIMIENTOS PARASITOLÓGICOS DIRECTOS

EXAMEN DE SANGRE EN FRESCO

Se obtiene una gota de sangre por punción del dedo o del lóbulo de la oreja del enfermo, se deposita entre el portaobjetos y cubreobjetos, adicionándole una gota de solución anticuagulante., E.D.T.A. (ácido etilendiaminotetrácetico). Se observara la motilidad de los tripomastigotes y el desplazamiento de eritrocitos.

Este examen directo es de las técnicas más simples para el diagnóstico parasitológico de casos agudos y congénitos, algunas veces es necesario repetir por mucho tiempo (3 a 8 semanas) para lograr la detección del parásito. Según Romaña esta prueba puede alcanzar una positividad del 50% (Hudson, 1985; Kenneth, 1984; Manson- Bahr, 1983).

MÉTODOS DE CONCENTRACION

A) MÉTODO DE STROUT; Es un perfeccionamiento de la técnica anterior, basado en una doble centrifugación del suero (2000 rpm), luego de la retracción natural del coágulo, seguida de un examen del sedimento mediante microscopía directa. (Segura, 1981).

B) TRIPLE CENTRIFUGACION DE MARTIN-LEBOEUF ROUBAUD; Se utiliza sangre total, su principal ventaja es el ahorro del tiempo en la búsqueda microscópica, concentra el número de parásitos circulantes, es muy valioso cuando ha pasado el período agudo y la parasitemia es baja (Castagnino, 1980).

C) CUANTIFICACION POR UN MICROMETODO; Util en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas aguda o congénita. Se construye una curva de calibración de volumen de sangre (ml) contra la altura de la muestra en tubos capilares; con un volumen de sangre conocido (5,10,15, y 20 ml). La altura de la columna de sangre es medida, los promedios son calculados para cada lote y graficados contra el volumen de sangre.

Para contar los parásitos, los tubos de microhematocrito (de 1 a 6) son llenados con sangre y la altura de la columna es medida, sellada y centrifugada a 3000 g por 40 seg en un rotor de microhematocrito.

Después de centrifugados, los tubos son cortados entre el suero y paquete celular. El suero se coloca entre un portaobjetos y un cubreobjetos y se lee en 400x y los parásitos son contados. Si 100 o más parásitos se encuentran en 100 campos al azar, leyendo en forma diagonal. Los parásitos contados se multiplican por 16 (recíproco de la fracción total de campos microscópicos) y dividido entre el volumen de muestra calculado con la curva de calibración. Si son menos de 100 parásitos, el número de parásitos móviles por volumen de muestra es igual al número de parásitos por μ l.

Por este método se observo una buena concordancia con la cuenta en la cámara de Neubauer en muestras que contienen 10^5 o más parásitos por ml. Con menos de 2.5×10^4 parásitos por ml es más confiable el micrométodo.

Este micrométodo presenta ciertas ventajas como son; el permitir evaluaciones cuantitativas y cualitativas, útil con bajos volúmenes de muestra y bajas parasitemias, minimiza errores por efecto de dilución, rápido (10 a 15 min), fácil y económico especialmente útil en el seguimiento de infecciones experimentales y para la evaluación de la enfermedad así como del tratamiento en humanos (De Arias, 1988).

D) METODO DE LA FITOHEMAGLUTININA; La sedimentación de las células sanguíneas heparinizadas con la adición de fitohemaglutinina ha sido usada como factor de concentración del parásito. De 5 a 10 ml de sangre son extraídos y los glóbulos rojos son aglutinados por la fitohemaglutinina,

el sobrenadante es extraído, centrifugado y el depósito es examinado para la búsqueda de los tripanosomas.

FROTIS EN SANGRE

Es un método auxiliar, recomendado cuando se presentan paroxismos febriles. Se pueden observar las alteraciones de elementos hemáticos.

Para la tinción se pueden emplear colorantes como el de Giemsa, Wright, Romanowsky etc.

Con la tinción de Giemsa, en los tripomastigotes el citoplasma se tiñe de azul, el núcleo y el flagelo de rosa y el cinetoplasto de rojo oscuro. Cuando se tiñe con Romanowsky, el citoplasma del parásito se observa azul, el núcleo de rosa y el cuerpo parabasal rojo oscuro.

Los tripomastigotes pueden distinguirse de otros tripanosomas por su característica forma en C o U y por su prominente quinetoplasto en el extremo final. A continuación se describen dos de las técnicas más usadas.

Técnica de Wright.

- 1) Hacer un frotis y dejar secar.
- 2) Cubrir con el colorante de Wright de 1/2 a 2 min.
- 3) Agregar la solución amortiguadora, dejandola por 6 min.
- 4) Lavar a chorro de agua y dejar secar, observar.

REACTIVOS

Colorante de Wright

Colorante de Wright	2.0 g
Glicerina q.p.	30 ml
Metanol c.b.p.	1000 ml

Solución amortiguadora para el colorante de Wright.

Fosfato disódico	4.539 g
Fosfato monopotásico	5.940 g
Agua destilada	100 ml

De esta solución toma 9.54 ml y aforar a 2 litros con agua destilada, la solución debe quedar a pH 6.40-6.50

Técnica de Giemsa.

1) Hacer un frotis de sangre bien mezclada, recientemente extraída y dejar secar.

2) Sumergir la laminilla en el colorante diluído a 1:50 durante 30 a 45 min.

3) Enjuagar con agua destilada durante 3 a 5 min.

4) Secar al aire y examinar.

Colorante de Giemsa.

Disolver 0.5 g de colorante de Giemsa en polvo en 33 ml de glicerina a 55 °C durante dos horas. Esta solución se mezcla con 33 ml de metanol absoluto, se filtra y se guarda. Para la tinción se mezcla una gota de colorante en un recipiente con 15 gotas de solución amortiguadora pH 6.4.

EXAMEN DE SANGRE EN GOTA GRUESA

Este examen se realiza cuando el *Trypanosoma cruzi* se encuentra en sangre durante las primeras seis semanas de la enfermedad. Este método concentra la mayor cantidad de sangre en un espacio pequeño, para tratar de localizar los pocos tripanosomas que se encuentren circulando. Depositar sucesivamente 3 gotas de sangre mediante movimientos circulares sobre el portaobjetos, dejar secar (otros autores recomiendan no fijar antes de la tinción ya que los hematíes tienen que deshemoglobinarsse durante el procedimiento, ya que esto permite la visión microscopica de las demás estructuras incluidos los parásitos sanguíneos aunque se encuentren en la parte más profunda de la extensión).

Teñir con solución de Giemsa durante 20 a 30 min. Según Romaña, esto permite guardar las preparaciones para enviarles a cierta distancia coloreadas o no, esto último con una tolerancia de 24 a 48 hr, según este autor este método puede alcanzar una positividad del 55% en casos agudos (Castagnino, 1980; Chester, 1986).

BIOPSIA GANGLIONAR

Procedimiento complementario de los anteriores. Esta se puede realizar cuando se presente la puerta de entrada, como son ganglios preauriculares o carotídeos. Cuando la puerta de entrada es ocular se pueden encontrar nidos de amastigotes. Técnica poco recomendable debido a la probable diseminación de la infección.

HALLAZGOS DE LABORATORIO

En una biometria hemática podemos encontrar:

1) Leucocitosis, linfocitosis y neutropenia relativa, aumento de mononucleares y disminución de PMN que cuando desaparece se puede presentar eosinofilia. Los glóbulos blancos tienden a incrementarse a medida que se agudiza la enfermedad.

2) Disminución de los glóbulos rojos.

3) Velocidad de sedimentación globular prolongada..

4) Hipoproteinemia, hipoalbuminemia e hipergama globulinemia a expensas de las fracciones α -2 y γ .

5) Puede encontrarse elevación moderada de las transaminasas séricas, proteinuria pasajera, elevación inespecífica de la proteína C reactiva y de anticuerpos heterófilos.

Este perfil puede plantear un diagnóstico diferencial con enfermedades como la mononucleosis infecciosa, toxoplasmosis, rubéola, enfermedad de Hodgking, tifoidea, brucela y sífilis (Bergolio, 1974; Carrada, 1983; Faust, 1975).

PROCEDIMIENTOS PARASITOLÓGICOS INDIRECTOS

INOCULACION EN ANIMALES DE LABORATORIO

Es de gran importancia la inoculación en animales de laboratorio para lograr la detección de la enfermedad de Chagas, como ya fué mencionado.

EXAMEN DE LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO

Cerisola y colaboradores en 1977, demostraron que aun en ausencia de manifestaciones neurológicas durante la fase aguda de la cardiopatía chagásica es posible hallar tripanosomas en LCR, es un método con ventaja sobre el examen directo, cuando hay pocos parásitos.

Freitas en 1953, tuvo éxito en el aislamiento de tripanosomas en el LCR mediante la inoculación en animales de laboratorio, el parásito penetra en el SNC durante la fase aguda inicial, se ha observado una relación entre el aumento de células y proteínas en LCR con los parásitos hallados.

En la fase crónica las manifestaciones pueden quedar opacadas por las más aparentes manifestaciones cardíacas, el hallazgo de parásitos no significa afectación del SNC cuando se encuentran los parásitos en forma aislada.

XENODIAGNOSTICO

Por este método se permite el desarrollo evolutivo en el hospedero, el cual absorbe durante cierto tiempo la sangre del paciente. Los triatominos no transmiten a su descendencia el tripanosoma. Se cultivan los triatominos desde el estado de huevo, para tener la seguridad de que las ninfas no esten parasitadas, siendo alimentadas con sangre de un animal no receptivo como es el caso de la paloma.

Fué utilizado inicialmente por Brumpt en 1914, Habiendo desde entonces muchas variaciones del procedimiento; Util en la fase aguda, crónica y congénita con diferencias en cuanto a porcentajes de positividad, siendo de un 85% para formas agudas, 49% para las crónicas y de un 80% para las congénitas.

El método consiste en el uso de una caja que contenga entre cinco y diez ninfas correspondientes al tercer o cuarto estadio, previo ayuno de entre tres y cuatro semanas. Se aplica sobre la piel del individuo sospechoso, dejando que pique durante 30 min por unos tres días. La lectura del xenodiagnóstico se realiza a los 30, 60 y 90 días, después se examinan las deyecciones.

Rohweder y colaboradores (1940, 1945), demostraron experimentalmente que el momento más adecuado para la realización de esta técnica en un paciente en fase aguda es a los veinte días de enfermedad. Este procedimiento es muy importante en la fase crónica debido a la poca positividad de métodos parasitológicos directos, registrando que en casos crónicos puede ser positivo de por vida.

Para un buen rendimiento del xenodiagnóstico se recomienda usar una cepa del vector que más predomine en el lugar de procedencia del probable chagásico. Se ha estudiado la posibilidad de realizar el xenodiagnóstico empleando triatominos de gran tamaño, como el *Dipetalogaster maximus*. Esto permitira efectuar estudios en una sola ninfa de gran tamaño, facilitando el estudio más frecuentemente a poblaciones más numerosas. El xenodiagnóstico se utiliza para valorar la efectividad de drogas parasiticidas que se emplean actualmente (Morilla, 1986; Rotberg, 1976; Torno, 1981; Zavala, 1979).

XENODIAGNOSTICO ARTIFICIAL

Debido a que algunos pacientes presentan erupciones eritematosas en el sitio de picadura de los insectos, principalmente por *Rhodnius prolixus*, se

ha implantado el uso del xenodiagnóstico artificial, el cual consiste en alimentar a las chinches con sangre del paciente a través de una membrana artificial.

Cedillos y colaboradores en 1982; realizaron un estudio sobre el diagnóstico artificial, comparando diferentes tipos de membranas así como de anticoagulantes para favorecer a temperatura ambiente (20 °C a 28 °C) un mayor consumo de sangre. Se alimentó a *Rhodnius prolixus* con diferentes tipos de membranas (preservativo, tripa de ganado vacuno), según los resultados la combinación de tripa de ganado vacuno y heparina fue la más efectiva con un consumo promedio de sangre del 1.607 g en comparación con los resultados obtenidos con preservativos y heparina de 0.935 g, tripa de ganado vacuno y citrato de sodio de 0.890 g y de preservativo y citrato de sodio de 0.463 g.

La combinación más efectiva, resultó ser muy semejante al consumo promedio de sangre consumida en el xenodiagnóstico natural. Es de gran utilidad el uso del xenodiagnóstico artificial en países donde prevalece *Rhodnius prolixus*, puesto que esta especie en humanos provoca reacciones alérgicas de variada intensidad y frecuencia. Hay ciertos factores que influyen en la ingestión de sangre por los triatominos en el xenodiagnóstico artificial como son:

a) Pérdida de calor de la sangre extraída, así como textura de las membranas artificiales.

b) Dispersión de los insectos durante la manipulación, esta técnica está descrita como sencilla práctica y menos traumática que el xenodiagnóstico natural.

También hay ciertos desacuerdos en cuanto al uso del xenodiagnóstico como se mencionan a continuación.

(1) El que sea aceptado como uno de los métodos parasitológicos más sensibles para descubrir *Trypanosoma cruzi* en pacientes con infección aguda, pero no existe igual acuerdo para las infecciones crónicas.

(2) Así mismo existen criterios contradictorios en relación con el número mínimo y estado ninfal más apropiado, así como el lapso transcurrido después de la alimentación de los triatominos.

(3) Mientras que algunos investigadores recomiendan el examen microscopico individual del contenido intestinal de las ninfas utilizadas, o bien el examen de la mezcla del contenido intestinal de todos los triatomos, otros aconsejan el examen mediante la homogeneización y centrifugación de todos los insectos usados (cuadro 18)(Cedillos, 1982).

Cuadro 18. ESTUDIO COMPARATIVO DE METODOS PARASITOLOGICOS EN 21 PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS AGUDA

METODO	POSITIVIDAD	
	No	%
Examen directo	11	52.4
Triple centrifugación	10	47.6
Strout	20	95.2
Xenodiagnóstico	21	100.0

CULTIVOS

Los métodos de cultivo son considerados más sensibles que el frotis directo y pueden detectar parasitemias en el estado agudo de la enfermedad. *Trypanosoma cruzi* se cultiva (tres a seis semanas) en forma de epimastigotes en medio líquido o difásico.

Los requerimientos mínimos de cultivo son hemina, ácido ascórbico y ciertas sustancias no identificadas que se encuentran en el suero, los organismos crecen a temperaturas de 22 a 24 °C. Entre los medios de cultivo más empleados se encuentran el medio de NNN (Novy, Nicolle y McNeal), medio de Tobie, Von Brand y Mehlman, medio de Nakamura, medio de Warren, medio de LIT (infusión triptosa hígado), medio de Kelser, medio de Senekje etc.

Medio NNN (Novy, Nicolle y McNeal).**Método.**

A un matraz con 900 ml de agua destilada más 14.0 g de bacto agar y 6.0 g de NaCl, hervir y neutralizar con NaOH 1N usando un papel indicador. Poner 150 ml del medio en 6 matraces Erlenmeyer, esterilizar en autoclave por 1/2 hr a 12 libras.

Almacenar en un refrigerador, colocar uno de los matraces con 150 cc del medio básico en un baño maría a ebullición y una vez fundido el agar enfriar de 50 a 55 °C, usando técnica estéril, añadir 10 ml de sangre desfibrinada, mezclar y pasar 50 ml del medio a tubos e inclinar, ya solidificado sellar con parafina los tapones de algodón, refrigerar por 12 hr después de incubar a 37°C por 24 hr para probar la esterilidad.

Material

Bacto agar	14.0 g
Cloruro de sodio (NaCl)	6.0 g
Solución de hidróxido de sodio (NaOH)			1.0 N
Agua destilada		900 ml
Sangre desfibrinada de conejo o cobayo	...		10 ml

Medio de Tobie, Von Brand y Mehlman para *Trypanosoma cruzi* (1950).
Este medio esta constituido de una fase sólida y una fase líquida.

Método.

Disolver todo en el agua y se ajusta el pH de 7.2 a 7.4, utilizando para esto la dilución de hidróxido de sodio, esterilizar, enfriar y cuando el medio este de 50 a 55 °C, agregar 25 ml de sangre por cada 75 ml del medio. Antes de agregar la sangre inactivarla a 56 °C, durante media hr. El medio con la sangre se reparte en tubos o en matraces; los tubos se colocan inclinados para que solidifiquen, se pueden dejar verticalmente.

Material.

a) Fase sólida.

Bactobeeff (Difco)	1.5 g
Bacto peptona (Difco)		2.5 g
Bacto agar (Difco)	7.5 g..
Cloruro de sodio		4.0 g
Agua destilada		500.0 ml

b) Fase líquida:

Cloruro de sodio	8.0 g
Cloruro de potasio	0.2 g
Cloruro de calcio	0.2 g
Fosfato monopotásico		0.3 g
Glucosa	2.5 g
Agua destilada	1000.0 ml

Se disuelve todas las sustancias en el agua, se lleva al autoclave para esterilizar, se puede agregar antibiótico si se desea, agregar esta solución a los matraces como fase líquida.

Medio de Nakamura.

Este medio es muy eficaz para el crecimiento de *Trypanosoma cruzi*; se obtiene paquete de promastigotes.

Método.

Mezclar todas las sustancias con el agua, agregar la sangre y mezclar perfectamente, sin dejar grumos con el extracto de hígado. Se llenan los tubos de diálisis, los cuales se han anudado en un extremo después de llenos se anuda el otro extremo, es necesario no dejar burbujas en los tubos de diálisis. Cada uno de los tubos llenos se introducen en matraces Erlenmeyer, colocando como sobrenadante solución salina isotónica cubriendo perfectamente el tubo de diálisis. Se esterilizan los matraces así preparados y se inoculan (Kenneth, 1984; Manson-Bahr, 1983; Salazar y De Haro, 1980).

Material.

Extracto de hígado	20.0 g
Cloruro de sodio	8.0 g
Fosfato trisódico	20.0 g
Cloruro de potasio	8.0 g
Agua destilada	1000.0 ml
Sangre humana	1000.0 ml
Tubo de diálisis	el necesario

PRUEBAS SEROLOGICAS

Los métodos de diagnóstico serológico se utilizan preferentemente en la etapa crónica de la enfermedad cuando la parasitemia es escasa y el nivel de anticuerpos determinables alcanza niveles de crecimiento elevados.

REACCION DE FIJACION DEL COMPLEMENTO (RFC)

En 1913 Guerrero y Machado, describieron la aplicación de esta técnica implantandose desde entonces como un método clásico de diagnóstico serológico de la infección chagásica. En esta prueba intervienen dos reacciones que compiten por activar al complemento.

Antígeno (Ag) + Anticuerpo (Ac) del parásito.	+ Anticuerpo (Ac) en suero del paciente	REACCION PRINCIPAL
--	--	-------------------------------

Complemento de cobayo

Eritrocitos de carnero (Ag)	+ Anticuerpos (Ac) contra los eritrocitos de carnero (hemolisina)	SISTEMA INDICADOR
--------------------------------	---	------------------------------

En la reacción principal se determina si están presentes en el suero de pacientes chagásicos los anticuerpos. El suero debe descomplementarse (56 °C por 30 min). Si los anticuerpos contra el parásito están presentes en el suero del paciente, reaccionarán con el antígeno (*Trypanosoma cruzi*) consumiendo el complemento que es adicionado. Como el sistema hemolítico depende de la presencia del complemento en este caso no habrá hemólisis.

Si hay anticuerpos frente al parásito en el suero del paciente, el complemento estará disponible para reaccionar con el complejo formado por los anticuerpos específicos a los eritrocitos de carnero, en este caso habrá hemólisis; las reacciones que se llevan a cabo son:

Ag + Ac + C" (fijación del complemento)	+ Eritrocitos sensibilizados NO HEMOLISIS.
Ag + C" (no fijación del complemento)	+ Eritrocitos sensibilizados HEMOLISIS.

Ac + C" (no fijación del complemento) + Eritrocitos sensibilizados **HEMOLISIS.**

NOTA: C", complemento.

La hemólisis del sistema indicador (eritrocitos de carnero sensibilizados) es una medida del complemento que no ha sido fijado por el sistema problema, ya sea por falta de alguno de los componentes del sistema o porque alguno de ellos se encuentre en una concentración muy baja. De tal manera que aquellos tubos en los que se presente hemólisis serán indicativos de la falta de algunos de los componentes del sistema problema por lo tanto el título del suero problema será el valor inverso de la máxima dilución que aún permita la fijación del complemento, es decir de hemólisis.

Para titular el suero inmune por fijación del complemento, es necesario conocer la cantidad exacta de reactivos que se van a utilizar en la prueba. Así habrá que titular el complemento y los anticuerpos antieritrocitos, en tanto que los eritrocitos y el antígeno se cuantifican durante la preparación. La interpretación de los resultados se determina por la dilución en que se produce el 50% de inhibición de la hemólisis. En caso de que esto no sea posible se tomará la máxima dilución en que se observa inhibición completa de la hemólisis.

La desventaja de esta reacción es que por tratarse de una técnica relativamente complicada, que requiere de óptimos antígenos y consumo de tiempo, resulta a veces inaplicable en los laboratorios de escasos recursos.

Se ha estudiado la diferenciación de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli* en el intestino de *Rhodnius prolixus*, en base al comportamiento de estos flagelados frente a la actividad lítica del complemento.

Se infectaron *Rhodnius prolixus* con *Trypanosoma cruzi* (cepa molino) o *Trypanosoma rangeli* (cepa San Agustín) y las formas intestinales de desarrollo de los flagelados se incubaron con suero normal de cobayo (suero en el que se ha encontrado una gran cantidad de complemento) durante una hora a 20 °C; se compararon los resultados de la actividad lítica del complemento del suero de cobayo sobre las diferentes formas de las dos especies de tripanosoma por recuento en hemocitómetro de Neubauer antes y después de la incubación y por fróntis teñidos con giemsa.

Según los resultados todas las formas intestinales de *Trypanosoma rangeli* fueron resistentes a la actividad lítica del complemento y con *Trypanosoma cruzi* se observó que las formas de amastigotes, epimastigotes fueron lisadas

por el complemento, con excepción del 1% de estos últimos sin embargo los tripomastigotes quedaron intactos y activos después de la incubación.

Según De Alessandro y Mandel, la presencia de *Trypanosoma rangeli* a nivel del postmesenteron es más frecuente que la de *Trypanosoma cruzi* (56% a 83% contra un 53%) y en la ampolla rectal más frecuentemente *Trypanosoma cruzi* que *Trypanosoma rangeli* (97% contra 16% a 52%).

Por estos estudios se sugiere que el uso del suero de cobayo es de utilidad para el examen del contenido intestinal de los vectores, utilizados en el xenodiagnóstico o en estudios epidemiológicos, en especial en aquellos en que el estudio morfológico no presenta diferenciación entre las dos especies de tripanosomas (Merinkelle, 1985; Morilla, 1986; Sánchez, 1971).

REACCIONES DE AGLUTINACION

La aglutinación es una reacción inmunológica que se efectúa cuando se combinan dos antígenos particulados con sus anticuerpos específicos. En esta prueba no se lleva a cabo una cuantificación exacta de anticuerpos, y los resultados solo se expresan en función de la dilución mayor del suero que aún permite la observación de un aglutinado lo cual se conoce como título del suero.

Las reacciones de aglutinación se dividen en:

- 1) **Activa (directa)**; los antígenos que intervienen en la reacción son componentes naturales de la partícula (bacterias, levaduras, glóbulos rojos y linfocitos).
- 2) **Pasiva (indirecta)**; los antígenos son acoplados en forma artificial a partículas que solo funcionan como soportes. Estas son glóbulos rojos, partículas de poliestireno (látex), y bentonita.

En el caso de utilizar glóbulos rojos se lleva a cabo una reacción de hemoaglutinación (RHA), y es capaz de detectar cantidades muy pequeñas de anticuerpos, de 0.02 a 0.04 μ g de proteína de anticuerpo. (Morilla, 1986). Al tratar glóbulos rojos de cordero, conejo, humano de tipo sanguíneo "O" con una solución diluida de ácido tánico, adquieren la propiedad de adsorber proteínas sobre su superficie de tal manera que dichos eritrocitos cubiertos con proteína son aglutinados en presencia de anticuerpos específicos contra las proteínas adsorbidas (Morilla).

En esta prueba se debe tener cuidado para controlar las reacciones inespecíficas, lo que hace necesario utilizar controles adecuados. Los sueros a probar se descomplementan y luego se adsorben con un volumen igual de eritrocitos, con objeto de eliminar anticuerpos heterófilos. Para obtener

resultados reproducibles, la concentración de eritrocitos a sensibilizar con antígeno debe estar estandarizada..

Para conocer el título de anticuerpos en un suero, se efectúan diluciones seriadas de éste en un diluyente apropiado y luego se añaden cantidades constantes de una suspensión de eritrocitos sensibilizados con antígeno específico. La dilución más alta de suero que provoque una clara aglutinación es considerada como punto final de la reactividad y representa el título de anticuerpos en suero.

La reacción de hemaglutinación se realiza con extractos de cultivo de *Trypanosoma cruzi*, glóbulos rojos de cordero, tratados con ácido tánico y posteriormente conjugados con el antígeno específico. Habitualmente se utilizan diluciones de 1:4 a 1:4000, y se considera la positividad desde el título 1:16. Este título fue considerado de diagnóstico por obtenerse en numerosos pacientes chagásicos con xenodiagnóstico positivo y por no dar aparentemente reacciones falsas positivas.

Durante la etapa aguda, el rendimiento de RHA es bajo. De acuerdo con Cerisola y colaboradores (1971), su positividad es del 30% en el primer mes, para subir al 80% en tres meses. Observaron también que en cinco pacientes con enfermedad de Chagas en la etapa aguda la RHA se hizo positiva en el 100% de los casos solo a los seis meses.

Ventajas de la reacción de hemaglutinación.

Es una técnica sensible ya que de 280 sueros confirmados por xenodiagnóstico, con esta prueba se obtuvo un 98.2% de positividad siendo más alta que la reacción de fijación de complemento (93.4%).

Es una técnica específica (detecta más específicamente las inmunoglobulinas IgG que las IgM) ya que ha resultado negativa tanto en individuos sanos como en sifilíticos, en enfermos de fiebre tifoidea, de paratifoidea A, paratifoidea B y en personas con toxoplasmosis.

La modificación de RHA es la reacción de hemaglutinación rápida (RHAr). La RHAr se realiza según el método de Knierim y Rubinstein (1970). Se utilizan glóbulos rojos humanos grupo "O". El antígeno es el mismo que en la RHA pero más concentrado. La lectura se realiza después de dejar en contacto una gota de suero con una gota de suspensión de eritrocitos conjugados con el antígeno de *Trypanosoma cruzi* durante tres minutos. La RHAr presenta la misma sensibilidad que la RHA para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. La única ventaja es que es más rápida, que la RHA.

Cuando realizaron la reacción de aglutinación directa (RAD) se utilizaron microplacas, diluyendo el suero desde 1:2 a 1:4096. A cada dilución se le agregó una gota de antígeno 1.5×10^8 parásitos/ml (concentración llevada a cabo con solución amortiguadora con fosfatos, pH 7.2 y formolada al 1%). Se agitó y se dejó a temperatura ambiente de 4 a 5 hrs, leyendose después de este tiempo.

La reacción de RHA se adaptó también a microplacas con diluciones del suero de 1:2 hasta 1:4096, utilizando a la reacción de fijación del complemento (RFC) como reacción patrón de positividad. El antígeno en las dos reacciones se preparó según Maeckelt (1960).

De 342 sueros examinados por estas dos técnicas se comprobó que entre la RHA y la RAD, ésta última fue menos específica, ya que de los 342 sueros que fueron negativos por la RFC, 290 (84.7%) también fueron negativos para la RHA, mientras que solo 38 (11.1%) fueron negativos para la RAD.

Reacción de aglutinación con látex (RAL).

Las partículas de látex pueden fijar algunas fracciones antigénicas de *Trypanosoma cruzi*. En la reacción, las partículas de látex se unen a un antígeno representado por el sobrenadante de la lisis de epimastigotes, poniéndose en evidencia anticuerpos del tipo IgG e IgM.

La técnica de reacción es simple y rápida. Se colocan volúmenes iguales de suero previamente inactivado y del reactivo. Se agita siete minutos, realizar lectura microscópica con luz intensa. Según el tamaño del grumo se cuantificó de 1-4 cruces.

Con respecto al período preserológico de este método se ha observado que en el día cero hay una positividad del 37.5%, la RHA del 40.5%, y la prueba de inmunofluorescencia indirecta del 84.3%.

La reacción de inmunofluorescencia indirecta es el método más sensible para la etapa aguda de la infección y le sigue la aglutinación de látex, método que presenta una ventaja fundamental sobre la RHA que es una simple técnica, ya que no requiere mantener listas las preparaciones de glóbulos rojos tratados, que en esta reacción son remplazados por las partículas de látex. Se efectuó un estudio de especificidad de este método con respecto a otras enfermedades y con sujetos normales. Entre las que figuraban: tripanosomiasis africana, Leishmaniasis cutánea, entre otras; fiebre amarilla, sífilis y psitacosis concluyéndose que la inespecificidad sólo se presentó en un 3.1% con respecto a sueros correspondientes a otra patología

no chagásica (Castagnino, 1980; Knierim, 1973; Morilla, 1986; Vattuone, 1971).

REACCION DE INMUNOFLOURESCENCIA

La inmunofluorescencia es conocida como técnica de anticuerpos fluorescentes, en donde al igual que otras técnicas inmunológicas se llevan a cabo reacciones antígeno-anticuerpo. Los anticuerpos se conjugan químicamente a los fluorocromos, sin destruirse su especificidad inmunológica, y cuando se ponen en contacto con el antígeno homólogo se produce la reacción antígeno-anticuerpo. Al observarse al microscopio de luz ultravioleta, el complejo emite un color fluorescente que dependerá del fluorocromo empleado para conjugar los anticuerpos.

La inmunofluorescencia se puede realizar por:

A) Método directo.

En esta técnica se aplican unas gotas del conjugado diluido sobre el antígeno adherido por lo general a un portaobjetos incubado en una cámara húmeda por un período de diez minutos; una hora a temperatura de 25 °C; la temperatura de la estufa a 37 °C también proporciona buenos resultados. Las cámaras húmedas evitan que la muestra se reseque, lo que provocaría la presencia de cristales colorantes, difíciles de remover por lavado y quedarían lecturas falsas.

Una vez incubada la muestra se lava en solución amortiguadora fosfatada, por diez minutos, finalmente se lavan las muestras por inmersión en agua destilada, se secan y se montan.

Los anticuerpos específicos depositados sobre los antígenos aparecerán con fluorescencia amarillo-verdosa bajo la luz ultravioleta del microscopio, cuando se ha empleado alguna sal de fluoresceína.

Ventajas

Se emplea un solo reactivo de tinción. Una vez que el conjugado ha sido titulado y evaluado las reacciones requieren un mínimo de controles para establecer la especificidad. La reacción se esquematiza en la figura 16.

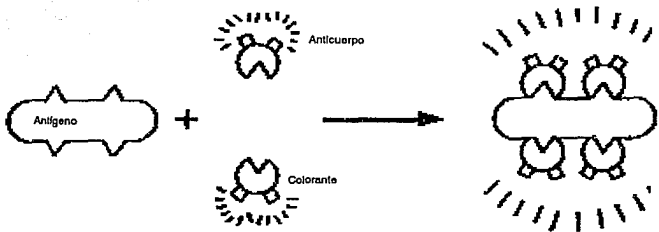


figura 16: Tinción fluorescente. Método directo.

B) Metodo indirecto o reacción de inmunofluorescencia indirecta (RIFI).

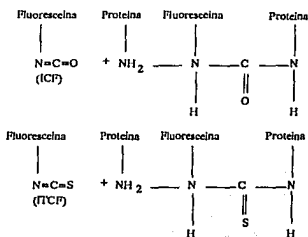
En 1959 Fife y colaboradores utilizaron por primera vez esta técnica para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas empleando tripanosomas de cultivo como antígeno y una antigamaglobulina como anticuerpo, realizando la reacción en tubos.

En 1963, emplearon con éxito tripanosomas de cultivo fijados a láminas portaobjetos. De esta manera se obtuvo un medio práctico, fácil de ejecutar y sobre todo económico, además de utilizar cantidades pequeñas de sangre, lo que es de gran valor para el diagnóstico en recién nacidos y lactantes.

Camargo en 1966, Alvarez y colaboradores Cerisola y colaboradores 1969; han demostrado que la reacción de inmunofluorescencia indirecta es una técnica más sensible y específica que las reacciones de hemaglutinación y RFC. Es una técnica usada de rutina en algunos laboratorios en donde se realiza el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.

En la inmunofluorescencia indirecta se utilizan colorantes como el isocianato de fluoresceína (ICF) y el isotiocianato de fluoresceína (ITCF) que son los más empleados con éxito como marcadores de proteínas.

La reacción de conjugación del colorante a la proteína se da por medio de la sal con el grupo amino libre principalmente el de las lisinas.



La fluoresceína se conjuga mejor por medio de la sal isotiocianato. El compuesto puro, cristalino resulta caro pero proporciona mejores resultados, se emplea raramente por su inestabilidad ya que su preparación requiere condiciones especiales.

En este método los anticuerpos que van a reaccionar con un antígeno específico son por sí mismos antígenos que reaccionarán con un conjugado específico contra inmunoglobulinas. Si un antisuero contra globulinas de conejo que ha sido preparado de cabras se marca con fluoresceína, será capaz de reaccionar con las inmunoglobulinas de conejo, aún, si estas últimas están unidas a un antígeno. Por este mecanismo, el antígeno se detectará como fluorescente aunque el primer anticuerpo no este conjugado.

El procedimiento se lleva a cabo con unas gotas del antisuero específico sin conjugar, son colocadas sobre la muestra de antígeno e incubada por 15 a 60 min. Las laminillas son lavadas, enjuagadas y secadas. La apariencia microscópica del antígeno teñido por este método es semejante a la observada en método directo (figura 17).

Ventajas

Obteniendo los conjugados anti-inmunoglobulinas de diferentes especies no es necesario conjugar inmunoglobulinas específicas contra diferentes antígenos.

Se aumenta la sensibilidad, dado que la proporción de combinación molecular de un anticuerpo para un antígeno es por lo regular mayor de uno y puede ser hasta diez, la capa intermedia de anticuerpos sin conjugar,

multiplica el número de sitios a los cuales los marcadores fluorescentes pueden unirse.

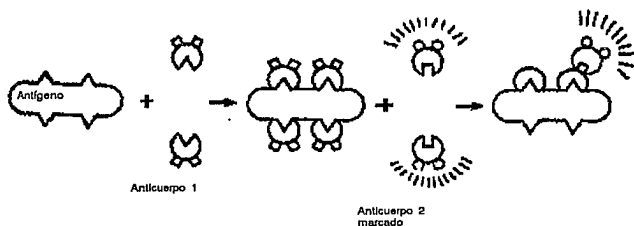


figura 17: Tinción fluorescente. Método indirecto

Preparación del conjugado

Un suero completo puede usarse para la preparación del conjugado pero hay mejores resultados conjugando sólo los anticuerpos. La fracción de globulinas puede separarse de otras proteínas del suero por saturación y precipitación con sulfato de amonio, fraccionamiento con etanol o por cromatografía con dietil-aminoetil-celulosa. La cantidad de colorante requerido para la conjugación se calcula en proporción a la cantidad de globulinas en solución; el contenido de nitrógeno purificado de las globulinas puede ser determinado por el método de micro Kjeldhal o por reacción cuantitativa de Biuret.

Después de la conjugación, cualquier exceso de colorante o precipitado que pudiera formarse en solución es removido por centrifugación. Para eliminar todo el material fluorescente que no reaccionó con las globulinas, puede utilizarse la filtración en columnas cromatográficas con gel de Sephadex o la diálisis con soluciones fosfatadas y la extracción con carbón.

En la reacción de inmunofluorescencia se fija el antígeno del *Trypanosoma cruzi* obtenido de cultivos en portaobjetos. Estos pueden utilizarse de

inmediato o guardarse por varias semanas a -20°C sin que se pierda su capacidad antigénica (Morilla, 1986; Stagno, 1971, 1972).

Técnica de la reacción

Los portaobjetos preparados se sacan del congelador y se dejan secar a temperatura ambiente durante una hora, con pipeta pasteur se colocan los sueros en diluciones crecientes en los respectivos cuadros del portaobjetos y se incuban durante una hora a 37°C en bandeja cubierta con papel filtro húmedo. Se lavan dos veces por 10 min con solución salina tamponada y se secan con papel filtro. Con jeringa de tuberculina, se coloca la antigamma globulina en cada cuadrado. En seguida las láminas se incuban nuevamente a 37°C durante una hora y se lavan dos veces por espacio de 10 min con solución salina tamponada. Por último las láminas se lavan durante 5 min en solución fisiológica tamponada que contiene azul de Evans la dilución que debe usarse es de 1:8000.

En la técnica de inmunofluorescencia indirecta la lectura microscópica se ha hecho mediante el empleo de un microscopio de luz ultravioleta, las muestras se consideran positivas cuando se encuentran tripanosomas con fluorescencia característica, es decir coloración verde brillante, especialmente marcada en toda la periferia del parásito, incluyendo el flagelo. Se ha observado que la intensidad de la fluorescencia decrece a medida que aumenta la dilución del suero, apreciación que se ha esquematizado con la siguiente escala: + + + +, + + +, + +, +, -. Se ha interpretado el título final como el valor recíproco de la mayor dilución capaz de dar fluorescencia. El título que han considerado positivo algunos autores es de 1:16 en adelante (De Sanchez, 1972; Stagno, 1971).

PRUEBAS INMUNOENZIMATICAS

El análisis inmunoenzimático (AIE) se clasifica en:

I) Análisis inmunoenzimático heterogéneo; El antígeno o el anticuerpo conjugado con la enzima es separado del complejo enzima-antígeno-anticuerpo, antes de medir la actividad enzimática..

II) Análisis inmunoenzimático homogéneo; En el cual la actividad enzimática del antígeno marcado es medida por la presencia del complejo antígeno-anticuerpo.

En ambos casos es posible medir antígenos o anticuerpos y el procedimiento y lectura se pueden realizar sin equipo especializado, o bien puede llevarse a una completa automatización. El análisis de la enzima

ligada a un inmunoabsorbente inerte (ELISA) o "Enzyme Linked Immunosorbent Assay" corresponde a un AIE heterogéneo, en donde el antígeno o el anticuerpo primero se fija a un soporte inerte y luego se hace reaccionar con el antígeno o anticuerpo correspondiente, que estará marcado con una enzima (conjugado); se lava el conjugado que no reaccionó y se mide la hidrólisis de la enzima sobre su correspondiente sustrato. Por lo regular se determina el grado de transformación de un sustrato incoloro a un producto coloreado por medio de un colorímetro, espectrofotómetro o en un equipo automatizado.

El AIE heterogéneo se utiliza para medir o detectar sustancias de gran peso molecular (sobre 10,000) y el AIE homogéneo cuantifica anticuerpos en contra de sustancias con bajo peso molecular, como son drogas (opio, barbitúricos, anfetaminas), niveles terapéuticos de algunos fármacos (lidocaína, fenobarbital), etc.

Las técnicas de ELISA también se dividen en competitivas y no competitivas, dependiendo de que el antígeno libre y el antígeno ligado a una enzima o fijado a una fase sólida compitan por un número limitado de sitios activos de anticuerpos, o depende si el antígeno o anticuerpo a medir se le permite reaccionar con un exceso de reactante inmune.

El análisis no competitivo de un sólo sitio se emplea para antígenos monovalentes y la técnica del emparejado o sandwich de dos sitios se aplica sólo para antígenos bivalentes o polivalentes. Los métodos más usuales son los que se mencionan a continuación.

a) Método del emparejado o sandwich.

En este caso el anticuerpo se encuentra inmovilizado y además en exceso, el cual se incuba como un control o muestra en la que se supone se encuentra el antígeno, después se lava el complejo antígeno-anticuerpo inmovilizado, se incuba con un exceso de anticuerpo conjugado con la enzima que se une a los sitios antigénicos remanentes. Este segundo anticuerpo se puede usar sin marcar y en este caso se usaría un tercer anticuerpo específico para la inmunoglobulina de la especie animal del segundo anticuerpo. En ambas variantes la concentración del producto producido por la hidrólisis de la enzima, es directamente proporcional a la concentración del estándar o del antígeno a probar (figura 18).

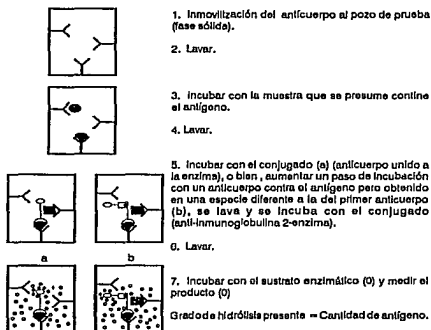


figura 18: Método del emparedado sandwich

b) Método indirecto.

El antígeno es fijado o inmovilizado en un soporte de fase sólida, se incuba con el suero que contiene el anticuerpo, se lava y se añade el conjugado, que consiste en anti-inmunoglobulina conjugada con la enzima de tal manera que reaccione contra el anticuerpo del complejo primario antígeno-anticuerpo, se lava y se adiciona el sustrato; la cantidad de

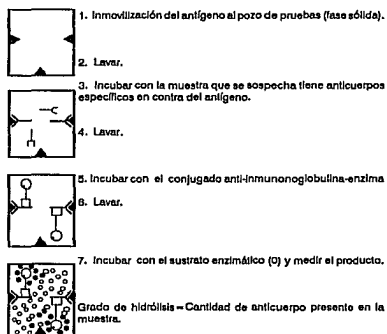


figura 19: Método indirecto.

conjugado que se unió al primer anticuerpo se mide por la cantidad de sustrato degradado (figura 19)

e) Detección del antígeno por el método competitivo del antígeno marcado.

En este método el anticuerpo es inmovilizado en un soporte de fase sólida. Se adiciona una solución que contenga antígeno y antígeno conjugado con la enzima, se incuban y se lavan; la cantidad de antígeno conjugado con la enzima que reaccionó con el anticuerpo es medido por la hidrólisis del

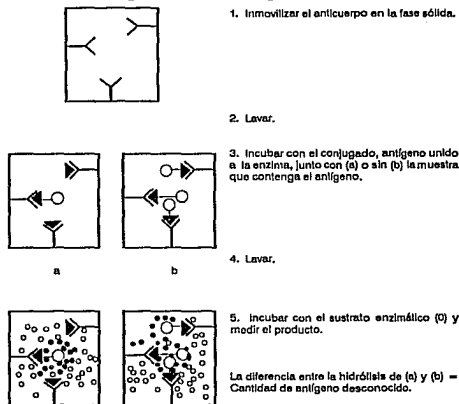


figura 20: Método competitivo del antígeno marcado.

sustrato. Mientras más antígeno se encuentre en la solución desconocida, menos antígeno marcado reaccionará con el anticuerpo (figura 20). En la enfermedad de Chagas se ha utilizado el método de Voller y colaboradores (1975), la reacción se lleva a cabo en placas de poliestireno para microtitulación las cuales fueron sensibilizadas con antígeno soluble de *Trypanosoma cruzi* por 18 horas a 4 °C, lavadas y almacenadas a -20 °C hasta utilizar. El suero se diluye, con buffer fosfato salino pH = 7.4 + Tween 20 al 1% (PBS-Tween), Utilizando 100 ul de esta dilución para cada ensayo. Las placas se incubaron a 37 °C durante 2 hr . Luego se lavaron para agregar a

todos los casos 100 μ l de anti-gama globulina humana marcada con fosfatasa alcalina aunque en otros procedimientos también utilizan la peroxidasa de rabano, posteriormente se incuba a 4 °C por 18 hr , las placas se lavan y a cada muestra se agrega como sustrato cromogénico 100 μ l de p-nitrofenil fosfato, incubar una hora a 37 °C, después de tener la reacción con 50 μ l de NaOH 3.0 M. Se lee en un espectrofotómetro y la absorbancia confiable es de 0.64 y 1.8 nm (nanómetros). La OMS recomienda la prueba de ELISA por su alto índice de seguridad, por su coincidencia en valores de positividad con las pruebas de inmunofluorescencia, además sirve para la detección de la enfermedad de Chagas tanto en su forma aguda como crónica (Morilla, 1986).

METODO INMUNOHISTOQUIMICO (DETERMINACION DEL ANTICUERPO EVI Y BIOPSIA DE MUSCULO ESTRIADO)

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas en su fase crónica se ha enriquecido con un método de diagnóstico inmunológico de asombrosa especificidad que completa las otras reacciones y además plantea el estudio de las interesantes cuestiones vinculadas con la patogenia de la lesión chagásica; la determinación del anticuerpo EVI (intersticio del endotelio vascular), denominado así por su capacidad de reacción con el endocardio, las estructuras vasculares y el intersticio de los músculos estriados. Son anticuerpos circulantes y según Cossio y colaboradores (1969) su presencia abarca el 95% de los pacientes que presentan cardiopatía chagásica y el 45% de los pacientes asintomáticos pero infectados con el *Trypanosoma cruzi*.

El procedimiento para la determinación del anticuerpo EVI se realiza utilizando técnicas de inmunofluorescencia con un método inmunohistoquímico. Los sueros EVI positivos de enfermos chagásicos reaccionan con la membrana plasmática del músculo estriado y de las células endoteliales. Se usan con igual éxito como antígenos, músculo cardíaco de ratón y secciones de músculo esquelético de sujetos chagásicos EVI positivos.

Los autores del método expresan que el *Trypanosoma cruzi* se relacionaría con el anticuerpo EVI en una forma similar al Estreptococo y su vínculo con la fiebre reumática. Definen también tres características importantes del anticuerpo EVI:

(A) Alto predominio en cardiopatías severas en áreas endémicas y ausencia

en cardiopatías severas de áreas no endémicas.

(B) Reacción cruzada entre antígenos de *Trypanosoma cruzi* y tejidos de mamíferos.

(C) Especificidad clínica con respecto a otras infecciones parasitarias. Ratificaron con este estudio la asociación epidemiológica entre la infección por *Trypanosoma cruzi* y la presencia de cardiopatía severa.

En otro estudio, el mismo grupo de trabajo demostró que una proporción significativa de enfermos con infección por *Trypanosoma cruzi* existían anomalías definidas del músculo esquelético. Esta afección muscular la observaron solo en aquellos pacientes que presentaban gamaglobulina unida al tejido esquelético a lo largo de la membrana plasmática y de las células endoteliales.

De lo analizado se deduce la importancia de la determinación serológica del anticuerpo EVI y la implementación de una biopsia muscular esquelética en los enfermos con cardiopatía chagásica crónica.

Dada la negatividad encontrada para la determinación del anticuerpo EVI en otras miocardiopatías no chagásicas, su estudio cobra gran importancia en la investigación de miocardiopatías de causa no definidas, especialmente en los países tropicales y en los endémicos o enzoóticos para la enfermedad. Constituye un complemento de los métodos serológicos ya descritos e inclusive puede considerarse que su determinación es un paso firme hacia adelante para afirmar la precisión diagnóstica de esta enfermedad (Castagnino, 1980; Kierszenbaum, 1986).

RECOLECCION DE MUESTRAS EN PAPEL FILTRO

El diagnóstico serológico generalmente se ha hecho por la obtención de muestras de sangre por punción venosa y la detección de anticuerpos en el suero resultante. Pero debido a dificultades de obtención de sangre venosa, conservación y transporte, desde la década de los cuarenta, se empezó a recurrir a la obtención de muestras de sangre por punción capilar y recolección en papel filtro. Se puede obtener del lóbulo de la oreja, dedo o talón, el papel seca con facilidad, no se necesita preservadores, se puede mantener a temperatura ambiente y es de fácil transporte. Su utilidad se ha demostrado en estudios epidemiológicos de diversas parasitosis como malaria, toxoplasmosis, e hidatidosis (Gómez, 1987).

Así en la reacción de hemaglutinación indirecta para la enfermedad de Chagas posee una reconocida sensibilidad y especificidad. Cuando se efectúa en eluidos de papel filtro, tiene prácticamente similar sensibilidad

que cuando se realiza con suero. El papel filtro Whatman, absorbe aproximadamente 0.04 ml de sangre total por cada cm^2 . La recolección de sangre humana en papel filtro para la enfermedad de Chagas no es 100% exacta pero tiene mucha utilidad en estudios seroepidemiológicos. Dentro de las ventajas tenemos:

- a) El papel conserva los anticuerpos específicos.
- b) La muestra ocupa poco espacio.
- c) Se requiere poca muestra (2 a 3 gotas).
- d) Los papeles con muestra seca se pueden guardar a temperatura ambiente.
- e) Se pueden procesar gran cantidad de muestras con mínimos recursos.

En 1979 se publicó un estudio epidemiológico realizado con muestras de sangre colectadas en papel filtro en 40 223 residentes de 60 comunidades del estado de Oaxaca, que brindo un probable adelanto en el conocimiento del problema en México al encontrar en algunos poblados prevalencia de positividad hasta del 70% en sujetos mayores de 20 años de edad (Contreras, 1984; Gómez, 1987).

La divulgación de los métodos serológicos para el diagnóstico de la infección tripanosómica proporciona numerosos beneficios, tales como un mejor conocimiento de la incidencia y de la frecuencia de la infección, la prevención del contagio por transfusiones de sangre, la identificación de casos sospechosos e incluso la confirmación de la enfermedad de Chagas en enfermos con manifestaciones clínicas que sugieren la presencia de esta infección. El diagnóstico de la enfermedad de Chagas tiene realmente serias repercusiones emocionales, a las que se asocia la idea de enfermedad incurable, invalidez y riesgo de muerte repentina y que condiciona actitudes especiales, tanto por parte del enfermo como de los que lo rodean, con graves consecuencias personales y sociales. Para el paciente constituye una evidente causa de alarma, recelo, inseguridad, tal vez desesperación por lo que se preocupa por la búsqueda incesante de cuidados médicos o de otra índole que lo hacen víctima frecuente de curanderos. Además de manera indirecta, los pacientes chagásicos son considerados una carga para la sociedad por la invalidez, a la vez pérdida de la productividad por lo que las

autoridades gubernamentales favorecen la jubilación solo porque muestran resultados positivos. Este problema social se agrava por el empleo de reacciones serológicas no estandarizadas (Camargo, 1972; Petana, 1980).

En 1981 se inicio en Argentina, Brasil y Estados Unidos de América un estudio en colaboración con el propósito de establecer un programa continental de normalización del diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas. En donde se concluyó que en la actualidad no es posible establecer normas perfectas para el diagnóstico de la infección chagásica ya que no existe un método de diagnóstico de la infección chagásica absolutamente seguro. En consecuencia, la sensibilidad y la especificidad aparentes de una determinada prueba no son necesariamente reales sino que más bien se trata de sensibilidad y especificidad relativas con respecto a las de otros métodos.

Por lo que a pesar de la diversidad de pruebas técnicas disponibles hay un problema fundamental para el diagnóstico de infecciones chagásicas que es la ausencia de criterios sólidos de referencia. Por lo que se sugiere que para llevar a cabo una normalización del diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas sería la distribución de conjuntos idénticos de muestras de sueros, con valores mínimos aceptables en cuanto a sensibilidad y especificidad en los principales laboratorios participantes y que siguieran normas uniformes y estas al aumentar la exactitud de los diagnósticos y los conocimientos epidemiológicos, podrían producir importantes beneficios para la salud pública en zonas en donde la enfermedad de Chagas es endémica (Camargo, 1987).

En México la enfermedad de Chagas no es rara pero su diagnóstico si y las razones son las siguientes:

- 1) Las características de la población afectada, que solo a últimas fechas tiene acceso a servicios organizados de salud.
- 2) El desconocimiento de la historia natural de la enfermedad y de las condiciones habituales del diagnóstico clínico.
- 3) El pobre uso de los métodos paraclínicos indispensables para el diagnóstico clínico y/o serológico necesarios para corroborar la historia clínica. Esos métodos no son accesibles para muchos médicos en áreas rurales y no hay mecanismos que permitan a estos enviar muestras apropiadas a laboratorios universitarios o instituciones de referencia (Reyes, 1984).

CAPITULO 12

PROFILAXIS

A continuación se describen las medidas de prevención y control de la enfermedad de Chagas.

I) CONTROL DEL VECTOR

(A) Insecticidas; los insecticidas se clasifican en el siguiente cuadro.

Cuadro 19. HIDROCARBUROS CLORADOS

CLASE QUIMICA	COMPUESTO	PUNTUACION DE LA TOXICIDAD
DDT y Análogos	Diclorodifeniltricloroetano (DDT)	4
	Metoxiclor	3
	Tetraclorodifeniletano (TDE)	3
Hexacloruro de Benceno	Hexacloruro de benceno (BHC; hexaclorociclohexano)	4
	Lindano	4
Ciclodienos	Aldrin	5
	Dieldrín	5
Toxafenos	Toxafenos (camfeclor)	4

En base a la tabla anterior la puntuación de la toxicidad es: Posología bucal humana probablemente mortal para la clase 3 es de 500 a 5 000 mg/kg, para la clase 4 es de 50 a 500 mg/kg, y para la clase 5 es de 5 a 50 mg/kg (Bertram, 1987).

Los hidrocarburos clorados tienen acción deletérea sobre los insectos en

menor proporción sobre humanos y mamíferos. Los insecticidas son tóxicos por ingestión, contacto, sistémicos fumigantes y residuales. Los de este grupo son insecticidas mixtos y actúan por contacto y se absorben por la cutícula de los insectos, sobre todo por las patas, antenas y porción bucal; además son tóxicos por ingestión e inhalación (en aerosol) y tienen la propiedad de ser residuales pues se adhieren a las paredes en donde se aplican y tardan en desaparecer.

Una vez en contacto y penetrado el insecticida actúa sobre el SNC (sistema nervioso central) provocando estimulación y luego depresión siendo sus efectos lentos (varias horas); después de una serie de movimientos incoordinados se produce parálisis neuromuscular, por lo que el insecto cae y muere. La penetración en el sistema nervioso se debe a la liposolubilidad de la sustancia, lo que permite actuar sobre los lípidos del tejido nervioso especialmente sobre axones.

Su acción se presenta sobre formas adultas y ninfas pero no sobre huevos. En humanos se absorbe por la piel al aplicarse con solventes orgánicos (queroseno). La absorción se realiza en el tracto gastrointestinal lentamente y es facilitada por la grasa en él. Una vez absorbida la droga se distribuye hacia todos los órganos y se almacena en depósitos de grasa, se metaboliza en hígado, se excreta en orina en un 75% a 80% (Litter, 1973). Dentro de este grupo encontramos a:

Hexacloruro de gama benceno o gama-hexaclorobenceno, hexacloro ciclohexano o HCH y 1,2,3,4,5,6,-hexaclorociclohexano también conocido como Lindano. Los primeros en experimentar con este insecticida fueron Dias en 1958 y Correa en 1954 en Brasil.

Es un sólido amorfo, gris o café de olor característico, punto de fusión 112 °C estable a la acción del calor, luz y oxidación. Se descompone rápidamente en materiales alcalinos formando el 1,2,4-triclorobenceno (figura 21) (Metcalf, 1976).

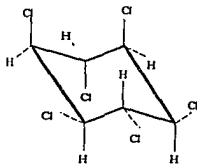


figura 21: Lindano

Se utiliza a razón de 0.5 a 0.7 g/m², también se puede aplicar como polvo en camas, grietas de paredes o en techos, se recomienda dos aplicaciones anuales a los 30 y 180 días. Su acción residual dura arriba de 30 días, relativamente seguro y de bajo costo (Brown, 1981; Cazzulo, 1977; Chester, 1986; Romero, 1978; Schenone, 1976; Zárate, 1984).

En Venezuela se ha utilizado en dosis de 12 mg/m² de este compuesto pero después de un período de un mes se ha visto reinfestación de las viviendas, por lo que esta dosis no es efectiva.

DIELDRIN

1,2,3,4,10,10-hexacloro-6,7-epóxi-1,4,4a,5,6,8,8a-octahidro-1,4-endo-exo-5,8-dimetanonaftaleno, ó epóxido de aldrín, p.f. 176 °C. Compuesto muy estable de prolongada acción residual (varios meses). Es formulado como polvo mojable al 50%, concentrado emulsionable al 18% (figura 22).

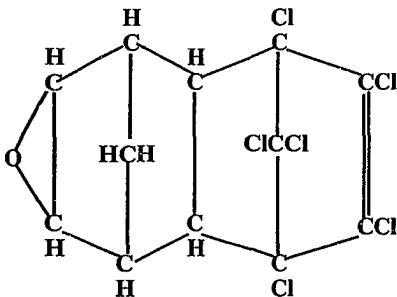


figura 22: Dieldrin.

Se considera eficaz el rociado a razón de 1 g/m², es más costoso y altamente tóxico (Brown, 1981; Harold, 1981; Kenneth, 1984; Metcalf, 1976).

El Lindano y el Dieldrin se usan para matar moscos, pulgas y triatominos en sus estadíos ninfales y adultos. El HCH se ha visto que tiene un efecto parcial sobre la eclosión de los huevos (en zonas rociadas se han observado

operculos abiertos comparados con huevos normales, las ninfas recién emergidas mueren en 15 a 20 min en superficies rociadas 5 meses antes) (Litter, 1973; Sifontes, 1976).

Otros insecticidas que se utilizan en el control del vector son los organofosforados y los del carbamato, descritos en el cuadro 20 y 21.

Cuadro 20. INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS

Compuesto	Puntuación de la toxicidad
Dimetoato	4
Fenitrotión	-
Malatión	4
Paratión	6
Paratión-metil	5
Triclorfón	4

Puntuación de toxicidad: la posología bucal humana probablemente mortal para los agentes de la clase 4 es de 50 a 500 mg/kg, para los de la clase 5 es de 5 a 50 mg/kg, y para los de la clase 6 mayor de 5 mg/kg.

Tanto en los insectos como en los mamíferos el efecto de estos agentes es la inhibición de la acetilcolinesterasa (existe en las neuronas colinérgicas, o sea que se encuentra concentrada en terminaciones nerviosas y en el sitio postsináptico si se trata de una neurona colinérgica. La unión neuromuscular también tiene colinesterasa postsinápticamente), además de la acetilcolinesterasa e independientemente de la misma alguno de estos agentes son capaces de fosforilar otra enzima que se encuentra en tejido neural, la llamada "esterasa neurotóxica" originando una neurotoxicidad retrasada que se caracteriza por la polineuropatía y se acompaña de parálisis y degeneración axoniana.

MALATION

El malatión es un líquido de color café, de olor desagradable, soluble en solventes orgánicos es hidrolizado arriba de pH = 7.0 y abajo de pH = 5.0, es incompatible con materiales alcalinos, insecticida persistente; se puede

aplicar como polvos, granulados y aerosoles. Se aplica a razón de 2.4 ml/m² o 2.0 g/m² dos veces al año (figura 23) (Litter, 1973; Sifontes, 1976; Villalta, 1979).

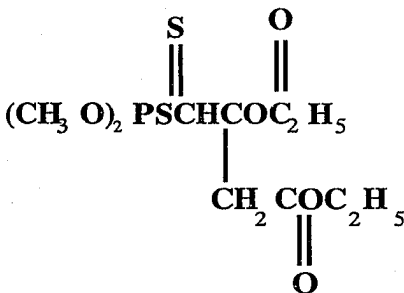


figura 23: Malatión.

Cuadro 21. INSECTICIDAS DEL CARBAMATO

Compuesto	Puntuación de la toxicidad
Carbaril	4
Propoxur	4
Pyramat	4
Isolán	5
Pirolán	5
Cectrán	5

Puntuación de la toxicidad; la posología bucal humana probablemente mortal para los agentes de la clase 4 es de 50 a 500 mg/kg, para los de la clase 5 de 5 a 50 mg/kg, y para los de la clase 6 mayor de 5 mg/kg.

Los carbamatos son ésteres del ácido carbámico, su acción es como inhibidores de la enzima colinesterasa del sistema neuromuscular. Son rápidamente eliminados de los tejidos animales y de esta manera no se acumulan en las grasas. Estos compuestos carecen de acción ovicida, su efecto residual sobre superficies de barro desaparece en pocas semanas y subsiste sobre superficies de madera (Sifontes, 1976). No es tóxico en personas y animales domésticos, no es usual por su costo.

Se requiere de un análisis del control del vector ya que permite saber si la recuperación de este es debida a sobrevivientes post-rociamiento o es resultado de la inmigración a partir de focos no tratados, si esto sucede se requerirá de rociamientos más frecuentes o una mayor cobertura geográfica. El desarrollo de resistencia se cree que tiene un origen genético ya que se adquiere y se transmite por herencia de un gen que se ha identificado para el DDT (clorofenotano), siendo de carácter recesivo a veces y otras dominante, en el caso de moscas dicho gen rige la aparición de una enzima que destruye el DDT. Así la aplicación repetida de los insecticidas tiene la desventaja de que se vuelvan ineficaces (Kreier, 1977; Litter, 1973).

Oliveira en 1984 utiliza una matriz de PVA (polivinil-acetato), que después del secado por 30 min se vuelve transparente, formando una película plástica impermeabilizante en las paredes de barro, el olor es más débil debido a la menor evaporación evitando así la pronta pérdida. Debe aplicarse rápidamente ya que el látex polimeriza. Esta es una alternativa para el control del vector, lo cual no dependerá de un nuevo insecticida.

INSECTICIDAS BOTANICOS

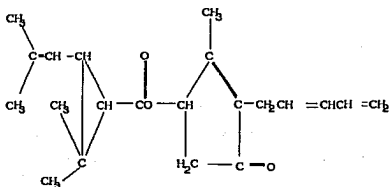
Son insecticidas de fuentes naturales como ; El piretro.

El término piretro abarca seis ésteres conocidos como piretrina I, piretrina II, cinerina I y cinerina II, jasmolina I y jasmolina II (figura 24).

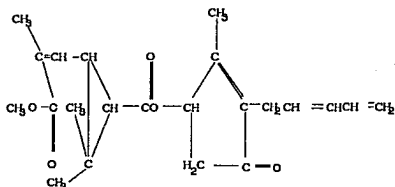
El piretro se absorbe después de la inhalación o ingestión, no es importante la absorción cutánea, el sitio principal de acción tóxica es el SNC; puede ocurrir excitación, convulsión y parálisis. La afección que más frecuentemente se induce en el hombre es la dermatitis por contacto. Son inestables en presencia de luz, humedad y aire, deben guardarse en envases

cerrados a temperaturas bajas. El piretro se extrae de plantas del género *Chrysanthemum* = *Pyrethrum*. El efecto del piretro en los insectos es semejante a los insecticidas ya mencionados (Metcalf, 1976; Schenone, 1986).

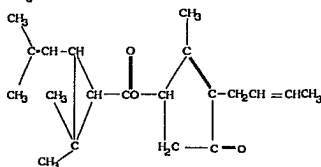
Piretrina I.



Piretrina II.



Cinerina I.



Cinerina II.

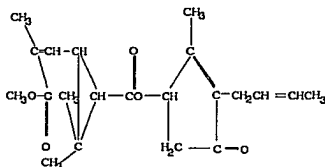


figura 24: Piretrinas y Cinerinas

(B) Control biológico

i) **Radiaciones;** La esterilización por radiaciones ha tenido buenos resultados al exponer a los triatominos a 17 500 Kilorads (Krad) pero a partir de 7 500 Krad los triatominos presentan comportamientos anormales por lo que estos ya no pueden competir con triatominos normales o sanos.

Al exponer sangre infectada a radiaciones gama 200 y 300 Krad, que al inocularse a animales de laboratorio (ratones) y al realizar los métodos de hemocultivo, xenodiagnóstico, estudios anatomopatológicos para detectar la parasitemia resultaron negativos para la enfermedad de Chagas (Takeda, 1986).

ii) **Uso de atrayentes;** Se conocen muchas substancias que sirven para atraer a los insectos por medio del estímulo olfatorio, esto ocurre en respuesta a olores que emanan de los alimentos, atrayentes sexuales de la presa o sitios de oviposición. Este principio se ha usado para atraer a los insectos vivos dentro de trampas o para envenenar cebos. Las trampas atrayentes (con feromonas las cuales son substancias liberadas por glándulas externas que producen reacciones específicas en individuos de la misma especie) han probado ser útiles en el control de infestaciones de bajo nivel (Metcalf, 1976; Oliveira, 1984).

Se ha demostrado la presencia de una feromona en la materia fecal fresca de *Rhodnius prolixus* y *Triatoma infestans*, esta atrae ninfas no alimentadas; pero no solo basta con atraerlas sino también asegura que las ya alimentadas permanezcan próximas y defequen (Zárate, 1984).

(C, D) Mejoramiento de la vivienda y educación sanitaria; Esta enfermedad, esta caracterizada como un problema socioeconómico así como de salud pública. Las condiciones de vivienda juegan un papel importante en la instalación de la enfermedad. La mayoría de las casas de zonas endémicas poseen pisos de tierra, paredes de adobe y techos de paja y palma o hierbas. Las grietas localizadas en paredes y techos son lugares de ocultamiento para los triatominos, promoviendo la colonización y establecimiento de la interacción triatomo-hombre, facilitando así la transmisión de la enfermedad de Chagas.

Se ha reconocido que el mejoramiento domiciliario, revoque de grietas en paredes y reemplazamiento de los techos, reduce significativamente la infestación de triatomas. El mejoramiento domiciliario en conjunto con la aplicación de insecticidas elimina la infestación del domicilio e interrumpe

la transmisión de la enfermedad de Chagas. Medidas similares deberían ser aplicadas a los lugares anexos de las casas (Kreier, 1977).

II) CONTROL DE DONADORES DE SANGRE

Los donadores deberan ser rigurosamente seleccionados a través de los métodos de diagnóstico para detectar los infectados por *Trypanosoma cruzi*. En áreas endémicas, la adición del violeta de genciana a una concentración de 0.5 g/lit de sangre, al menos 24 hr ántes de la transfusión deberfa ser usada como una medida preventiva (Kenneth, 1984).

El violeta de genciana como compuesto puro se conoce como cristal violeta. Su composición es a base de hexametilparrosanilina mezclado con pequeñas cantidades de cloruro de pentametilparrosanilina y detetrametilparrosanilina. Contiene no menos del 96% de dichas substancias.

Se encuentra como cristales brillosos o polvo de color verde oscuro bronceado, inodoro o casi inodoro, soluble en agua, fácilmente soluble en alcohol. Su estructura química se muestra en la (figura 25).

Los productos que se expenden poseen 4% de tetrametilo y pentametilo. Es bacteriostático y bactericida para gérmenes Gram positivos, G (+), y

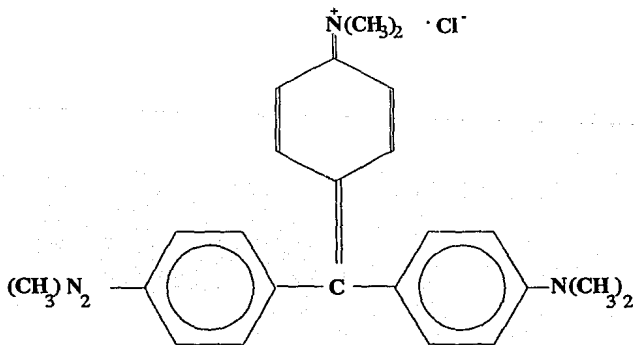


figura 25: Violeta de genciana.

para muchos hongos. Los Gram negativos, G (-) y las bacterias acidorresistentes son muy resistentes al fármaco. La susceptibilidad de los gérmenes G (+) a los colorantes de rosanilina posiblemente guarden relación con los caracteres de la célula con respecto a la coloración diferencial del Gram. El violeta de genciana U.S.P. posee 1% de etanol y la crema U.S.P. posee 1.35% en una base absorbible. Se ha utilizado para el control de gran diversidad de infecciones entre ellas infecciones piógenas superficiales, impétigo, lesiones crónicas e irritantes al igual que la dermatitis de esta índole. Se usa en micosis, su aplicación es directa a tejidos en concentraciones de 0.02% al 1.0%. En cavidades cerradas a 0.01%. La dosis usual es de 1% y como límite es de 0.5% a 2%.

El violeta de genciana se absorbe muy poco en tracto gastrointestinal y las materias fecales aparecen teñidas de púrpura, en el organismo se transforman parcialmente (no se conocen los metabolitos formados) y se excreta en orina adquiriendo esta un tinte rosado.

Por intoxicación las manifestaciones son vómito, diarrea, y náuseas. Además también hay trastornos nerviosos, cefalea, lasitud y mareos que son de poca importancia y ceden espontáneamente (Goodman & Gilman, 1978; Litter, 1973).

CAPITULO 13

TRATAMIENTO

Hasta la fecha no existe un fármaco que cure la enfermedad de Chagas humana. Durante la fase aguda se han empleado ciertos fármacos con éxito; pero no así en la fase crónica donde hay parasitemias bajas y las lesiones son irreversibles, siendo la acción del medicamento nula (Biagi, 1976; Castanys, 1984; Kenneth, 1984; Tay-Lara, 1982).

La quimioterapia en la enfermedad de Chagas ha motivado la investigación en los últimos años. Probandose diversos fármacos de los cuales destacan los siguientes.

NIFURTIMOX

Conocido como Lampit, Bayer 2502, 3-metil-4-(5-nitrofurfurilideno-amino)-tetrahidro 4H-1,4-tiacina-1,1-dióxido, presenta la siguiente estructura química (figura 26).

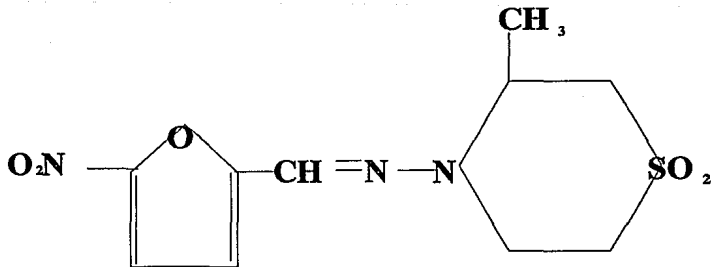


figura 26: Nifurtimox, Lampit, Bayer 2502.

Mecanismo de acción; Este fármaco es efectivo tanto *in vitro* como *in vivo* sobre epimastigotes, tripomastigotes y amastigotes de *Trypanosoma cruzi*. En cuanto al mecanismo de acción de este fármaco no se conoce exactamente pero se piensa que con la producción concomitantes de O_2^- y H_2O_2 por autooxidación ha estado relacionada con la acción tripanosomicida del fármaco, siendo un mecanismo potencial para sus efectos tóxicos en mamíferos.

Goijman, Frash & Stoppani (1984) investigan los efectos de este fármaco sobre el DNA, RNA y síntesis de proteínas en epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*, por la generación de radicales libres hay inhibición de la biosíntesis de DNA concluyendo que la generación de radicales O_2^- no son esenciales para inhibir la síntesis de proteínas para *Trypanosoma cruzi*.

Absorción, metabolismo y excreción; El fármaco es absorbido después de su administración oral. En sangre y tejidos hay bajas concentraciones del fármaco y poco aparece en orina. Esto es debido a un rápido metabolismo, en si no se sabe el efecto de los diferentes metabolitos sobre *Trypanosoma cruzi*.

Efectos colaterales; En animales de laboratorio a los que se les administran grandes dosis por períodos prolongados causan alteraciones a nivel de SNC y en gónadas de los machos (en ratones se ha visto inhibición de la espermatogénesis, apareciendo también mutagénesis y carcinogénesis.

En humanos entre un 40% y 70% presentan síntomas secundarios sobre el SNC y/o tracto digestivo. Estos efectos son reversibles y desaparecen al suspenderse la droga. Los efectos colaterales más importantes en el SNC son la irritabilidad, insomnio y convulsiones, por este motivo se recomienda que el fármaco se administre con anticonvulsionantes. Los efectos adversos a nivel de tracto digestivo son náuseas, dolor abdominal, y ocasionalmente vómito, disminuyendolos con hidróxido de aluminio.

Todos estos efectos secundarios incluyendo pérdida de peso, anorexia, cefalea, insomnio y los ya mencionados aparecen a los 15 y 20 días de iniciado el tratamiento por lo que se recomienda aplicar la terapia bajo estricto control clínico y de laboratorio (pruebas hematológicas y de funcionamiento hepático).

Dosis; en niños hasta de 15 años de edad con enfermedad aguda se administran 25 mg/kg/día en cuatro tomas/15 días, seguidos de 15 mg/kg/día en cuatro tomas/75 días. El tratamiento debe abarcar en total 120 días para la enfermedad crónica.

En adultos con enfermedad aguda o crónica se administra de 5 a 7 mg/kg/día

durante dos semanas dosis que se aumenta en 2 mg/kg con intervalo de dos semanas hasta administrar diariamente de 15 a 17 mg/kg para la décima semana, continuando esta dosis hasta un total de 120 días. No se recomienda aplicarlo por más tiempo debido a los efectos secundarios.

Usos terapéuticos; Es eficaz en la etapa aguda y crónica de la enfermedad, aunque el tratamiento carece de efectos sobre las lesiones irreversibles de los órganos, producidas por el estado patológico. Durante la fase aguda se ha obtenido desaparición de la parasitemia y mejoría de los síntomas así como la cura en más de un 80% de los sujetos tratados. En la fase crónica, se ha logrado una cura aproximadamente del 90% en pruebas experimentales realizadas en Argentina, Sur de Brasil, Chile y Venezuela. Estos resultados tienden a variar de acuerdo a la región y el tipo de cepa de *Trypanosoma cruzi* (Apt Werner, 1985; Biagi, 1976; Brener, 1984; Carrada, 1983; Goodman y Gilman, 1978; Kreier, 1977; Mansfield, 1984; Sierra, 1982; Weller, 1985).

BENZNIDAZOL

Es un nitroimidazol conocido también como Ro 7-1051, Rochagan, Radinil, N-benzil-2-nitro-1-imidazolacetamida que posee la siguiente fórmula estructural (figura 27).

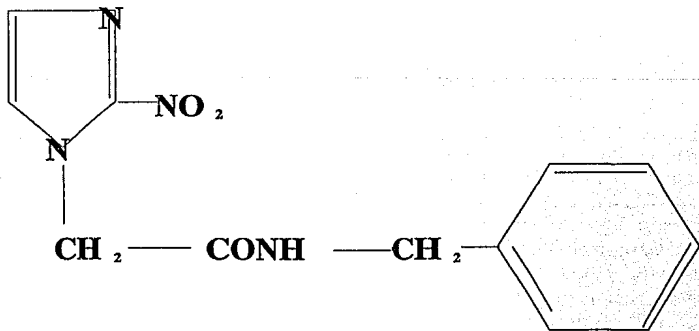


figura 27: Benznidazol, Rochagan, Radinil.

Mecanismo de acción; El benznidazol actúa inhibiendo la síntesis de proteínas y del RNA del parásito, disminuyendo poco la síntesis del DNA. No interfiriendo con la respiración del parásito según Werner en 1985, Pero Díaz de Toranzo y colaboradores mencionan que el benznidazol inhibe la respiración del *Trypanosoma cruzi* y no permite la producción de O_2 y H_2O_2 en concentraciones capaces de inhibir el crecimiento del *Trypanosoma cruzi*. El radical nitroanión del benznidazol es solo observado cuando este se adiciona a homogenizados del *Trypanosoma cruzi* en concentraciones relativamente altas. Sin embargo los metabolitos (radical nitroanión, generados durante la nitroreducción, hidroxilamina e hidroxinitróxido) reactivos del benznidazol generados durante la nitroreducción que es una reacción mediada por el NADPH citocromo reductasa P-450, P-450, xantina oxidasa y aldehído oxidasa. Aunque en el presente no se conoce todavía si la actividad nitroreductiva es mediada por la xantina oxidasa o la aldehído oxidasa como en el caso del citosol del hígado.

Los metabolitos del benznidazol son los que actúan uniéndose a proteínas, lípidos, DNA del núcleo y DNA del kinetoplasto del parásito.

Efectos colaterales; Los más comunes son la urticaria, náuseas, dolor abdominal, cefalea y fatiga. Se han encontrado en el 25% a 50% de los tratamientos aunque su toxicidad se ha reducido con el uso simultáneo del ácido 6-8 ditioltanióico 20 mg diarios en dos tomas, actuando como agente desintoxicante, con resultados buenos en pacientes chagásicos crónicos.

El benznidazol no debe administrarse a embarazadas por los efectos secundarios que produce por lo que es recomendable aplicar la terapia bajo un estricto control clínico y hematológico. En cobayos a dosis de 9 mg/Kg de peso por 60 días deprime la respuesta inmune celular y provoca la aparición de linfomas. Cuando se presenta la inducción de ptequias se suspende el tratamiento temporalmente reiniciándose posteriormente.

Dosis; en infecciones agudas humanas, con parasitemia positiva las dosis son de 5 mg/Kg/35 días, empezando con 3 mg/Kg/2 días luego 4 mg/Kg/2 días hasta alcanzar en el quinto día la dosis de 5 mg/Kg/día obteniéndose una curación del 86% de los casos con parasitemia negativa y el 87% evolucionan con xenodiagnósticos negativos aplicados 18 meses post-terapia. La serología con las pruebas de RHA1, RFC, RIFI, permiten ver la negativización.

Usos terapéuticos; El benznidazol ha tenido buenos resultados en humanos, perros y ratones pero estos van a depender de la cepa del *Trypanosoma cruzi*, dosis y tiempo de administración de el fármaco.

A nivel de cultivos en células Hela se ha observado que hay inhibición del crecimiento de formas extracelulares e intracelulares del *Trypanosoma cruzi* (Apt Werner, 1985; Brener, 1984;; Díaz, 1988; Mansfield, 1984).

ALOPURINOL

Polvo blanco, cristalino, inodoro e insípido. Poco soluble en agua y en alcohol, soluble en soluciones de hidróxidos alcalinos. Compuesto de origen sintético, es una pirazolopirimidina (figura 28).

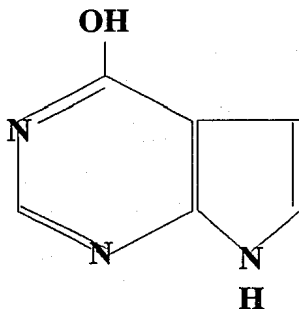


figura 28: 4-Hidroxipirazolo [3,4-d] pirimidina (alopurinol).

Mecanismo de acción; Es activo contra las enzimas que participan en el metabolismo de las bases púricas. Inhibe a la xantino-oxidasa, por competencia, produciendo interferencia en el metabolismo; el parásito transforma el alopurinol a su forma 5-monofosfato y entonces a nucleótido de aminopirazolopirimidina (el alopurinol se amino para formar un análogo de la adenina, el que es capaz de incorporarse al RNA causando interferencia en la síntesis de proteínas), el cual es tóxico para el parásito. Se ha demostrado que el *Trypanosoma cruzi* conjuga al alopurinol con la ribosa y en seguida lo fosforila para formar el aloribonucleótido B, el que por aminación se convierte en ácido aloadenílico que es capaz de incorporarse al RNAm interfiriendo así en la síntesis de proteínas. Esto se manifiesta por la modificación de la capacidad reproductora del parásito

(fase de amastigote) lo que provoca una aparición prematura del máximo en la parasitemia. En animales superiores este fármaco no se incorpora al RNA durante la biosíntesis del mismo, por lo que difiere su metabolismo en organismos superiores e inferiores. Este mecanismo es único para los protozoarios, explicando la relativamente baja toxicidad para humanos (Castrillón, 1984).

También se sabe que el alopurinol se oxida con cierta rapidez a oxipurinol, siendo incapaz de incorporarse al RNA, disminuyendo su potencial terapéutico, por lo que su efectividad *in vivo* es el resultado de dos procesos.

1) Incorporación al RNAm por el parásito; organismo con metabolismo lento.

2) Oxidación de alopurinol a oxipurinol; cuando es llevado a cabo por el hospedero, el cual tiene un metabolismo rápido.

De esto se concluye que hay una mayor participación de la oxidación por lo cual *in vivo* carece del efecto tripanomicida observado *in vitro*. Cuando se oxida este fármaco es inocuo para el *Trypanosoma cruzi*. Los organismos superiores poseen una proporción importante de la xantino-oxidasa, por lo que en estos predomina la vía oxidativa. Se sugiere modificar la estructura del alopurinol para evitar la oxidación en la posición 6.

Absorción, destino y excreción; Se absorbe fácilmente al ser administrado vía oral y parenteral. En el organismo es transformado por xantino-oxidasa en aloxantina, excretándose por la orina en esta forma y en un 5-10% en alopurinol.

Efectos colaterales; Entre sus efectos adversos tenemos los gastrointestinales y los alérgicos. Gastrointestinales; náuseas, vómito, cólicos, diarrea. Alérgicos; erupciones cutáneas maculopapulosas y pruriginosas.

Dosis; 200 mg dos veces al día
100 - 400 mg tres veces al día
400 - 1200 mg una vez al día como máximo

Usos terapéuticos; Fármaco usado en el tratamiento de la hiperuricemia (Mansfield, 1984).

BROMURO DE ETIDIO

La actividad tripanosomicida de la fenantridina fué primeramente descrita por Browning y colaboradores y más adelante por Watkins, Woolfe y Newton en varias especies de tripanosomas. 2,7-diamino-9-fenil-10-etil bromuro de fenantridina (bromuro de etidio) (figura 29).

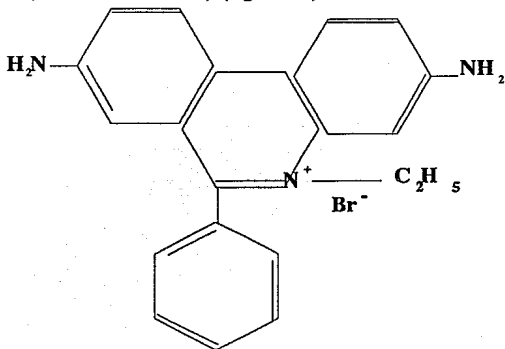


figura 29: 2,7-Diamino-9-fenil-etil bromuro de fenantridinium (bromuro de etidio).

Esta substancia es considerada como muy tóxica, pero unidas a un transportador disminuye su toxicidad y aumenta su efectividad contra la enfermedad de Chagas. Cuando se acompleja con el DNA, es menos tóxico para el hospedero, también adquiere propiedades lisosomotróficas. Incapaz de difundir a través de membranas biológicas, estos complejos pueden ser interiorizados hacia la célula por medio de endocitosis, alcanzando así el acceso a vacuolas lisosomales. Una vez en la vacuola, el complejo es enzimáticamente digerido liberando el bromuro de etidio, este compuesto fué capaz de prevenir la muerte de ratones infectados, pero no el desarrollo de lesiones y la enfermedad en la fase crónica. Se observó que este compuesto inhibe la incorporación de oxígeno, causa disquinetoplastia (pérdida del ácido desoxirribonucleico) e inhibición del crecimiento celular.

DERIVADOS BENZO (DE) ISOQUINOLIL-1,3-DIONA SOBRE *Trypanosoma cruzi* "in vitro"

Se han analizado las alteraciones a nivel ultraestructural producidas por dos derivados benzo de isoquinolil-1,3-diona en formas de cultivo que son el M-12210 (5-nitro-2-(2 (1-pirrolidin) etil)-benzo (de) isoquinolil-1,3-diona), y el FA-142 (5-amino-2-(2-dimetilaminoetil)-benzo (de) isoquinolil 1,3 diona). Se describe la acción citostática de esta nueva serie, de fármacos, viendo también sus efectos sobre células cancerosas, sugiriendo que bloquean la síntesis de DNA y RNA debido probablemente a la alta afinidad e intercalación en la doble helice del DNA. Actuando principalmente sobre el DNA del núcleo y sobre el DNA del kinetoplasto, interfiriendo tanto en la replicación como en la transcripción explicando de esta manera la presencia de acúmulos irregulares de la cromatina o la distribución laxa de esta en los protozoos tratados.

Las alteraciones principales a nivel celular son: a) El núcleo presenta la heterocromatina dispuesta laxamente no apreciándose alteraciones en el endosoma (sustancia que lleva el cuerpo de una célula) b) El citoplasma contiene acúmulos de vacuolas autofágicas y gotas lipídicas en número excesivo. Las gotas o acúmulos lipídicos quizás provengan de la inhibición del metabolismo mitocondrial con consecuentes alteraciones citoplásmicas, con respecto a los controles c) En algunas formas, las alteraciones en el kinetoplasto llegan a presentar su DNA sin su estructura típica de doble hilera, mostrando estructuras arqueadas y un aspecto altamente electrodenso fenómeno no observado en los controles (Osuna, 1983).

A continuación se resume la eficacia de diversos fármacos sobre el *Trypanosoma cruzi* (cuadro 22).

Cuadro 22. Eficacia de diversos fármacos sobre el *Trypanosoma cruzi*

Medicamento	Acción in vivo	Utilidad en infecciones experimentales		Aplicación en el hombre	Mecanismo de acción	Toxicidad
		Agudas	Crónicas			
Acromicina	Si	Si	No	No	Inhibe síntesis proteica del parásito	Reacción de hipersensibilidad, irritación gastrointestinal, hepatotoxicidad
Primaquina	Si	Si	Si	Si, ocasionalmente se utiliza en infecciones agudas, congénitas latrogénicas y accidentales	Inhiben la respiración celular por interferencia del transporte de electrones	Anemia hemolítica en individuos con insuficiencia de 6-fosfodeshidrogenasa. Epigastralgias ocasionales
Arsenicais pentavalentes	No	No	No	---	---	---
Nitrofurantoina	Si	Si	Si	No	Inhiben la síntesis del DNA	Náuseas, vómitos y diarreas. Reacciones de hipersensibilidad, polineuropatías, hepatitis crónica activa. Frecuente compromiso del SNC.
Nitrofurazona	Si	Si	Si	No	Inhiben la síntesis del DNA	polineuropatías, toxicidad hepática y renal. Frecuente compromiso del SNC.
Furildadona	Si	Si	Si	No	Inhiben la síntesis del DNA	polineuropatías, toxicidad hepática y renal. Manifestaciones gastrointestinales; náuseas, anorexia, diarrea, cancerígeno en ratas y ratones, mutagénico en bacterias.
Metronidazol	Si	Si	Si	No	Inhiben la síntesis del DNA y RNA-polimerasa	Prácticamente no tiene.
Niridazol	No	No	No	---	---	---
Biclorhidrato de Piperazina	Si	Si	Si	No, se le utilizó en casos crónicos en forma experimental sin efecto.	---	---

* Disminuyen la parasitemia sin erradicar el parásito.
(Apt Werner, 1985).

CAPITULO 14

INMUNOLOGIA DE LA TRIPANOSOMIASIS AMERICANA

La inmunología del *Trypanosoma cruzi* es complicada por los múltiples estados de desarrollo del parásito encontrados en el hospedero mamífero e insectos; las tres formas básicas (tripomastigote, amastigote y epimastigote) poseen diversas características fisiológicas y antigénicas.

Las respuestas inmunes específicas son indicadas por la intensa infiltración de tejidos infectados con linfocitos y macrófagos, la aparición de anticuerpos IgM e IgG para el *Trypanosoma cruzi*, por la reactividad de los linfocitos y la hipersensibilidad cutánea retardada para antígenos del *Trypanosoma cruzi*.

La mayor parte de los individuos son capaces de suprimir o controlar la infección aguda por el *Trypanosoma cruzi*. Sin embargo, a pesar de la falta de síntomas y la aparición de la actividad humoral y celular contra los antígenos del parásito la infección persiste en bajos niveles durante la fase crónica, probablemente de por vida. Durante la fase aguda los parásitos pueden ser detectados en sangre y tejidos pero en cantidades extremadamente bajas que requieran de cultivo o xenodiagnóstico para su detección. La fase crónica se diagnostica por detección de anticuerpos IgG específicos usando diversas pruebas serológicas.

La patogénesis durante la fase crónica no ha sido completamente explicada debido a la extensión de las lesiones inflamatorias crónicas y fibrosis, la cual esta fuera de proporción para los pocos organismos persistentes en sangre y tejidos, por lo que se cree existe una relación con los mecanismos inmunes.

I. MECANISMOS INMUNES DEL HOSPEDERO, RESPONSABLES DE LA RESISTENCIA PARA EL PARASITO

A) PAPEL DE LAS CELULAS T y B EN LA INMUNIDAD

La inmunidad celular ha tenido importancia en la tripanosomiasis a nivel experimental, desde el año de 1948 por Pizzi en Chile.

El mecanismo de protección por la inmunidad celular no es conocido, pero

se sabe que el suero anti-timocito y la timectomía neonatal en ratones, reducen la población de linfocitos y se produce inmunosupresión incrementándose así la parasitemia y mortalidad en ratones a quienes se les ha inoculado *Trypanosoma cruzi* en relación con aquellos no tratados (Castagnino, 1980).

En otros experimentos con ratones deficientes de células T se ha observado cierta resistencia a *Trypanosoma cruzi* al transferir timocitos inmunes y células de bazo. Estos experimentos, fallaron para describir la importancia de las células T como células ayudadoras en la producción de anticuerpos protectivos (Castagnino, 1980; Tizard, 1981).

Los modelos inmunitarios sugieren que los sistemas de células T y B desarrollan sus funciones conjuntamente ya que para iniciar la respuesta humoral se requiere de un subgrupo de células T (inductoras o facilitadoras). Las células T inicialmente interactúan con el antígeno y en cooperación con los macrófagos, estimulan a las células B para dar origen a células plasmáticas las cuales sintetizan los anticuerpos. Las células B son incapaces de reaccionar con una gran variedad de antígenos sin la influencia de las células T inductoras, por lo que es probable que la actividad de estas células T inductoras sea mediada por un factor soluble liberado por estos linfocitos.

Los antígenos necesarios para la interacción entre células T y B para que se lleve a cabo una respuesta humoral se denominan timodependientes; un grupo más reducido de antígenos puede estimular directamente a las células B en ausencia de las células T (antígeno T independiente) aunque también hay células T supresoras que restringen la capacidad de las células B para la producción de anticuerpos en contra de antígenos timodependientes o independientes del timo, regulándose así la respuesta inmune (Boggs, 1985).

Con respecto a la inmunidad humoral, se conoce por varios estudios que la transferencia pasiva de anticuerpos y el modo de acción de este mecanismo protectorio "in vivo" no es conocido. Estudios en anticuerpos y sus respuestas en pacientes chagásicos tienen una implicación importante con respecto a los niveles de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*, como índices de diagnóstico en la enfermedad de Chagas (Mansfield, 1981).

Lelchuck en 1981 reportó que pacientes con enfermedad de Chagas aguda presentan niveles normales en el suero tanto de IgG, IgM e IgA, con niveles elevados de IgG durante el estado crónico. La IgM específica para el *Trypanosoma cruzi* fué encontrada en pacientes agudos, seguido más tarde

por la IgG e IgA específica del parásito. Mardsden en 1981 no pudo encontrar una correlación entre anticuerpos fijadores del complemento y niveles elevados en el suero de IgG, IgA o IgM pero hubo un incremento en pacientes crónicos de la IgG, sin embargo Vattuone y colaboradores concluyeron que los niveles de IgG fueron más altos que los valores normales en ambos pacientes (Cossio, 1977; Mansfield, 1981). Los anticuerpos protectivos que pasivamente transfieren la resistencia en ratones han sido identificados por Takehard y colaboradores como inmunoglobulinas IgG2a e IgG2b (Tizard, 1985).

B) RESISTENCIA GENETICA DEL HOSPEDERO

En cuanto a la resistencia existen factores relacionados con el parásito como son: cepa y tamaño del inóculo, y con respecto al hospedador: estado de salud y antecedentes genéticos. En animales de experimentación el sexo y edad son factores que influyen en la resistencia para la infección. Para investigar el papel de los genes de la respuesta inmune en la resistencia a la infección aguda con *Trypanosoma cruzi* se efectuó un experimento para relacionar la resistencia o susceptibilidad con el complejo mayor de histocompatibilidad de ratones locus H2 (punto en un cromosoma ocupado por un gen), no se concluyó con respecto a estos experimentos (Kenneth, 1984; Trischmann, 1978).

En otros experimentos en donde se usaron cepas congénicas (idénticas, excepto el locus H2) se propone que la resistencia estuvo asociada con el origen genético del ratón antes que con el haplotipo H2 (Kennet, 1984).

Por otro lado Hoff y Boyer proponen que la susceptibilidad a la infección aguda varía entre diferentes cepas de ratones endogámicos, van desde altamente resistentes (C57BL/10 y DBA/1) hasta altamente sensibles (C3H/He, DBA/2 y cepa A). Experimentos con ratones congénicos e híbridos (cruzamiento entre dos especies distintas o de dos variedades de una especie) de padres sensibles y resistentes indican que la resistencia está controlada por genes ajenos al complejo mayor de histocompatibilidad H-2. No se conoce como se afecta la resistencia o susceptibilidad. Se conoce que cepas de ratones susceptibles a *Trypanosoma cruzi* tienen más bajas respuestas de anticuerpos, producen menos factores activantes para macrófagos y linfotoxinas que las cepas resistentes (Mansfield, 1981; Reyes, 1978).

Wrightsmán y colaboradores notaron que múltiples genes pueden estar involucrados en cuanto al nivel de parasitemia y mortalidad (Tizard, 1985).

No se ha dilucidado si la resistencia o susceptibilidad esta relacionada solo con la información genética o con el sistema inmune o por ambas (Tizard, 1985; Trischmann, 1978). El papel de los factores genéticos sobre el resultado de infecciones humanas con *Trypanosoma cruzi* no ha sido investigado (Kennet, 1984).

C) MECANISMOS EFECTORES EN LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

I) DESTRUCCION MEDIADA POR EL COMPLEMENTO

El sistema del complemento es el mediador humoral primario de las reacciones antígeno-anticuerpo, que consta de cuando menos 20 proteínas plasmáticas química e inmunológicamente distintas capaces de actuar de manera recíproca una con otra, con el anticuerpo y con las membranas celulares. El complemento tiene la capacidad de reclutar otros sistemas efectores humorales y celulares y conseguir la participación de ellos, induciendo la liberación de histamina de las células cebadas (células de los tejidos que se parecen a un basófilo de la sangre periférica y que contiene gránulos con serotonina e histamina), la emigración de los leucocitos, los fagocitos y la liberación de constituyentes lisosómicos de los fagocitos (Stites, 1988).

El mecanismo de protección por anticuerpos no ha sido aclarado, pero es posible que requiera de sistemas plasmáticos amplificadores, como el complemento, en donde los anticuerpos son capaces de fijar el complemento (Reyes, 1978; Tecia de Carvalho, 1986).

En el ratón los anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi* son capaces de la lisis de los tripomastigotes mediada por el complemento "in vitro". Estos anticuerpos líticos, los cuales cubren los parásitos circulantes, aparecen durante la fase aguda y persisten durante la infección crónica. Esta lisis "in vitro" es alcanzada primeramente a través de la activación de la vía alterna, como se demuestra por la dependencia de la reacción en presencia del factor B y properdina (componentes del complemento). Sin embargo algunos componentes de la vía clásica pueden contribuir como es el grado de lisis con sueros deficientes de C₂; hay predominio de la activación de la vía alterna en la lisis de tripomastigotes, el papel que juegan los anticuerpos en

la iniciación de la activación del complemento no es entendida (Tizard, 1985).

Krettl y colaboradores mostraron que la cepa musculotrópica de *Trypanosoma cruzi* es resistente a la lisis mediada por el complemento por anticuerpos presentes en la fase aguda, esto es debido probablemente a la muda de anticuerpos o por producción de enzimas que se pegan a la fracción Fc del anticuerpo ligado a la superficie, siendo por lo tanto incapaces de activar el complemento y su presencia bloquearía nuevas uniones de anticuerpos líticos (Colli, 1984; Tizard, 1985).

Los epimastigotes son altamente susceptibles a la lisis mediada por el complemento. Cuando los tripomastigotes son tratados con tripsina y no así los amastigotes que son resistentes y son capaces de infectar células de vertebrados durante la fase aguda de la enfermedad (Reyes, 1978; Tecia de Carvalho, 1986).

Budzko y Kierszenbaum (1981), reportaron que los tripomastigotes también pueden ser lisados con antisuero anti-*Trypanosoma cruzi* y complemento. Esta observación sugiere que la lisis dependiente del complemento mediado por anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* puede ser un mecanismo importante de controlar infecciones "in vivo" (Mansfield, 1981).

2) CITOTOXICIDAD MEDIADA POR CELULAS

In vitro los tripomastigotes pueden ser lisados por el complemento, por contacto con eosinófilos, neutrófilos, células linfoides y por exposición a linfo toxinas. Con eosinófilos y neutrófilos, la citotoxicidad para tripomastigotes es dependiente de la presencia de anticuerpos específicos. Estudios ultraestructurales con epimastigotes sugieren que la secuencia del daño consiste primero en el enlace específico de los granulocitos, seguido de la fagocitosis y por último la liberación de los restos del parásito dentro del medio extracelular (Tizard, 1985).

Kierszenbaum y colaboradores han demostrado que las proteínas básicas purificadas de gránulos de eosinófilos humanos son citotóxicos para tripomastigotes. Los gránulos de eosinófilos son ricos en enzimas como peroxidasa, β -glucuronidasa, fosfatasa ácida, arilsulfatasa, y fosfolipasa (Tizard, 1985; Vargas, 1981).

La actividad citotóxica de los PMN ha sido relacionada a una potente reducción de intermediarios del oxígeno generados durante la fagocitosis .

Los leucocitos PMN (eosinófilos, basófilos, neutrófilos) son citotóxicos a epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* sensibilizados con antisueros específicos (*Trypanosoma cruzi* más anticuerpo). Se demostró que los PMN humanos destruyen epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* en presencia de suero de pacientes con enfermedad de Chagas en fase crónica o de conejos inmunizados con epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* homogeneizado (Olabuenaga y colaboradores, 1979).

El efecto citotóxico depende del anticuerpo IgG presente en el suero inmune; el contacto cercano entre células efectoras y el blanco; y el receptor Fc de los PMN (Cardoni y colaboradores, 1981).

3) PAPEL QUE DESEMPEÑAN LOS MACROFAGOS EN LA DESTRUCCION DEL *Trypanosoma cruzi*

Desde el tiempo de Mertchnikoff, los macrófagos se han descrito como las células más fagocíticas capaces de degradar y destruir a una serie de microorganismos (Stites, 1988). Los macrófagos desempeñan varias funciones como son:

- a) Iniciar la respuesta inmune celular.
- b) Regular la respuesta inmune.
- c) Fagocitar, destruir los microorganismos y desechar restos celulares.
- d) Segregar varias sustancias solubles con actividad biológica.

La acción de los macrófagos en las reacciones inmunológicas es la de procesar los antígenos (degradación y modificación química) y presentar estos antígenos a los linfocitos T y B que potencialmente puedan reaccionar, por lo cual se inicia la reacción inmune mediada por células y la humoral. Esta función de presentación del antígeno por el macrófago aumenta la antigenicidad en comparación con antígenos que se presentan en forma soluble. La presentación del antígeno por el macrófago se encuentra genéticamente restringida ya que los macrófagos como los linfocitos comparten los mismos determinantes antigénicos codificados por los principales genes de histocompatibilidad (antígenos Ia). Otra función de los macrófagos es la liberación de un factor soluble, la interleucina 1 (IL-1), la cual estimula a los linfocitos T para que elaboren un factor de crecimiento (factor de crecimiento de células T) denominado también interleucina 2 (IL-2), este último sirve para llevar a cabo la proliferación de las células T

capaces de reaccionar. Los macrófagos también son activados por los componentes del complemento, plasminógeno, interferon gama, así como por la acción farmacológica directa de agentes como las endotoxinas (Boggs, 1985; Kenneth, 1984; Stites, 1988). Kierszenbaum y colaboradores (1985), incubaron células en un medio el cual contenía interferon gama e IL-2, incrementando marcadamente la capacidad de estas células para asociarse con formas de *Trypanosoma cruzi*; se obtuvieron evidencias de que el interferon gama pero no la IL-2, es la linfocina responsable de tal efecto, ya que el medio que contenía IL-2 pero no interferon gama fallo en realzar la asociación célula-parásito; el tratamiento del interferon gama a pH = 2.0 inactivo al interferon gama reduciendo su efecto realzador (Wirth, 1985) (figura 30).

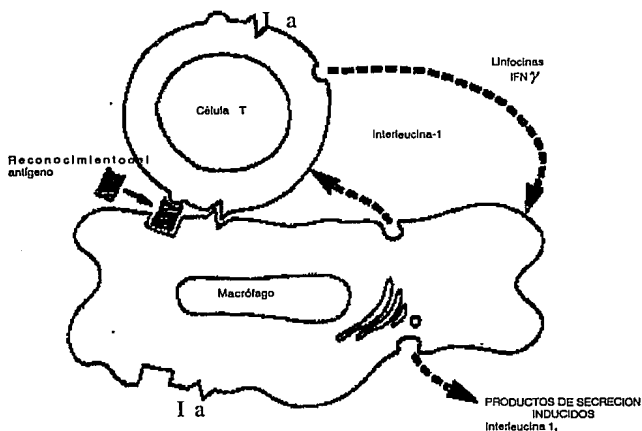


figura 30: Representación de la interacción entre macrófagos y células T.

La fagocitosis por macrófagos se realiza primero por una fase de adhesión, en donde los parásitos se fijan a receptores inespecíficos de membrana continuándose con una fase de interiorización en donde se rodea al parásito por la membrana celular, formando vesículas fagocíticas conocidas también como fagosomas. Posteriormente se efectúa una fusión entre el fagosoma y lisosomas (gránulos que contienen enzimas hidrolíticas y están presentes en el citoplasma de muchas células) dentro de estos lisosomas las sustancias fagocíticas así como algunas proteínas (figura 31), son digeridos a pH ácido por más de cuarenta enzimas hidrolíticas de los lisosomas, las cuales se citan en el cuadro 23..

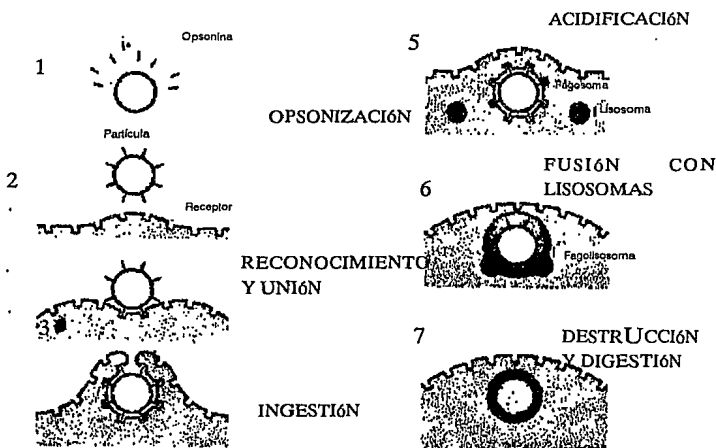


figura 31: Fenómenos en la fagocitosis por fagocitos.

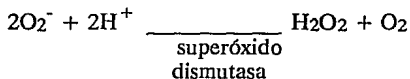
Cuadro 23. HIDROLASAS ACIDAS LISOSOMICAS DE LOS MACROFAGOS

ENZIMA	SUBSTRATOS PRINCIPALES
Fosfatasa	Esteres de fosfato
Arilsulfatasa	Esteres de sulfato
Colesteril esterasa	Esteres de colesteril de las lipoproteínas
Triglicérido lipasa	Triglicéridos de las lipoproteínas
Fosfolipasas	Fosfolípidos de bacterias, lipoproteínas
Glicocidasas	Carbohidratos, glicoaminoglicanos
Proteinasas	
Catepsina B	Colágena, proteoglicanos
Catepsina D	Hemoglobina

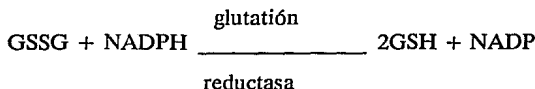
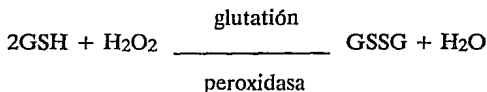
Ciertos trabajos han postulado que la producción de H_2O_2 por los macrófagos puede ser la base bioquímica de la inmunidad celular, la sensibilidad de los tripanosomas al H_2O_2 y la cantidad de este generado por los macrófagos determina que tales concentraciones dentro de los fagosomas son letales para este (Andrews, 1982; Bongertz, 1981; Cardoni, 1982; Kenneth, 1984; Stites, 1988; Wirth, 1985).

La fagocitosis realizada por los macrófagos puede estar acompañada o no de un proceso respiratorio en donde hay compuestos con capacidad destructiva como lo es la generación de oxidantes derivados de la reducción parcial de oxígeno por la vía de la hexosa monofosfato. El proceso respiratorio es desencadenado por varias sustancias (complejos antígeno-anticuerpo, $C5a$, partículas o superficies opsonizadas cuando la fagocitosis es anulada por medicamentos como la Citocalacina B), la activación de este proceso es dependiente de energía y no requiere de una degranulación. Este proceso se inicia con un marcado incremento en el consumo de oxígeno y la activación de una oxidasa unida a la membrana y cuyo principal sustrato es el fosfato del dinucleótido de nicotinamida y

adenina reducido (NADPH); ésta oxidasa reduce el oxígeno molecular en peróxido de hidrógeno.



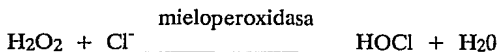
El aumento en la disponibilidad del NADP estimula la vía de la hexosa monofosfato (HMP); parte del peróxido de hidrógeno es destruido por la glutatión peroxidasa mediante la oxidación del glutatión reducido. Este último es regenerado por la glutatión reductasa y acompañado de la reducción del NADPH (derivado del ciclo de la hexosa monofosfato, que también es estimulado para integrarse a la creciente utilización de oxígeno).



El macrófago se protege de los efectos nocivos de los metabolitos del oxígeno (son generados en, o cerca de, la superficie celular y dentro de la vacuola fagocítica) por su glutatión peroxidasa y su catalasa (encontrada en macrófagos maduros), aunque se ha comprobado que estos metabolitos

pueden provocar daño al hospedero en especial en pulmón y cavidades articulares. El proceso respiratorio esta estrechamente relacionado con la fagocitosis pero no es esencial de ella.

Los efectos antimicrobianos del peróxido de hidrógeno aumentan por los iones haluro en presencia de la mieloperoxidasa o de catalasa por la generación de iones hipoclorito.



Se desconoce el mecanismo por el cual los radicales oxidantes destruyen a los microorganismos. El superóxido en si no es un destructor pero si el oxígeno, el H_2O_2 sólo tiene un ligero efecto destructor. Otros mecanismos microbicidas incluyen el ion hidrógeno, el lisosoma, componentes del complemento y las hidrolasas lisosómicas (Boggs, 1985; Stites, 1988).

En condiciones "in vitro", la opsonización (El compuesto C3b, unido a una partícula, promueve la fagocitosis de ésta por medio de los receptores C3 que se hallan en las células fagocíticas. Si además está presente el anticuerpo, el fenómeno se potencia por unión de este último a los receptores Fc), por anticuerpos de la clase IgG realzando así la incorporación de organismos por los macrófagos de humano y ratón, acompañada por la muerte de estos organismos interiorizados, sugiriendo que "in vivo" el papel protector de los anticuerpos puede depender de la presencia concomitante de la inmunidad mediada por células, aunque la opsonización con anticuerpos no afecta el crecimiento del *Trypanosoma cruzi* en macrófagos normales o no estimulados (Kennet, 1984; Tizard, 1985).

En ratones infectados así como en el hombre, existen evidencias de un tropismo de *Trypanosoma cruzi* por células del sistema fagocítico mononuclear o por células musculares. Entre los factores que afectan la interacción macrófago-parásito podemos citar: a) Cepa del *Trypanosoma cruzi*; b) Tiempo de contacto parásito-macrófago (Meirelles, 1980).

En ciertos estudios se ha mostrado que los epimastigotes son ingeridos y destruidos por los macrófagos, pero los tripomastigotes son capaces de sobrevivir y reproducirse dentro de estas células fagocíticas. Los macrófagos activados (macrófagos maduros en un estado de activación metabólica provocada por varios estímulos, en especial por la fagocitosis o el efecto de una linfoquina), tienen una gran capacidad para destruir a los tripomastigotes y epimastigotes que macrófagos normales.

Los macrófagos cosechados de ratones previamente infectados o inmunizados con BCG pueden controlar mejor la infección "in vitro" que macrófagos de ratones normales no inmunizados.

La exposición de macrófagos a un número incrementado de formas de cultivo (epimastigotes) revelan que ambos macrófagos activados-BCG y normales no inmunizados controlan la infección en en una razón fagocito-parásito 1:1, pero incrementando la razón a 1:10 los macrófagos normales son agobiados. Los macrófagos activados con BCG, sin embargo mostraron ser más efectivos en destruir al *Trypanosoma cruzi* en una razón 1:10 pero no en una razón 1:100 (Mansfield, 1981).

4) DESTRUCCION DE AMASTIGOTES INTRACELULARES MEDIADA POR CELULAS

Durante su fase intracelular, *Trypanosoma cruzi* es inaccesible a los mecanismos que matan a los tripomastigotes extracelulares. La destrucción de amastigotes intracelulares, particularmente aquellos de células no fagocíticas requieren primeramente de la destrucción de células parasitadas, una vez expuestos al medio ambiente extracelular, los amastigotes son probablemente vulnerables a los mecanismos efectores que matan a los tripomastigotes. Durante el curso de estos experimentos se encontro que los antígenos liberados durante la ruptura de células del hospedero, al cubrir *in vitro* con los antígenos liberados de las células del hospedero se observo que eran susceptibles a la lisis por linfocitos sensibilizados, suero inmune y complemento; indicando que estos mecanismos puedan estar involucrados en la patogénesis (Tizard, 1985).

II). DESCRIPCION DE ANTIGENOS DEL PARASITO LOS CUALES SON LOS BLANCOS PARA LA DESTRUCCION INMUNE Y SON CAPACES DE ESTIMULAR LAS RESPUESTAS INMUNES PROTECTIVAS

Grögl y Raymond en 1985, para identificar antígenos de *Trypanosoma cruzi* utilizaron las cepas C3H (He) (susceptible) y C57BL/6l (resistente) encontrando un total de 32 antígenos diferentes con peso molecular de 25,000 a 230,000 Daltons.

Varios investigadores han analizado la composición de las proteínas de superficie, reportando que una glicoproteína de 90,000 Daltons originalmente descrito por Snary y Hudson (1979) es común a los tres estados de *Trypanosoma cruzi* (Colli, 1984; Grögl, 1985).

Los antígenos de *Trypanosoma cruzi* han sido la base para el inmunodiagnóstico específico de la infección humana, con antisueros específicos o a través del uso de anticuerpos monoclonales. El mayor antígeno de superficie de los tripomastigotes sanguíneos reconocido por suero inmune es la glicoproteína de 90,000 Daltons, la cual es sensible a la tripsina y se une a la lectina *Len culinaris*, Nogueira y colaboradores proponen que esta glicoproteína es responsable que el parásito resista la fagocitosis por macrófagos; evidencias preliminares indican que la neuraminidasa de *Trypanosoma cruzi* descrita por Pereira es idéntica a la glicoproteína de 90,000 Daltons (Grögl, 1985; Tizard, 1985).

El mayor antígeno de superficie de los tripomastigotes metacíclicos parece ser una glicoproteína de 72,000 Daltons; parece que también esta sobre epimastigotes, pero ausente de tripomastigotes sanguíneos y amastigotes intracelulares, también esta involucrada en la morfogénesis del parásito en el insecto vector, esto fué probado con el anticuerpo monoclonal WIC 29.26 que inhibió la transformación de epimastigotes a tripomastigotes metacíclicos, la estructura de esta glicoproteína comprende más de un 50% de carbohidratos. El desarrollo de anticuerpos monoclonales dirigidos a los antígenos de superficie de *Trypanosoma cruzi* podrían facilitar nuevos análisis antigénicos del parásito (Kennet, 1984).

También se han identificado tres proteínas de superficie de tripomastigotes de 77,000, 82,000 y 88,000 Daltons, los antígenos de superficie en este estado tienen pesos moleculares desde 70,000 a 100,000 Daltons (Yoshida, 1985, 1986).

Diferencias en cuanto a la composición y distribución de carbohidratos en

las tres formas evolutivas de *Trypanosoma cruzi*, identificación de cepas así como la bioquímica del parásito han sido estudiadas mediante el uso de lectinas las cuales se unen específicamente a ciertos receptores de superficie (cuadro 24) (Araujo, 1980; Colli, 1984; Zenian, 1989).

Cuadro 24. LECTINAS USADAS EN EL ANALISIS DE LOS CARBOHIDRATOS DE SUPERFICIE DE *Trypanosoma cruzi*

Lectina	Especificidad de azúcar
<i>Limulus polyphemus</i>	Acido siálico
<i>Ulex europaeus</i>	α -L-fucosa
<i>Dolichos biflorus</i>	N-acetil- α -D-galactosamina
<i>Ricinus communis</i>	β -D-galactosa
<i>Canavalia ensiformis</i>	α -D-glucosa; α -D-manosa
<i>Gycine max</i>	N-acetil- α -D-galactosamina, D-galactosa
<i>Arachis hypogaea</i>	N-acetil-D-galactosa- β -galactosa
<i>Triticum vulgare</i>	N-acetil- β -D-glucosamina

III). DETERMINAR EL MECANISMO POR MEDIO DEL CUAL *Trypanosoma cruzi* EVADE LA INMUNIDAD DEL HOSPEDERO

El hecho de que bajos niveles de parásitos persistan en sangre y tejidos en la fase crónica sugiere que *Trypanosoma cruzi* posee múltiples medios para evadir la respuesta inmune dentro de los cuales se mencionan a continuación los siguientes.

a) Capping;

Proceso mediante el cual se evaden los mecanismos dependientes de anticuerpos, el cual es el movimiento de antígenos de superficie celular hacia un polo de la célula después de que los antígenos reaccionaron en forma cruzada con anticuerpos específicos (Tizard, 1985; Stites, 1988).

El capping es un fenómeno fisiológico ocurrido *in vivo*, las células de los mamíferos son capaces de la redistribución de los antígenos de superficie los cuales forman capas de agregados en presencia de anticuerpos o de Concanavalina A, este fenómeno ha sido reportado para ciertos protozoarios como *Leishmania enrietti*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolytica* y *Trypanosoma cruzi*. Esto sugiere que esta organización de antígenos de superficie puede ser el primer paso en la modulación antigénica, activación del sistema inmune o desarrollo de un estado tolerante del hospedero. Si las capas complejas son mudadas de la superficie del parásito estos complejos pueden ser responsables de algunas lesiones histopatológicas reportadas en varias parasitosis (Gonzalez, 1980).

Gonzalez-Cappa y colaboradores (1980) no lograron detectar alguna reorganización de los antígenos de superficie en las formas de cultivo de *Trypanosoma cruzi*. Kloetzel & Deane y Krettli & Nussenzweig reportaron que los parásitos recuperados de sangre de ratón tenían anticuerpos adheridos a su superficie, reportando que al adicionar complemento humano, se indujo la lisis de la cepa Y, pero la cepa CL no fué afectada, aún cuando ambas cepas poseían anticuerpos en su superficie; esto puede ser una indicación de que la reorganización es diferente en los antígenos de superficie de ambas cepas.

b) Complejos inmunes circulantes (CIC)

Otro mecanismo de evasión es el desprendimiento de los complejos antígeno-anticuerpo o CIC en la tripanosomiasis Americana experimental parece ser que es dependiente de la cepa de *Trypanosoma cruzi*. Chess en 1983 identificó un antígeno característico de las células del hospedero sobre los tripomastigotes, antígeno encontrado temporalmente ya que no fué detectado posteriormente en el cultivo de una línea celular, como vemos el parásito se cubre con antígenos del hospedero para así evadir la respuesta inmune (Galvao, 1984; Tizard, 1985).

c) Producción de enzimas

También se menciona la producción de enzimas por el parásito, las cuales se adhieren a la porción Fc de los anticuerpos unidos a la superficie de este (Tizard, 1985).

d) Escape del fago-lisosoma

En estudios sobre la interacción del *Trypanosoma cruzi* en macrófagos de

ratón activados y normales se ha observado que dentro de las dos primeras horas los tripanosomas se encontraban en las vesículas fagocíticas y que la fusión fago-lisosoma ocurría invariablemente. Sin embargo, cuando se examinaron cultivos infectados en un lapso de 72 a 96 hr, los macrófagos tenían un gran número de tripanosomas en su citoplasma, por lo que se cree que pueden escapar de su estado precario dentro del fago-lisosoma y residir en el citoplasma donde el macrófago no tiene ningún mecanismo especializado para destruir al parásito (Bloom, 1979).

IV) DESARROLLO DE MEDIDAS INMUNOPROFILACTICAS SEGURAS QUE PREVENGAN LA INFECCION Y MODIFIQUEN LA PROGRESION DE LA ENFERMEDAD.

Brener y Camargo (1982) postularon que una vacuna ideal contra la enfermedad de Chagas podría tener las siguientes características:

- a) No producir infección.
- b) Conferir total protección.
- c) No inducir agresión autoinmune.
- d) No inducir inmunosupresión.

Examinando la literatura hasta 1980 Brener y Camargo señalaron que la mayoría de las vacunaciones fallaron en los propósitos (a) y (b), pero en la mayor parte de los casos se cumple con los requisitos (c) y (d) (Plessmann, 1984).

Los protocolos de inmunización pueden incluir el uso de parásitos vivos atenuados (radiaciones, calor, fármacos), parásitos fraccionados; en años recientes los antígenos purificados han sustituido a las preparaciones crudas como agentes vacunantes, la mayoría de las investigaciones se han encaminado a los antígenos de superficie (Zweerink, 1984).

La inoculación de organismos atenuados a ratones resulto en una significativa protección pero no inmunidad total hacía otros desafíos letales, las vacunaciones con extractos purificados también han sido protectivos pero usualmente requieren del uso de adyuvantes. No hay evidencias de que el *Trypanosoma cruzi* sea capaz de una variación antigénica comparable a la descrita en la tripanosomiasis Africana; parece haber inmunidad cruzada entre cepas de *Trypanosoma cruzi* de amplio origen geográfico y

entre cepas obtenidas de animales y humanos (Tizard, 1985).

Experimentos realizados por Brener y Camargo (1982) utilizaron 8-MPO (8-metil-psoralen; agente de unión cruzada con el DNA), Actinomicin D o rayos X para eliminar la capacidad proliferativa de las formas inmunizantes fallando en los requerimientos (a) y (b).

Snary (1983) utilizó dos glicoproteínas de superficie como antígenos; una de 90 Kilodantons (Kd) y otra de 72 Kd. Al vacunar a ratones con el antígeno de 72 Kd desarrollaron más bajas parasitemias que los controles y sobrevivieron al desafío letal con tripomastigotes metacíclicos pero no con tripomastigotes sanguíneos. Los ratones vacunados con la glicoproteína de 90 Kd sobrevivieron a ambos desafíos y presentaron bajas cuentas de parásitos que los controles.

Todos las investigaciones que se han realizado con respecto a la vacunación solo se han hecho en animales de experimentación y no en el hombre ya que se pueden correr ciertos riesgos como por ejemplo al usar parásitos virulentos atenuados se corre el riesgo de que la atenuación sea inadecuada y se revierta a su virulencia, por lo cual hasta la fecha no hay inmunoprofilaxis segura. El control dependera de medidas sanitarias y del mejoramiento de las condiciones de vida de la población afectada.

DISCUSION

A pesar que la enfermedad es conocida desde el siglo XVI en Latinoamerica, en nuestro país existe hasta la fecha un gran desconocimiento por lo que se requiere de una mayor difusión de este problema entre la población en riesgo y en el sector salud.

Se considera un problema de tipo socioeconómico, el cual se ha ido extendiendo en América del Sur, República Mexicana y Sur de Estados Unidos.

La mejora en la vivienda, educación sanitaria y control del vector son aspectos que contribuyen con la propagación de la enfermedad, debido a la amplia gama de reservorios se ha facilitado la transmisión de la enfermedad al hombre y animales.

Las medidas profilácticas reducen temporalmente la tasa de crecimiento de los vectores, como en el caso de los insecticidas en los que se requiere de un rocimiento periódico y que abarque una gran extensión, lo cual se traduce en un gasto económico considerable, de lo cual carecen las poblaciones afectadas.

El conocimiento del problema entre la población en riesgo es importante ya que muchos refieren conocer y convivir con el agente transmisor, desconociendo el daño que puede ocasionarles.

No se ha encontrado un fármaco eficaz para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, a pesar de que la investigación en este campo ha sido amplia. La investigación inmunológica también se ha orientado hacia este problema en la búsqueda de una vacuna, esto se ha dificultado debido a la gran variabilidad antigénica y así como de los diferentes estados morfológicos del parásito.

Al paciente que la padece le trae repercusiones económicas, sociales y de salud.

BIBLIOGRAFIA

Abrahamsohn I.A. and Kloetzel J.; Presence of *Trypanosoma cruzi* antigen on the surface of both infected and uninfected cells in tissue culture. *Parasitology*. 1980; 80: 147.

Acua R.H.; Ensayos quimioterapeticos en la enfermedad de Chagas. *Bol of Sanit Panam*. 1982; 93: 1.

Afchain D., Le Ray D., Fruit J. and Capron A.; Antigenic make up of *Trypanosoma cruzi* culture forms: Identification of a specific component. *J Parasitol*. 1979; 65: 507.

Alcantara A. and Brener Z.; *Trypanosoma cruzi*: Role of macrophage membrane components in the phagocytosis of bloodstream forms. *Exp Parasitol*. 1980; 50: 1.

Alcina A., Fresno M.; Activation by synergism between endotoxin and lymphokines of the mouse macrophage cell line J774 against infection by *Trypanosoma cruzi*. *Parasite Immunology*. 1987; 9: 175.

Alfaro E.; Rendimiento comparativo de dos métodos de crianza de *Triatoma infestans*. *Bol Chil Parasitol*. 1973; 28: 103.

Alvar J.; Un caso agudo de enfermedad de Chagas causado por la inoculación accidental de laboratorio. *Laboratorio*. 1983; 76: 645.

Alvarez M., De Rissio A.M., Wyne J.G., Abramo O.L., Cerisola J. A.; Recolección de sangre en papel para diagnóstico de infección chagásica por inmunofluorescencia. *Bol Chil Parasitol*. 1971; 26: 2.

Andrade A.Z.; The canine model of Chagas' disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl*. 1984; 79: 77.

Andrade G.S., Andrade V., Brodskyn C., Magalhas J.B., Barral N.M.; Immunological response of Swiss mice to infection with three different strains of *Trypanosoma cruzi*. *Ann Trop Med and Parasitol*. 1985; 79: 397.

Andrade G.S., Andrade V., Rocha F.F.D., Barral N.M.; Analise antigenica de diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1981; 23: 245.

Andrews W.N. and Colli W.; Adhesion and interiorization of *Trypanosoma cruzi* in mammalian cells. J Protozool. 1982; 29: 264.

Anselmi A., Moleiro F.; La enfermedad de Chagas y la miocardiopatía chagásica. Arch Inst Cardiol Méx. 1972; 42: 622.

Apt Werner.; Tratamiento de la enfermedad de Chagas. Rev Med Chile. 1985; 113: 162.

Apt Werner, Aguilera X., Arribada A., Gómez L., Miles A. M., Widmer G.; Epidemiology of Chagas disease in Northern Chile: Isosyme profiles *Trypanosoma cruzi* from domestic and sylvatic transmission cycle and their association with cardiopathy. The American Society of Trop Med and Hyg. 1987; 37: 302.

Apt Werner, Arribada A., Aguilera X., Sandoval J.; Cardiopatía chagásica y zimodemos de *Trypanosoma cruzi* en Chile. Bol of Sanit Panam. 1988; 104: 450.

Apt Werner, Arribada A., Ugarte J.M., Sandoval J.; Cardiopatía Chagásica en la IV región. Estudio clínico, epidemiológico y electrocardiográfico en la localidad de Salamanca, Combarbala y Jilapel. Rev Med Chile. 1981; 109: 197.

Apt Werner, Mancilla R., Díaz M., Díaz S.; Efecto del Lampit sobre la infección experimental por *Trypanosoma cruzi* en el ratón. Bol Chil Parasitol. 1972; 27: 80.

Araujo G.F.; Detection of circulating antigens of *Trypanosoma cruzi* by enzyme immunoassay. Ann Trop Med Parasitol. 1982; 76: 25.

Araujo G.F., Chiari E., Dias J.C.P.; Demostration of *Trypanosoma cruzi* antigen in serum from patients with Chagas didease. Lancet. 1981; 2: 246.

Araujo G.F., Hadman E., Remington S.J.; Binding of lectin to the cell surface of *Trypanosoma cruzi*. J Protozool. 1980; 27: 397.

Arevalo J., Panebra A. and Santa Cruz C.; Relevance of hemin for *in vitro* differentiation of *Trypanosoma cruzi*. J Protozool. 1985; 32: 553.

Arribada C. A., Apt Werner., Ugarte J.M.; Evolución de la cardiopatía chagásica durante un período de cuatro años en un grupo de pacientes chilenos. Bol of Sanit Panam. 1987; 102: 49.

Atías A., Neghme A.; Parasitología Clínica. Buenos Aires, Argentina; Edit. Intermedica. 1979: 428.

Avila J.L., Avila A., Muñoz E.; Effect of allopurinol on different strains of *Trypanosoma cruzi*. Am J Trop Med Hyg. 1981; 30: 789.

Baracchini O.; Medios de cultivo para *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst A Lutz. 1969; 29:57.

Barbosa A.J.A.; Método imunocitoquímico para identificacao de amastigotas do *Trypanosoma cruzi* em cortes histológicos de rotina. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1985; 27: 293.

Barcinski A.M., Gattas R., Dosreis A.G., Previato M.L., Arguelles & Albanesi F.F.; Some aspects of the cellular immune response in experimental and human Chagas' disease: A summmary. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rfo de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 59.

Barclay R.M.G. and William C.B.; Biology and Physiology of the lower *trypanosomatidae*. Microbiological Reviews. 1980; 44: 140.

Barousse A.P., Costa J.A., Espasto U., La Plume H. & Seguar E.L.; Enfermedad de Chagas e inmunosupresion. Medicina (Buenos Aires). 1980; 44: 17.

Barousse A.P., Espasto M.O., Mandel S., Souza M.F.; Enfermedad de Chagas congénita en área no endémica. Medicina (Buenos Aires). 1978; 38: 611.

Basombrio M.A., Arredes H., Uncos A.D., Rossi R. and Alvarez E.; Field trial of vaccination against American trypanosomiasis (Chagas' disease) in domestic guinea pigs. Am J Trop Med Hyg. 1987; 37: 57.

Basombrio M.A. and Besichio S.; *Trypanosoma cruzi* culture used as vaccine to prevent chronic Chagas' disease in mice. Infect Immun. 1982; 36: 351.

Basso E. B., Moretti E., Albesa I., Kravetz F.A., Eraso A., De Alesandro A.; Infección natural de *Acodon Dolores*, Thomas, 1916 (*Rodentia cricetidae*) por el *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1982; 24: 21.

Bauer G.P., Electron microorganism in the reduviid vector. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 25.

Bergoglio M.R., Transmisión de la enfermedad de Chagas por transfusión sanguínea. Bol of Sanit Panam. 1974: 71.

Bertelli M.S., Brener Z.; Infection of tissue culture cells with bloodstream trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*. J Parasitol. 1982; 66: 992.

Bertram G.K.; Farmacología Básica y Clínica. Méx. D.F., Edit. El Manual Moderno. 1987: 343.

Biagi F., Enfermedades parasitarias. 2a Edición. Méx. D.F., Edit. La Prensa Médica Mexicana. 1976:138.

Bittencourt A.L., Mota E.; Isoenzyme characterization of *Trypanosoma cruzi* from congenital cases of Chagas' disease. Annals of Trop Med and Parasitology. 1985; 79: 393.

Bloom R. B.; Games Parasites play : How parasites evade immune surveillance. Nature. 1979; 279: 21.

Boggs R.D. and Winkelstein.; El Leucocito. Méx. D.F., Edit. El Manual Moderno. 1985: 50-65,74.

Boletín Mensual Epidemiológico (SSA).

Bongertz U., Hungerer K.D., Galvao-Castro B.; *Trypanosoma cruzi*: Circulating antigens. Mem Ins Oswaldo Cruz, Río de Janeiro. 1981; 76: 71.

Borda C.E., Rea F.M.J.; Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en Yacreta-Apipe, Argentina. Bol of Sanit Panam. 1981; 90: 311.

Brazil P.R., Da Silva R.A.; Triatomine vectors of *Trypanosoma cruzi* like trypanosomes in urban areas of Sao Luiz, Maranhao, Brazil. Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg. 1983; 77: 568.

Brener Z.; Biology of *Trypanosoma cruzi*. Annu Rev Microbiol. 1973; 27: 347.

Brener Z.; Simposio sobre nuevos enfoques en la investigación de la tripanosomiasis americana. Bol of Sanit Panam. 1977; 83: 106.

Brener Z.; Immunity to *Trypanosoma cruzi*. Adv Parasitol. 1980; 18: 247.

Brener Z.; Recent advances in the chemotherapy of Chagas' disease. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rfo de Janeiro. 1984; 79: 149.

Breve reseña. Situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en México. Paludismo. 1989; 1: 28.

Britten V. and Hudson L.; Isolation and characterisation of human T cell lines from a patient with Chagas' disease. Lancet. 1985; 21: 637.

Brown W.H.; Parasitología Clínica. 4a edición. Méx. D.F., Edit. Interamericana. 1981: 278-283.

Bueren J.V., Hodson S., Miles M.A. and Neal R.A.; Zymodeme analysis of laboratory strains of *Trypanosoma cruzi* in relation to drug susceptibility. Trans of the Roy Soc Trop Med and Hyg. 1989; 83: 207.

Burgess D.E., Kuhn R.E. and Carlson K.S.; Induction of parasite specific helper T lymphocyte during *Trypanosoma cruzi* infections in mice. J Immunol. 1981; 127: 2092.

Caldas A.R., Araujo F.F., Felix R.C. and Roitman I.; Incorporation of ammonium in aminoacids by *Trypanosoma cruzi*. J Parasitol. 1980; 66: 213.

Campos N.A., Lima M.F.W. and Andrade A.F.B.; Purification of tissue forms (amastigotes) of *Trypanosoma cruzi* by immunoaffinity chromatography. J Protozool. 1985; 32: 84.

Camargo E.M.; Reacciones serológicas y consecuencias sociales de los resultados positivos a la enfermedad de Chagas. Bol of Sanit Panam. 1972; 72: 576.

Camargo E.M., Segura L.E., Kagan G.I., Pacheco S.J.M., Da Rochas C.J., Yanovsky F., Guimaraes G.M.C.; Normalización del diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en las Américas: Evaluación de tres años de colaboración. Bol of Sanit Panam. 1987; 102: 449.

Cardoni R.L., Docampo R. and Casellas A.M.; Metabolic requirements for the damage of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes by human polymorphonuclear leukocytes. J Parasitol. 1982; 62: 547.

Carniol C., Neves M., Zingales B., De Araujo P.S. and Colli W.; Plasma membrane origin of *Trypanosoma cruzi* antigenic determinants in Chagas' disease. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1982; 24: 83.

Carrada B.T.; Tripanosomiasis americana de Chagas. Bol Med Hosp Infant Méx. 1983; 8: 408.

Carrasco G.H.A., Mora G.R., Inglessis G., Contreras J.M., Marval J. y Fuenmayor A.; Estudio de la función del nodo sinusal y de la conducción atrioventricular en pacientes con enfermedad de Chagas. Arch Inst Cardiol Méx. 1982; 8: 408.

Carvalho M.E., Reed G.S., Warren J.D.; Cross reactivity between *Trypanosoma cruzi* and *Leishmaniae* antigens in the lymphocyte blastogenesis assay. Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg. 183; 77: 416.

Casanova E.E., Marin V.C., Escobar T., Paniagua., Muñoz H.; Estudio seroepidemiológico de la enfermedad de Chagas en trabajadores de potreros procedentes de zonas endémicas. Rev Med Chile. 1981; 109: 206.

Castagnino H.E., thompson C.A.; Cardiopatía chagásica. Buenos Aires.; Edit. Kapelusz. 1980: 1-53, 211-309.

Castanys C.S., Osuna C.A., Gamarro C.F., Ruiz P.L.M., Gonzalez M.J., Fernandez B.M. y Martínez R.C.; Acción *in vivo* de tres derivados benzo (de) isoquinolil-1,3-diona sobre *Trypanosoma cruzi*. Laboratorio. 1984; 77:177.

Castrillón R.L.E., García F.W., Perez G.C.; El efecto terapéutico en el ratón cepa CFW del alopurinol sobre la tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas). Salud Pública de México. 1984; 26: 146.

Cazzulo J.J., Juan M.S., Segura L.E.; The malic enzyme from *Trypanosoma cruzi*. Journal of General Microbiology. 1977; 99: 237.

Cedillos A.R., La enfermedad de Chagas en el Salvador. Bol of Sanit Panam. 1975; 78: 430.

Cedillos A.R., Hubsch R., Tonn J.R., Escalante M.P., Carrasquedo B. y Liendo H.; Comparación de dos métodos de laboratorio para examinar xenodiagnósticos. Bol of Sanit Panam. 1982; 92: 49.

Cedillos A.R., Torrealba J.W., Mosca W.T. y Ortegon A.; El xenodiagnóstico artificial en la enfermedad de chagas. Bol of Sanit Panam. 1982; 93: 240.

Cerisola A.J., Lazzar J.O.; La transmisión de la enfermedad de Chagas por la transfusión de sangre. Jornadas epidemiológicas Argentinas 1967; 1: 203.

Cerisola A.J., Rohwedder W.R., Del Prado C.E.; Rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica humana utilizando ninfas de diferentes especies de triatomíneos. Bol Chil de Parasitol. 1971; 26: 57.

Colonel T.T., Mackie M.C., Major G.W., Hunter C.C., Brooke W.M.C.; Manual de medicina tropical. México, publicado para Science Service, Washington. 1946; 79: 165.

Colli W.; Interiorization of *Trypanosoma cruzi* into mammalian host cell in the light of the parasite membrane chemical composition. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 45.

Contreras del M.C., Rojas A., Villarroel F., Schenone H.; Comparación de sensibilidad de reacción de hemaglutinación indirecta para enfermedad de Chagas en muestras de sangre obtenidas por punción venosa y capilar (papel filtro) en pacientes con xenodiagnóstico positivo. Bol Chil Parasitol. 1984; 39: 60.

Corredor A.a. y Gautan C.A.; *Dasytus novemcinctus* infestado con *Schizotrypanum cruzi* en condiciones naturales. Rev de la Fac de Med. 1983; 31: 43.

Corsini C.A., and Costa G.M.; Immunosuppression in mice infected with *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909). Parte I. Rev Inst Trop Sao Paulo. 1981; 23: 114.

Corsini and Costa G.M.; Immunosuppression in mice infected with *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909). Parte II. Rev Inst Trop Sao Paulo. 1981; 23: 120.

Cortéz J.M., Gonzalez H.J.A., Reyes P.A., Martínez R.M.A., Velasco C.O., De la Torre R.M.; La miocardiopatía chagásica en México. Arch Inst Cardiol Méx. 1986; 56: 499.

Cortéz J.M., Soto R.G., Labastida M.H., Melchor A.H., De la Torre R., Duarte N., Velasco C.O.; Cardiopatía chagásica en México. Primer caso diagnosticado con xenodiagnóstico positivo. Arch Inst Cardiol Méx. 1984; 54: 575.

Cortéz J.M., Velasco C.O., Labastida M.H., Melchor A.H., Duarte N., De la Torre R.; La enfermedad de Chagas en Santiago Yosotiche Oaxaca, México. Salud Pública de México. 1985; 27: 60.

Cossio F.; Algunos conceptos sobre miocarditis chagásica. Día Med (Buenos Aires). 1977; 152: 529.

Costa G.A.; Recent advances in the clinical treatment of Chronica de Chagas myocarditis. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 165.

Crane J.M.S.T. and Dvorak A.J.; *Trypanosoma cruzi*: Pattern of RNA synthesis following infection of vertebrate cells. J Protozool. 1980; 27: 336.

Cunningham S.D., Benavides R.G. and Kuhn E.R.; Suppression of mitogen-induced blastogenesis by the *Trypanosoma cruzi* induced suppressor substance. J Parasitol. 1980; 66: 722.

Cunningham S.D., Grogl M. and Kuhn E.R.; Suppression of antibody responses in humans infected with *Trypanosoma cruzi*. Infection and Immunity. 1989; 39: 496.

Cunningham S.D., Hazen C.T. and Kuhn E.R.; Increased resistance to *Aeromonas hydrophila* in mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. J Parasitol. 1981; 67: 468.

Cunningham S.D., Kuhn E.R. and Rowland E.C.; Suppression of humoral responses during *Trypanosoma cruzi* infection in mice. Infect Immun. 1978; 22: 69.

Cunningham S.D., and Kuhn E.R.; *Trypanosoma cruzi* induced suppression of the primary immune response in murine cell cultures to T-cell dependent and independent antigens. J Parasitol. 1980; 66: 16.

Curotto M.A. and De Abrahamsohn I.; Contact hypersensitivity to DNF in *Trypanosoma cruzi* infected mice. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1982; 24: 69.

Cuthbertson R.; Kinetoplast DNA in *Trypanosoma equinum*. Department of Zoology, University of Georgia, Athens. 21A.

Chagas F.C.; Some considerations on the importance of the discovery of Chagas' disease. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl. 1987; 1: 3.

Chandler C., Read P.C.; Introducción a la Parasitología. Barcelona (España), Edit. Omega. 1965: 160-167, 623-637.

Chao D. and Dusank G.D.; Monoclonal antibodies to metacyclic stage antigens of *Trypanosoma cruzi*. Am J Trop Med Hyg. 1985; 34: 694.

Chapman D.M., Baggaley C.R., Godfrey-Fausset F.P., Malpas J.T.; White G., Canese J. and Miles M.A.; *Trypanosoma cruzi* from the Paraguayan Chaco: Isoenzyme profiles of strain isolated at Makth-lawaiya. J Protozool. 1984; 31: 482.

Chávez J., Olisnei N.M., Telles De Souza H.B.W., Irulegui I. e Coppi V.A.; Diposicao de complexos imunes na Doença de Chagas experimental. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1982; 24 : 11.

Chester B.P., Clifton J.R., Wayne C.E., Parasitología Clínica. 2a edición. España, Edit. Salvat. 1986: 100-108.

Chia-Tung P.S.; *Trypanosoma cruzi*: In vitro interactions between cultured amastigotes and human skin-muscle cells. *Experimental Parasitology*. 1978; 45: 274.

Chia-Tung P.S.; *Trypanosoma cruzi*: Intracellular stages grown in a cell-free medium at 37°C. *Experimental Parasitology*. 1978; 45: 215.

Choromanski L. and Kuhn R.E.; Use of parasite antigens and interleukin-2 to enhance suppressed immune response during *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *Infection and Immunity*. 1987; 55: 403.

De Alessandro A., Eberhard M., De Hincapie O. y Halstead S.; *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in *Saimiri sciureus* from Bolivia and *Saguinos mistax* from Brazil. *Am Trop Med Hyg*. 1986; 35: 285.

De Aluja S.A.; Miocarditis por *Trypanosoma cruzi* en un perro. *Veterinaria, México*. 1985; 16: 41.

Deane P.M., Jansen M.A., Mangia R.H.R., Goncalves A.M., Morel C.V.; Are our laboratory "strains" representative samples of *Trypanosoma cruzi* populations that circulate in nature. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro Suppl*. 1984; 79: 19.

Deane P.M., Souza M.A., Pereira M.N., Goncalves M.A., Momen H. and Morel M.C.; *Trypanosoma cruzi*: Inoculation schedules and reisolation methods select individual strains from doubly infected mice, as demonstrated by Schizodeme and zymodeme analyses. *Protozool*. 1984; 31: 276.

Delgado A.M., Santos-Buch C.H.A.; Transplacental transmission and fetal parasitosis of *Trypanosoma cruzi* in outbred white Swiss mice. *Am J Trop Med Hyg*. 1978; 27: 1108.

De Arias A.r. and Ferro E.A.; Quantification of *Trypanosoma cruzi* parasitemia by direct micromethod. *Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg*. 1988; 82: 248.

De Carvalho T.C. & De Souza W.; Infectivity of amastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1986; 28: 205.

De Resende M.J.; The digestive tract in Chagas'disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Suppl*. 1984; 79: 97.

De Sánchez N., Marinkelle J.C y Guhl F.; Observaciones prácticas para la patronización de la reacción de inmunofluorescencia indirecta para el diagnóstico de algunas enfermedades parasitarias. Rev Lat Amer Microbiol. 1982; 24: 55.

De Sánchez N., Marinkelle J.C. y Guhl F.; El uso de antígeno mixto en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas y toxoplasmosis con la prueba de inmunofluorescencia indirecta. Rev Lat Amer Microbiol. 1983; 25: 163.

De Souza A.G., Valerio-Wanderley D.M., Buralli G.M. & De Andrade J.C.R.; Consolidation of the control of Chagas' disease vectors in the states of Sao Paulo. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro Suppl. 1984; 79: 125.

De Souza W., De Carvalho U.T. and Benchimol M.; *Trypanosoma cruzi*: ultraestructural, cytochemical and freeze fracture studies of protein uptake. Exp Parasitol. 1978; 45: 101.

De Souza W. & Souto-Pradón T.; The cells surface of *Trypanosoma cruzi*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl. 1978; 79: 1.

Díaz T.E.G., Castro A.J., Franke De C.B.M. and Cazzulo J.J.; Interaction of benzimidazole reactive metabolites with nuclear and kinetoplastic DNA, proteins and lipids from *Trypanosoma cruzi*. Experientia. 1988; 44: 880.

Dickey W., Symington M.; New focus of Chagas' disease in México. The Lancet. 1987; 10: 100.

Does R.G.A., Maldonado S.M., Mendoca P.L. and Barcinski A.M.; Characterization of the T-cell proliferative response to a purified glycopeptide antigen (Gp-25) present on the *Trypanosoma cruzi* cell surface. Infect and Immun. 1986; 51: 369.

Doyle S.P., Dvorak S.P. and Dvorak A.J.; *Trypanosoma cruzi* quantification and analysis of the infectivity of cloned stocks. J Protozool. 1984; 31: 280.

Dvorak A.J., Hall E.T., Crane S.T.M., Engel C.J., Mc Daniel P.J. and Uriegas R.; *Trypanosoma cruzi*: Flow cytometric analysis. I analysis of total DNA/organism by means of mithramycin-induced fluorescence. J Protozool. 1982; 29: 430.

Dvorak A.J., Hartman L.D. and Miles A.M.; *Trypanosoma cruzi*: Correlation of growth to zymodeme type in clones derived from various sources. J Protozool. 1980; 27: 472.

Dvorak A.J., Postan M.; Estudios sobre la infección de ratones endogámicos con clones de *Trypanosoma cruzi*. Bol of Sanit Panam. 1987; 103; 93.

Engel C.J., Doyle S.P. and Dvorak A.J.; *Trypanosoma cruzi*: Biological characterization of clones derived from chronic chagasic patients. II Quantitative analysis of the intracellular cycle. J Protozool. 1985; 32: 80.

Engel C.J., Dvorak A.J., Segura L.E. and Crane S.T.M.; *Trypanosoma cruzi*: Biological characterization of 19 clones derived two chronic chagasic patients. I Growth kinetics in liquid medium. J Protozool. 1982; 29: 555.

Falasca A., Granada D., Buccolo J., Gili M., Merlo A., Zoppi J., Mareso E.; Susceptibilidad del mono *Cebus apella* a la inoculación de distintas cepas de *Trypanosoma cruzi*. Bol of Sanit Panam. 1987; 102: 555.

Faust C.E., Farr R.P., Clifton J.R.; Parasitología Clínica. 2a edición. Méx.D.F., Edit. Salvat. 1975: 107-116.

Ferreira R.C.C. & Ferreira L.C.S.; CL 64 855, a potent anti-*Trypanosoma cruzi* drug, is also mutagenic in the *Salmonella* microsome assay. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl. 1986; 81: 49.

Filardi L.S. & Brener Z.; A rapid method for testing *in vivo* the susceptibility of different strains of *Trypanosoma cruzi* to active chemotherapeutic agents. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro. 1984; 79: 221.

Flores M.; Ensayos de campo preliminares para medir la acción residual del hexacloruro sobre ninfas de *Triatoma infestans*. Bol Chil Parasitol. 1972; 27: 129.

Fruit J., Afchain D., Patitprez A. and Capron A.; *Trypanosoma cruzi*: Location of a specific antigen on the surface of bloodstream trypomastigote and culture epimastigote forms. Experimental Parasitology. 1978; 45: 183.

Galvao C.B., Sa Ferreira J.A. and Pirmez C.; Immunopathological aspect of american trypanosomiasis: The role immune complexes in the pathogenesis of the disease. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rfo de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 69.

García S.E., Gillian C.F.; *Trypanosoma cruzi* development is independent of protein digestion in the gut of *Rhodnius prolixus*. The Journal of Parasitology. 1980; 6: 66.

García S.E., Vieira E., Goncalves A.M.; Strain of *Trypanosoma cruzi* and its biochemical characterization after passage through different invertebrate hosts. Ann Trop Med and Parasitology. 1986; 80: 361.

García S.E., Vieira E., Lima G.J.E., Goncalves A.M.; Molecular biology of the interaction *Trypanosoma cruzi* invertebrate host. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rfo de Janeiro. 1984; 79: 33.

Godoy A.G.; Evaluación del radioinmunoensayo aplicado al estudio serológico de la enfermedad de Chagas. Rev Lat Amer Microbiol. 1978; 20: 189.

Goldberg S.S. and Chiari E.; Growth and isolation of single colonies of *Trypanosoma cruzi* on solid medium. J Parasitol. 1980; 66: 677.

Goldberg S.S., Contreras T.V., Salles M.J., Bonaldo C.M., De Lima F.M.P., Linss L.J., Valle D. and Morel M.C.; Facts and hypothesis on *Trypanosoma cruzi* differentiation. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rfo de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 45.

Goldsmith S.R., Ortega M., Zárate J.R., Zárate G.L., Beltrán F.; Encuestas seroepidemiológicas de la enfermedad de Chagas en Chiapas, México. Arch Invest Med (Méx.). 1983; 14: 43.

Goldsmith S.R., Zárate J.R., Kagan I., Cedeño-Ferreira J., Galindo-Vasconcelos M., Paz E.A.; El potencial de la transmisión en la enfermedad de Chagas por transfusión sanguínea: Hallazgos serológicos entre donadores en el estado de Oaxaca. Salud Pública de México. 1978; 29: 439.

Goldsmith S.R., Zárate J.R., Kagan I., Jacobson B.L. y Morales G.; Estudios clínicos y epidemiológicos de la enfermedad de Chagas en Oaxaca,

México y un estudio complementario de siete años. I Cerro del Aire. Bol of Sanit Panam. 1986; 100: 145.

Gómez L.M., Apt Werner y Sandoval J.; Evaluación de la reacción de hemaglutinación indirecta para la enfermedad de Chagas en muestras de sangre humana total recolectadas mediante papel filtro. Rev Med Chile. 1987; 115: 329.

Gómez TR., Vázquez R.M.L., Mooser B.O., Ramírez I.J.M.; "Enfermedad de Chagas en el estado de Aguascalientes" aislamiento de una nueva cepa de *Trypanosoma cruzi* en el estado de Aguascalientes (parte I). Arch Inst Cardiol (Méx.). 1983; 59: 139.

Goncalves M.T.C., Herman L. and Ribeiro J. De A.; Estudio anatómico e morfométrico dos folículos testiculares de algunas especies de Triatominae (*Hemiptera:reduvidae*). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1987; 82: 543.

Gonzalez C.S.M., Bronzina A., Katzin M.A., Golfera H., Martini W.G. and Segura L.E.; Antigens of subcellular fractions of *Trypanosoma cruzi*. III Humoral immune response and histopathology of immunized mice. J Protozool. 1980; 27: 467.

Gonzalez C.S.M., Kloetzel J., Katzin M.A. and Dos Santos R.R.; *Trypanosoma cruzi*: Activity of immune sera on surface antigens. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1980; 22: 275.

Gonzalez C.S.M., Sanz P.O., Muller A.L., Mocina A.H., Fernandez J., Rimoldi T.M. and Sica P.R.E.; Peripheral nervous system damage in experiment al chronic Chagas' disease. Am J Trop Med Hyg. 1987; 36: 41.

Gonzalez J., Sagua H. y Arroyo J.; Rendimiento de la técnica de hemaglutinación indirecta para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en eluidos de papel filtro. Bol Chil Parasitol. 1985; 40: 67.

Gonzalez J., Araya J., Olivares H., Sagua H.; Reacción de ELISA para el diagnóstico de la tripanosomiasis americana. Absorbancias límites para sueros reactivos y no reactivos. Bol Chil Parasitol. 1986; 41: 21.

Goodman y Gilman. Bases Farmacológicas de la terapéutica. 5a edición. Edit. Interamericana. 1978: 840, 912, 913.

Grägl M. y Kuhn E.R.; Identification of antigens of *Trypanosoma cruzi* which induce antibodies during experimental Chagas' disease. J Parasit. 1985; 71: 183.

Gürtler E.R., Lauricella M., Solarz D.N., Bujas A.M. and Wisnivesky-Colli C.; Dynamics of transmission of *Trypanosoma cruzi* in a rural areas of Argentina. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1986; 28: 28.

Gürtler E.R., Solarz D.N., Lauricella A.M., Haedo S.A., Pietrokovski M.S., Alberti A.A., Wisnivesky-Colli C.; Dynamics of transmission of *Trypanosoma cruzi* in a rural areas of Argentina. III Persistence of *Trypanosoma cruzi* parasitemia among canine reservoirs in a two years follow up. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1986; 28: 213.

Gürtler E.R., Wisnivesky-Colli C., Solarz D.N., Lauricella M. y Bujas A.M.; Dinamica de la transmisión de *Trypanosoma cruzi* en una zona rural de Argentina: II relación entre la infección doméstica en los niños y perros y la densidad de *Triatoma infestans* infectados. Bol Of Sanit Panam. 1988; 104: 130.

Gusmao A.R., Rezende M.J., Rassi A., Gam A.A. and Neva A.F.; Antibody levels to *Trypanosoma cruzi* in infected patients with and without evidence of chronic Chagas' disease. Am J Trop Med Hyg. 1982; 31: 452.

Harit. E.A., Jan L.J., Minter G.E., Augustinus K.P. and Johannes K.A.H.; Trypsin-treats and coomassie blue-stained epimastigotes antigen in a microagglutination test for Chagas' disease. Am J Trop Med Hyg. 1987; 37: 66.

Harold W.B.; Parasitología Clínica. 4a edición. Méx. D.F., Edit. Interamericana. 1981: 279-283.

Harper A.H., Rodwell W.V., Mayes A.P.; Química Fisiológica. 7a edición. Méx. D.F., Edit. El Manual Moderno. 1980: 327.

Hernández-Matheson I.m., Frankowski Fr. and Held B.; Faeto maternal morbidity in the presence of antibodies to *Trypanosoma cruzi*. Trans of the Roy Soc of Trop Med Hyg. 1983; 77: 405.

Higuchi M.L., López E.A., Saldaña L.B., Pereira B.A.C., Stolf G.N.A., Bellotti G. & Pileggi F.; Immunopathologic studies in myocardial biopsies

of patients with Chagas' disease and idiopathic cardiomyopathy. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1986; 28: 87.

Hoare C.A.; Does Chagas' disease exist in Asia? (further contribution to this problem). Am J Trop Med Hyg. 1969:282.

Hoshino-Shimizu S., Nagasse-Sagahara K.T., Castillo A.E., Camargo E.M. y Schimizu T.; Diagrama de verificación para evaluar reactivos de hemaglutinación usados en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Bol of Sanit Panam. 1986; 101: 465.

Hudson L.; Autoimmune phenomena in chronic chagasic cardiopathy. Parasitology Today. 1985; 1: 6.

Hudson L.; Immunological consequences of infection and vaccination in south american trypanosomiasis. Phil Trans Roy Soc London. 1984; 307: 51.

Hudson L.; *Trypanosoma cruzi*: The immunological consequences of infection. Cell Biochem. 1983; 21: 299.

Hudson L., Britten V.; Immune response to south american trypanosomiasis and its relationship to Chagas' disease. Br Med Bull. 1985; 41: 175.

Hudson L., Grover F., Adviser S., Gutteridge E.W., Klein A.R., Peters W., Neal A.R., Miles A.M., Scott T.M., Nourish R. and Ager P.B., Road E.; Suggestes guidelines for work with live *Trypanosoma cruzi*. Trans of The Roy Soc Trop Med Hyg. 1983; 77: 416.

Hungerer K.d., Enders B. and Zwister O.; On the immunology of infection with *Trypanosoma cruzi*. II The preparation of an apathogenic living vaccine. Behring Inst Mitteil. 1976; 60: 84.

Iglesias J., Schenone S., Contreras Ma del C., Danitz A.M., Pineda C., Badulli A. Ma y Schenone H.; Enfermedad de Chagas en Chile. Sectores urbanos. IX Frecuencia de infección chagásica en madres y recién nacidos del sector oriente del área metropolitana, Chile. Bol Chil Parasitol. 1985; 40: 30.

Investigadores de OMS/OPS. Aspectos clínicos de la enfermedad de Chagas. Bol of Sanit Panam. 1974: 141.

James S.L., Kipnis T.L., Sher A. and Hoff R.; Enhanced resistance to acute infection with *Trypanosoma cruzi* in mice treated with interferon inducer. *Infect Immun.* 1982; 35: 588.

Jawetz E., Melnick L.J., Adelberg A.E.; *Manual De Microbiología Médica.* 5a edición. Méx. D.F., Edit. El Manual Moderno. 1981: 530, 531, 533.

Jay E.B., Hammadi Ettimad and Hill C.G.; Initiation of tripanosome trasformation from bloodstream trypomastigotes to procyclic trypomastigotes. *J Parasitol.* 1980; 66: 680.

Jeng K.C.G. and Kierszenbaum F; Alterations in production of immunoglobulin classes and subclasses during experimental *Trypanosoma cruzi*. *Infect Immun.* 1984; 43: 768.

Kawabata M., Uchiyama T., Mimori T., Hashiguchi Y., Coronel V.V.; Association of electrocardiographic abnormalities with seropositivity to *Trypanosoma cruzi* in Ecuador. *Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg.* 1987; 81: 7.

Keith M.P., Boltz C.r. and Schmatz M.D.; Separation of individual stages de *Trypanosoma cruzi* grown in cell culture by continuos free-flow electrophoresis. *J protozool.* 1982; 29: 109.

Kenneth S.W. and Mahmoud A.; *Tropical and geographical medicine.* United States of America., Edit. Mc Graw-Hill. 1984: 253-269.

Kidder W.G.; Characteristics of cytidine aminohydrolase activity in *Trypanosoma cruzi* and *Crithidia fasciculata*. *J Protozool.* 1984; 31: 298.

Kierszenbaum F; Is there autoimmunity in Chagas' disease?. *Parasitology.* 1985; 1: 4.

Kierszenbaum F; Protection of congenitally athymic mice against *Trypanosoma cruzi* infection by passive antibody transfer. *J Parasitol.* 1980; 66: 673.

Kierszenbaum F; Autoimmunity in Chagas' disease. *J Parasitol.* 1986; 72: 201.

Kierszenbaum F., Ackerman S.J. and Gleich G.; Destruction of bloodstream forms of *Trypanosoma cruzi* by eosinophil granule major basic protein. *Am J Trop Med Hyg.* 1981; 30: 775.

Kierszenbaum F. and Busko D.B.; Immunization against experimental Chagas' disease by using culture forms of *Trypanosoma cruzi* killed with a solution of sodium perchlorite. *Infect Immun.* 1975; 12: 461.

Kierszenbaum F. and Hayes M.M.; Mechanism of resistance against experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *Immunology.* 1980; 40: 61.

Kierszenbaum F. Knecht E., Budsko D.B. and Pizzimenti M.C.; Phagocytosis: A defense mechanism against infection with *Trypanosoma cruzi*. *J Immunol.* 1974; 112: 1839.

Kierszenbaum F. and Sonnenfeld G.; Characterization of the antiviral activity produced during *Trypanosoma cruzi* infection and protective effects of exogenous interferon against experimental Chagas' disease. *J Parasitol.* 1982; 68: 194.

Kierszenbaum F., Villalta F. and Tai Po-chun; Role of inflammatory cells in Chagas' disease. *J Immunol.* 1986; 136: 662.

Kirchhoff V.L., Gam A.A., Gillian C.F.; American Trypanosomiasis (Chagas' disease) in Central American immigrants. *The American Journal of Medicine.* 1987; 82: 915.

Knierim F., Sandoval J. y Muñoz E.; Reacción de hemaglutinación indirecta en la enfermedad de Chagas crónica. *Bol Chil Parasit.* 1973; 28: 54.

Kreier P.J.; Parasitic Protozoa. New York San Fco. London., Edit. Academic Press. Vol I. 1977: 135-171.

Kress Y., Bloom B.R., Wittner M., Rowen A. and Tanowitz H.; Resistance of *Trypanosoma cruzi* to killing by macrophages. *Nature (london).* 1975; 257: 394.

Krettli A.U.; Protective antibodies in *Trypanosoma cruzi* infections: Detection, functional activity and possible mechanisms of trypomastigote killing *in vivo* and *in vitro*. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rfo de Janeiro, Suppl.* 1984; 79: 59.

Krettli A.U., Cancado J.R. & Brener Z.; Affect of specific chemotherapy on the levels of lytic antibodies in Chagas' disease. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 1982; 76: 334.

Krettli A.U., Cancado J.R. & Brener Z.; Criterion of cure of human Chagas' disease after specific chemotherapy: Recent advances. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl.* 1984; 79: 157.

Krupp A.M., Tierney M.L., Jawetz E., Roe L.R., Camargo A.C.; *Manual de Diagnóstico Clínico y de Laboratorio.* 8a edición. Méx. D.F., Edit. El Manual Moderno. 1986: 725-729.

Laferriere J.D., Esterre P., Frenay C. and Dedet J. P.; Epizootiology of Chagas' disease near a forest settlement in French Guiana. *Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg.* 1989; 83: 202.

Lamano C.T.L., Ferreira A.I., Shao M.A.; Alteracoes do testículo humano na molestia de Chagas Avaliacao de cineta da espermatogenese. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1982; 24: 205.

Langenbach T.; *Trypanosoma cruzi*: Cell charge distribution. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1985; 27: 312.

Lemestre L.J., Afchain D., Orosco O., Loyens M., Breniere S.F., Desjeux P., Carlier Y., Martín U., Nogueira-Queiroz A.J., Le Ray D. and Capron A.; Specific and sensitive immunological diagnosis of Chagas' disease by competitive antibody enzyme immunoassay using a *Trypanosoma cruzi* specific monoclonal antibody. *Am J Trop Med Hyg.* 1986; 35: 86.

Lenzi L.H., Jansen M.A. & Deane P.M.; The recent discovery of what might be a primordial escape mechanism for *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl.* 1984; 79: 13.

Leon L., Vasconcelos M.E., Leon W., Cruz S.F., Docampo R. and de Souza W.; *Trypanosoma cruzi*: Effect of olivacine on macromolecular synthesis, ultrastructure, and respiration of epimastigotes. *Experimental Parasitology.* 1978; 45: 151.

Lima F.M. and Kierszenbaum F.; Biochemical requeriments for intracellular invasión by *Trypanosoma cruzi*: Protein synthesis. *J Protozool.* 1982; 29: 566.

Lima M.M., Jurberg P. & Ribeiro De A.J.; Behavior of triatomines (*Hemiptera: Reduviidae*) vectors of Chagas' disease. IV. fecundity, fertility and longevity of *Panstrongylus megistus* (Burm 1835) pairs and virgin females starved under laboratory conditions. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rfo de Janeiro, Suppl. 1987; 82: 501.

Lisboa B.A.; Actual aspects and epidemiological significance of congenital transmission of Chagas' disease. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rfo de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 133.

Litter Manuel; Farmacología. 4a edición. Argentina, Edit. El Ateneo. 1973: 112, 114, 1425-1450.

Lopetegui R. y Sosa M. C.; Desarrollo y diferenciación de *Trypanosoma cruzi* en medios líquidos libres de células. Rev Lat Amer Microbiol. 1982; 24: 125.

Loures M.A., Pimienta P.F.P., De Souza W.; Isolation of bloodstream trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* by a gradient of metrizamide. J Parasitol. 1986; 66: 1052.

Machado W.M., Morales-Filho J.P.P., Santos A.M.A. and Bettarello A.; Jejunal flora of patients with megaesophagus secondary to Chagas' disease. Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg. 1989; 83: 197.

Maguire H.J., Mott E.K., Souza A.J.A., Carvalho A.E., Borges R.N.N. y Guimães C.A.; Clasificación de electrocardiogramas y sistema abreviado de derivaciones para encuestas de poblaciones en relación con la enfermedad de Chagas. Bol of Sanit Panam. 1982; 93: 102.

Mansfield M.J.; Parasitic disease. United States of America. Edit. Marcel Dekker Inc. 1981; Vol 1: 137-161.

Mansfield M.J.; Parasitic disease. United States of America. Edit. Marcel Dekker Inc. 1981; Vol 2: 133-163.

Manson-Bahr & Apter F.I.C.; Manson's Tropical Disease. 18a edición, Great Britain. Edit. Baillière Tindall. 1983: 86-92.

Mancipar J.A., Lentwojt E., Segard E., Afchain D.S., Fruit J. & Capron A.; Peanut agglutinin affinity chromatography of *Trypanosoma cruzi* glycoproteins. Parasite Immunology. 1982; 4: 109.

Marcuschamer M.J., Reyes L.P.A.; Enfermedad de Chagas en México. Reporte de 5 casos comprobados. Arch Inst Cardiol Méx. 1978; 48: 952.

Marinkelle C.J., Vallejo G.A., Guhl F. y De Sánchez N.; Diferenciación entre *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli* en el intestino del vector *Rhodnius prolixus*, en base al comportamiento de estos flagelados frente a la actividad lítica del complemento. Rev Lat Amer Microbiol. 1985; 27: 21.

Mark E.A., Hincapie O. and Halstead S.; *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in *Saimiri sciureus* from Bolivia and *Saguinus mistax* from Brazil. Am J Trop Med Hyg. 1986; 35: 285.

Marr J.J. and Docampo R.; Chemotherapy for Chagas'disease : A perspective of current therapy and considerations for future research. Rev Infect Disease. 1986; 8: 884.

Martínez P.L.M., Martín F.E.; Una nueva cepa de *Trypanosoma* tipo *cruzi* con localización peritoneal preferente. Salud Pública de México. 1981; 23: 23.

Mc Cabe E.R., Remington S.J. and Araujo G.F.; *In vivo* and *in vitro* effects of cyclosporin a on *Trypanosoma cruzi*. Am J Trop Med Hyg. 1985; 34: 861.

Mc Cabe E.R., Remington S.J. and Araujo G.F.; *In vitro* and *in vivo* effects of itraconazole against *Trypanosoma cruzi*. Am J Trop Med Hyg. 1986; 35: 380.

Mc Cabe E.R., Remington S.J. and Araujo G.F.; Mechanisms of invasion and replication of the intracellular stage in *Trypanosoma cruzi*. Infection and Immunology. 1984; 6: 372.

Meira De O.J.S., Bulgarelli B.R., García S.E. and Marin N.J.A.; Ajmaline induced electrocardiographic changes in chronic *Trypanosoma cruzi* infected rats. Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg. 1986; 80: 415.

Meirelles L.M.N., De Araujo T.C.J. and De Souza W.; Interaction of epimastigote and trypomastigote forms of *Trypanosoma cruzi* with chicken macrophages *in vitro*. Parasitology. 1980; 81: 373.

Meirelles L.M.N., Santos B.H., Wanderley De S. & Araujo J.; Recent contributions for a better understanding of the *Trypanosoma cruzi*-cell muscle interaction. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 7.

Meirelles L.M.N. and Souza W.; Localization of a Mg⁺⁺-activated ATPase in the plasma membrane of *Trypanosoma cruzi*. J Protozool. 1984; 31: 135.

Melchor F.; Ensayos de campo preliminares para medir la acción residual del hexaclorociclohexano sobre ninfas de *Triatoma infestans*. Bol Chil Parasit. 1972; 27: 129.

Mervane S.J., Manzur M.F., Saavedra M.M.; Torsades de pointes o taquicardia ventricular atípica en un paciente con miocardiopatía chagásica. Rev Med Chile. 1984; 112: 479.

Metcalf C.L., Flint W.P.; Insectos destructivos e insectos útiles. Sus costumbres y su control. 4a edición. Méx. D.F.: 375-447

Milanes C.J., Carrasco A.H., Bellera J., Torres A., Fuenmayor A.; La electrocardiografía de alta frecuencia en el diagnóstico precoz de daño miocárdico en pacientes con enfermedad de Chagas. Arch Inst Cardiol Méx. 1982; 52: 477.

Milder R. and Kloetzel J.; The development of *Trypanosoma cruzi* in macrophages *in vitro*. Interaction with lysosomes and host cell fate. Parasitology. 1980; 80: 139.

Miles A.M.; The epidemiology of South American trypanosomiasis-biochemical and immunological approaches and relevance control. Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg. 1985; 77: 5.

Miles A.M.; The epidemiology of South American tripanosomiasis biochemical and immunological approaches and their relevance to control. Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg. 1983; 77: 5.

Minter-Goedbloed E.F.S. and Drapper C.C.; The latex agglutination for *Trypanosoma cruzi*: Unsuitable for testing animals. J of Trop Med and Hyg. 1980; 83: 157.

Morel C.M., Goncalves A.M., Simpson L. & Simpson A.; Recent advances in the development of DNA hybridization probes for the detection and characterization of *Trypanosoma cruzi*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 51.

Morilla G.A. y Bautista G.C.R.; Manual de Inmunología. 1a edición. Méx. D.F., Edit. Diana. 1986: 97-105.

Monteon M.V.; Anticuerpos sericos a *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre en la ciudad de México. La Revista de la Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, A.C. 1987; 9: 6.

Mosca W. and Plaja J.; Delayed hypersensitivity to heart antigens in Chagas' disease as measured by *in vitro* lymphocyte stimulation. J Clin Microbiol 1981; 14: 1.

Movel W., Schild O.H., Wilson A.; Applied pharmacology. Edit. Filadelfia, Toronto. 1976: 849-851. 238. Navarro E., Beltrán I.; Diccionario Terminológico de Ciencias Mdicas. 12a edición. Edit. Salvat, Méx. D.F. 1988: 343, 360, 433, 1127.

Neal A.R., Bueren V.J., Mc Coy G.N. and Iwobi M.; Reversal of drug resistance in *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania donovani* by verapamil. Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg. 1989; 83: 197.

Nobuko Y.; Surface antigens of metacyclic trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*. Infect and Immun. 1983; 40: 836.

Nocerino F. y Hernandez A.; Nueva línea básica de susceptibilidad a insecticidas de *Rhodnius prolixus*. Bol of Sanit Panam. 1985; 98: 261.

Nogueira N. and Cohn Z.; *Trypanosoma cruzi*: Mechanism of entry and intracellular fate in mammalian cells. J Exp Med. 1976; 143: 1402.

Nogueira N., Chaplan S., Typings J.D., Unkeless J. and Cohn Z.; *Trypanosoma cruzi*: Surface antigens of blood and culture forms. J Exp Med. 1981; 153: 629.

Nogueira N., Gorden S. and Cohn Z.; *Trypanosoma cruzi*: Modification of macrophage function during infection. J Exp Med. 1977; 146: 157.

Nogueira N.M., Klebanoff S.J. and Cohn Z.A.; *Trypanosoma cruzi*: Sensitization to macrophage killing by eosinophil peroxidase. J Immunol. 1982; 128: 1705.

O'Daly A.J. and Rodríguez B.M.; Protein and nucleotide contamination of bovine liver catalase used in culture medium explains growth of *Trypanosoma cruzi*. Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg. 1987; 81: 1.

Okanla O.E., Stumpf L.J. and Dusanic G.D.; Crossed-immunoelectrophoretic analyses of *Trypanosoma cruzi* epimastigote, metacyclic, and bloodstream forms. J Parasitol. 1982; 68: 538.

Olavo Da R.E., Maluf J. and De R. Correa R.; La enfermedad de Chagas vigilancia entomológica en el estado de Sao Paulo Brasil. Bol of Sanit Panam. 1971; 4: 387.

Oliveira F.A.M.; New alternatives for Chagas' disease control. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rfo de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 117.

Omah-Maharaj I.; Strain identification of *Trypanosoma cruzi* isolated from *Panstrongylus geniculatus* in Trinidad, West Indies. Trans of The Roy Soc of Trop Med and Hyg. 1989; 83: 209.

Ortega M. y Tay J.; Ensayo experimental de diferentes vias de infección por *Trypanosoma cruzi* en el ratón blanco. Bol Chil Parasit. 1972; 27: 6.

Osorno M.E., Giraldo C.L.E. y Corredor A.A.; Encuesta epidemiológica para la enfermedad de Chagas en la Vereda de Pizarreal, Norte de Santander. Resultados de las pruebas de gota gruesa y xenodiagnóstico natural y artificial en la población general de Pizarreal, municipio de Villa del Rosario norte de Santander. Rev de la Fac de Med. 1963; 31: 65.

Osorno M.E., Gonzalez A.I., Vega C., James M.M., Rodriguez C.S., Juárez F.J.; Aislamiento e identificación de *Trypanosoma theileri* en México. Veterinaria, Méx. 1981; 12: 19.

Osorno M.E. y Osorno M.H.; Técnica para obtener deyecciones hialinas como inóculo y para microanálisis con ninfas del quinto estadio de *Rhodnius prolixus* infectadas y normales. Rev de la Fac de Med. 1963; 31: 51.

Osorno M.E., Osorno M.H. y Schimer H.; Nuevos aspectos del método de xenodiagnóstico con *Rhodnius prolixus*. Rev de la Fac de Med. 1963; 31: 43.

Osuna C.A., Castanys S., Ortega G., Gamarro F., Braña F.M., Roldan M.C.; Estudio ultraestructural de la acción de dos derivados benzo(de)isoquinolil-1,3-diona sobre *Trypanosoma cruzi* "in vitro". Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1983; 25: 133.

Osuna C.A., Jimenez O.A., Guevara B.D.C.; Cultivo "in vitro" de *Trypanosoma cruzi* sobre células HELA: Estudio del ciclo intracelular. Revista Ibérica de Parasitología. 1980; 40: 189.

Osuna C.A., Jimenez O.A., Guevara B.D.C., Guevara P.D.; Cultivo "in vitro" de *Trypanosoma cruzi* sobre células HELA: Interacciones parásito-célula hospedadora. Revista Ibérica de Parasitología. 1980; 40: 283.

Osuna C.A., Jimenez O.A. y Lozano M.J.; Medios de cultivo para la obtención de formas metacíclicas de *Trypanosoma cruzi*: Revista Ibérica de Parsitología. 1979; 39: 129.

Paglini De O.P., Atilio P.J., Gremer G.M., Segura L.E. and Lacuara J.I.; Chronic Chagas' disease in the mouse: contractile response of the isolated myocardium. Am J Trop Med Hyg. 1985; 34: 1149.

Palatnik M., Barcinski M.A., Krieger H., Laranjeira S.N., Loureiro B.J.; Anti-T(Thomsen-Friedenreich) agglutinin in Chagas' disease. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1986; 28: 312.

Paulin J.J., White A.R.J. and Agosin M.; Ultraestructural changes in *Trypanosoma cruzi* epimastigotes grown in the presence of phenobarbital and metronidazole. Department of Zoology University of Georgia, Athens. (abstracts). 35.

Petana B.W.; La tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas) en el Caribe. Bol of Sanit Panam. 1978; 85: 301.

Peralta M.J., Manigot A.D., Huscilli A.E.O., Magalhães T.C.R., Almeida A.E. and Bastos A.; Anticorpos EVI ENP NA infecção chagásica crônica estudo em pacientes com diferentes formas clínicas. Rev Ins Med Trop, Sao Paulo. 1982; 42: 6.

Pereira G.M., Dorea G.J., John E.N., Castro N.C. and Macedo V.; Serum albumin and gamma globulin in *Trypanosoma cruzi* infections. J of Trop Med and Hyg. 1983; 77: 32.

Petana B.W.; La importancia de los efectos clínicos, psicológicos y sociales experimentados por pacientes con tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas). Bol of Sanit Panam. 1980; 88: 214.

Pezzarossi Z.H.E., Ojeda R.F., Lazo V.P., Ponce L.S., Ruiz P.G.; Tripanosomiasis aguda (reporte de un caso y revisión del tema). Rev Invest Clín (Méx). 1986; 38: 177.

Piesman J., Sherlock A.I., Mota E., Todd W.CH., Hoff R. and Weller H.T.; Association between household triatomine density and incidence of *Trypanosoma cruzi* infection during a nine years study in Castro Alves, Bahia, Brazil. Am J Trop Med Hyg. 1985; 34: 866.

Pinchin R., de Oliveira F.A.M. y Gilbert B.; Un ensayo de permetrina en el terreno para el control de *Triatoma infestans*. Bol of Sanit Panam. 1982; 92: 238.

Pinto D.J.C.; Acute Chagas' disease. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 85.

Pinto D.C.J. & Brener S.; Chagas' disease and blood transfusion. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 139.

Piras M.M., Osorio R.O. and Piras R.; *Trypanosoma cruzi*: Antigenic composition of axonemes and flagellar membranes of epimastigotes cultures *in vitro*. Exp Parasitol. 1981; 51: 59.

Pirata A. & Macedo V.; Morbidity of Chagas' disease heart. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 93.

Pizzi P.T., Acosta C.V., Smoky G. y Dfáz A.M.; Enfermedad de Chagas en un paciente con trasplante renal y tratamiento inmunosupresor. Rev Med Chile. 1982; 110: 1207.

Plessmann C.E.: Immunoprotection in Chagas'disease. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rfo de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 169.

Ponce C. y Zeledon R.; La enfermedad de Chagas en Honduras. Bol of Sanit Panam. 1973; 3: 239.

Procedimientos de Laboratorio Clínico, (I.M.S.S.), MMéxico. 1978: 408. 278. Ramirez L.E. & Brener Z.; Evaluation of the rabbit as a model for Chagas'disease. I Parasitological studies. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rfo de Janeiro. 1987; 82: 531.

Ramos C., Lamoyi E., Feoli M., Rodriguez M., Perez M. and Ortiz-Ortiz L.; *Trypanosoma cruzi*: Immunosuppressed response to different antigens in the infect mouse. Exp Parasitol. 1978; 45: 190.

Reseña; Modelos animales de la enfermedad de Chagas. Bol of Sanit Panam. 1987; 103: 160.

Reseña; Situación de la enfermedad de Chagas en las americas. Bol of Sanit Panam. 1984; 2: 3.

Revelli S., Bottasso O., Moreno H., Valenti J., Nocito N., Amerio S., Morini J.; La enfermedad del adyuvante en ratas infectadas experimentalmente con *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop, Sao Paulo. 1986; 28: 154.

Revelli S., Moreno H., Berra H., Velenti J.L., Nocito A., Amerio N., Morini J.C.; Efecto de extractos ricos en ARN inmune sobre algunos parámetros inmunopatológicos de ratas infectadas con *Trypanosoma cruzi*. Bol of Chil Parasitol. 1985; 40: 51.

Reyes L.P.A.; Inmunología de la enfermedad de Chagas. Arch Inst Cardiol, Méx. 1978; 48: 947.

Reyes L.P.A.; Enfermedad de Chagas en México. Arch Inst Cardiol, Méx. 1984; 54: 1.

Reyes L.P.A., Mendoza C.M., Marcuschamer J., García G.Z.; Miocardiopatía congestiva y tripanosomiasis americana (estudio clínico y serológico). Salud Pública de México. 1983; 25: 139.

Ribeiro Dos Santos R.; chagasic cardiopathy: A disease reflecting imbalance in the host-parasite relationship. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 67.

Ribeiro Dos Santos and Hudson L.; *Trypanosoma cruzi*: binding parasite antigens to mammalian cell membranes. Parasitol Immunol. 1980; 2: 1.

Ribeiro Dos Santos and Hudson L.; trypanosoma *cruzi*: Immunological consequences of modification of host cells. Clin Exp Immunol. 1980; 40: 36.

Rimoldi M.T., Cardoni R.L., Olabuenaga S.E. and De Braco M.M.; *Trypanosoma cruzi*; Secuence of phagocytosis and cytotoxicity by human polymorphonuclear leucocytes. Immunology. 1981; 42: 521.

Rimoldi M.T., Olabuenaga E.S. and De Bracco E.M.M.; Phagocytosis of *Trypanosoma cruzi* by human polymorphonuclear leucocytes. J Protozool. 1981; 28: 351.

Rodríguez I.C. & Borges P.J.; A follow-up evaluation of Chagas' disease in two areas in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 107.

Rogerson G.W. and Gutteridge W.E.; Catabolic metabolism in *Trypanosoma cruzi*. Int J for Parasitol. 1980; 10: 131.

Rojas A., Sotelo M.J., Villaroel F. y Contreras Ma del C.; La importancia del perro y el gato en la epidemiología de la enfermedad de Chagas. Bol Chil Parasit. 1973; 28: 42.

Rojas De A., Monzon Ma I., Velázquez De S.G., Guillen E. T. Arrua T.N.; Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en localidades rurales de Paraguay. Bol of Sanit Panam. 1984; 96: 18z.

Romero F.C., De Araujo R.C.; Cyanide-sensitive and insensitive respiration of *Trypanosoma cruzi*. Annals of Trop Med and Parasitol. 1978; 1: 79.

Rotberg J.T., Bassoti G.R., Caffroni V.J., Gorodezky M., Estandía C.A.; Miocardiopatía chagásica presentación de un caso. Arch Inst Cardiol (Méx). 1976; 46: 336.

Rothhammer F.; Chagas; disease in chilean mummies. Parasitology Today. 1985; 1: 3.

Sagua H., Araya J., Gonzalez J. y Fuentes A.; Seropositividad chagásica en banco de sangre de zona endémica algunos aspectos epidemiológicos de los hemodonantes. Bol Chil Parasitol. 1982; 37: 24.

Salazar S.P.Ma., Bucio T.M.I., De Haro A.I., Tay Z.J., Guerrero T.M.; Reservorios y transmisores de *Trypanosoma cruzi* en el estado de Oaxaca. salud Pública de México. 1987; 29: 26.

Salazar S.P.Ma., De Haro A.I., Jimenez M.J., García C.E.; Dos nuevas localizaciones de transmisores de la enfermedad de Chagas en la República Mexicana. Salud Pública de México. 1983; 25: 77.

Salazar S.P.Ma., De Haro A.I.; Manual de técnicas para el diagnóstico morfológico de los parásitos. Méx. D.F., Edit. Francisco Mendez Cervantes. 1980: 23, 135, 136, 137.

Salazar S.P.Ma., Jimenez M.J., Tay Z.J. y Cardenas R.L.; Estudio comparativo de la patogenicidad de cuatro cepas de *Trypanosoma cruzi* en el ratón blanco. Rev Lat Amer Microbiol. 1978; 20: 51.

Salazar S.P.Ma., Tay Z.J., Bucio M.J., De Haro A.I., Anzures M.E., Flores A.S.; Primer caso de megaesófago con serología positiva a *Trypanosoma cruzi*. Salud Pública de México. 1984; 26: 452.

Salazar S.P.Ma., Tay Z.J., De Haro A.I., Ruíz H.L., Bucio I., Jimenez J., García Y. y Gutierrez M.; Seropositividad a *Trypanosoma cruzi* en cuatro grupos de población del estado de Oaxaca. Salud Pública de México. 1984; 26: 589.

Salazar S.P.Ma., Tay Z.J., Ontiveros A., Jimenez J., De Haro A.I., Bucio M.I., Ruíz A.L.; Enfermedad de Chagas en México (presentación de casos clínicos). Rev Fac Med Méx. 1982; 3: 11.

Salvatore De S.G., Pontes De C.L.C. and Galvao C.B.; Antigenic differences between insect and culture derived *Trypanosoma cruzi* metacyclic tripomastigote extracts. Am J Trop Med Hyg. 1987; 37: 63.

Sánchez G., Duarte A.C., Araujo J. y D'Alessandro A.; Infección por *Trypanosoma cruzi* en el hombre versus enfermedad de Chagas en Tibu norte de Santander, Colombia. Bol of Sanit Panam. 1971; 2: 463.

Saravia G.N., Holguin F.A., Cibulskis E.R. and D'Alessandro A.; Divergent isoenzyme profiles of sylvatic and domiciliary *Trypanosoma cruzi* in the eastern plains, Piedmont and Highlands of Colombia. Am J trop Med Hyg. 1987; 36: 59.

Scott R.V. and Matthews R.T.; The efficacy of an N-sustituted imidazole RS-49676, against a *Trypanosoma cruzi* infection in mice. Am J Trop Med Hyg. 1987; 37: 308.

Scharfsten J., Luquetti A., Murta M.A.C., Senna M., Rezende M.J., Rassi A. and Mendoca P.L.; Chagas' disease: serodiagnosis with purified GP 25 antigen. Am J Trop Med Hyg. 1985; 34: 1153.

Schechter M.; Evaluation of a monoclonal antibody affinity purified antigen for zymodeme specific serological diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1987; 82: 81.

Schenone H.; Estado de los estudios epidemiológicos sobre la enfermedad de Chagas en Chile. Bol of Sanit Panam. 1971; 70: 250.

Schenone H., Concha L., Aranda R., Rojas A., Knierim F. y Rojo M.; Tratamiento de la infección chagásica crónica con "Lampit". Bol Chil Parasit. 1972; 27: 11.

Schenone H., Contreras Ma del C., Borgoño M.J., Rosas a. y Villarroel F.; Enfermedad de Chagas congénita en Chile. Estudio longitudinal de la reproductividad de mujeres chagásicas y no chagásicas y de algunos parámetros parasitológicos y clínicos de ellas y de sus correspondientes hijos. Bol Chil de Parasitol. 1985; 46: 24.

Schenone H., Cristensen H.A., Vázquez Ana Ma., González C., Méndez E., Rojas A. y Villarroel F.; Fuentes de alimentación de triatomas domésticas

y su importancia epidemiológica en relación a la enfermedad de Chagas en áreas rurales de siete regiones de Chile. *Journal of Parasitol.* 1985; 40: 34.

Schenone H., González H. y Rojas A.; Infección experimental de ratas con *Trypanosoma cruzi* vía oral. *Bol Chil Parasitol.* 1982; 37: 2.

Schenone H., Rojas A., Alfaro E., Conchi L. y Aranda R.; Estudio longitudinal de la persistencia de la acción terapéutica del nifurtimox y del benznidazol en pacientes con infección chagásica crónica. *Bol Chil Parasitol.* 1981; 36: 59.

Schenone H., Valdes J., Villarroel F. y Rojas A.; Algunas consideraciones sobre procedimientos para detectar la presencia de *Triatoma infestans*, en viviendas. *Bol Chil Parasitol.* 1982; 37: 18.

Schenone H., Villarroel F. y Rojas A.; Estudio de laboratorio para medir la actividad insecticida sobre *Triatoma infestans* de lindano almacenado durante veinte años. *Bol Chil Parasitol.* 1986; 41: 21.

Schmatz D.M., Murray P.K.; Cultivation of *Trypanosoma cruzi* in irradiated muscle cells: Improved synchronization and enhanced tripomastigote production. *Parasitology.* 1982; 85: 115.

Schmatz D.M., Murray P.K.; *Trypanosoma cruzi*: selective isolation of pure tripomastigotes from cultured muscle cells. *J Parasitol.* 1981; 67: 517.

Schofield C.J., Marsden P.D.; Efecto del revoque de las paredes sobre una población doméstica de *Triatoma infestans*. *Bol of Sanit Panam.* 1982; 93: 3.

Shaddock A.J., Kelsae G., Helmke J.; Isolation of pure metacyclic tripomastigotes of *Trypanosoma cruzi* from triatome bugs by use of a DEAE-cellulose column. *J Parasitol.* 1979; 65: 814.

Sher A. and Snary D.; Specific inhibition on the morphogenesis of *Trypanosoma cruzi* by a monoclonal antibody. *Nature (London).* 1982; 300: 639.

Sierra J.; Enfermedad de Chagas. *Infectología.* 1982; 4: 287.

Sifontes F.R.; desarrollo y estado actual del programa de control de la enfermedad de Chagas en Venezuela. Ministerio de salud y asistencia de

malariología y saneamiento ambiental, división de endemias rurales Maracay, Aragua, Venezuela. 1976: 1-79.

Silveira A.C., De Resende D.F. & Hismania M., Máximo C.; Risk measure of domestic transmission of Chagas' disease, through a new entomological indicator. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Suppl. 1984; 79: 113.

Snary D.; Cell surface glycoproteins of *Trypanosoma cruzi*: protective immunity in mice and antibody levels in human chagasic sera. Trans of the Roy Soc of Trop med and Hyg. 1983; 77: 126.

Snary D., Ferguson M.A.J., Scott M. and Allen A.k.; Cell surface antigens of *Trypanosoma cruzi*: Use of monoclonal antibodies to identify and isolate and epimastigote-specific glycoproteins. Mol Biochem parasitol. 1981; 3: 343.

Soares M.J., Farina S.M. and Wanderly De S.; Ultrastructural visualization of lipids in Tripanosomatids. J. Protozool. 1987; 34: 199.

Soto R.G., Cortes J.M., Medrano G.A.; Alteraciones electrocardiográficas en veintinueve sujetos aparentemente sanos con pruebas serológicas positivas para la enfermedad de Chagas. Arch Inst Cardiol Méx. 1984; 54: 579.

Soulsby E.J.L.; Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Dómeísticos. 7a edición. México, D.F., Edit. Interamericana. 1988: 515, 516.

Stagno S. y Hurtado R.; Enfermedad de Chagas congénita. estudio inmunológico y diagnóstico mediante inmunofluorescencia, con anti-IgM. Bol Chil de Parasitol. 1971; 26: 20.

Stagno S., Knierim F. y Saavedra P.; El test de inmunofluorescencia indirecta aplicado al diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas. Bol Chil Parasitol. 1971; 26: 28.

Stagno S. T Saavedra P.; El test de inmunofluorescencia indirecta en el diagnóstico simultáneo de enfermedad de Chagas y toxoplasmosis. Bol Chil Parasitol. 1972; 27: 122.

Stiles B. and Kierszenbaum F.; An improved procedure for the purification of *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) metacyclics from the insect vector. J Protozool. 1986; 33: 132.

Stites D.P., Stobo J.D., Wells J.V.; Inmunología Básica y Clínica. 6a edición. México, D.F., Edit. El Manual Moderno. 1988:89-100, 644, 645, 694.

Stolfs A.M., Santos S.C.L., Brentani R., and Camargo E.M.; In vitro synthesis of *Trypanosoma cruzi* antigenic polypeptides. Infection and immunity. 1983; 39: 1175.

Streiger L.M., Del Barco L.M., Fabro D., Visentin S., Arias E., Giraldez E., Miglietta F.H.; Infección chagásica al ingreso escolar. Metodología de estudio y experiencia piloto. Acta Bioq Clin Lat. 1986; 20: 139.

Suplemento. Longitudinal study, Chile. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro. 1986; 81: 183.

Szarfman A., Laranja F.S., De Souza M.W., Galvao Q.L., Gerech D. and Schumuñiz G.A.; Tissue antibodies in a *Rhesus* monkey with long-term *Trypanosoma cruzi* infection. Am J Trop Med Hyg. 1978; 27: 832.

Szarfman A.; Mobility of concanavalin a receptors in *Trypanosoma cruzi*. The Journal Parasitol. 1980; 66: 1055.

Szarfman A., Luggetti A., Rassi A., Rezende M. and Schmunis G.A.; Tissue reacting immunoglobulins in patients with different clinical forms of Chagas' disease. J Exp Med. 1981; 30: 43.

Szarfman A., Terranova V.P., Rennard S.L., Foidart J.M., Lima M.F., Scheinman J.I. and Martin G.R.; Antibodies to lamin in Chagas' disease. J exp Med. 1982; 155: 1161.

Szekely R., Rojo M. y Reyes h.; Estudio sobre la transmisión directa de *Trypanosoma cruzi* entre ninfas de *Triatoma infestans*. Bol Chil de Parasitol. 1971; 26: 17.

Takeda F.G.K., Campos R., Kieffer J., Moreira B.A.A., Amato N.V., Castilho P.V.L. e Duarte S. Ma. I.; Acao de raios gama sobre formas sanguicolas de *Trypanosoma cruzi*. Estudo experimental em camundongos. Rev Inst Med trop Sao Paulo. 1986; 28: 15.

Tavares P, Nascimento S.P.H., Caldeiras R.M.P., Calheiros F.D., Gouveia Ma. A. & Saldiva D.C.; Changes of rabbit pulmonary elastic properties and bronchomotricity in experimentally induced Chagas' disease. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1986; 28: 325.

Tay Z.J.; Evolución del *Trypanosoma cruzi* cepa mexicana en el huésped vertebrado, invertebrado e *in vitro*. Salud Pública de México. 1980; 22: 513.

Tay Z.J.; La enfermedad de Chagas en la República Mexicana. Salud Pública de México. 1980; 22: 409.

Tay Z. J., Guerrero T.A. y Salazar S.P. Ma; Efecto de las hormonas (progesterona y testosterona) sobre la patogenicidad de *Trypanosoma cruzi*. Rev Lat Amer. 1978; 20: 45.

Tay Z.J., Salazar S.P.Ma, Ontiveros A., Jimenez J., Haro A.I., García Y.Y. y Gutierrez Q.M.; Epidemiología de la enfermedad de Chagas en una población de Oaxaca, México. Bol of Sanit Panam. 1987; 102: 325.

Tay Z.J., Salazar S.P.Ma, Velasco C.M., De Haro A.I., García Y.Y., Gutierrez Q.M.; Estudio epidemiológico de la enfermedad de Chagas en el estado de Jalisco, República Mexicana. Salud Pública de México. 1979; 21: 145.

Tay-Lara, Velasco-Gutierrez. Parasitología Médica. Edit. Francisco Méndez Cervantes. México, D.F. 1982: 24-30, 106-127, 411-413.

Taylor R.L.A., Edwards E.H.I., Valarie S., Miles A.M. and Gibson C.W.; The polypeptide profiles of strains of the *Trypanosoma* species *Schizotrypanum* and *Trypanozoon*: Peptide characterization. Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg. 1983;

Taylor R.A.E. and Smith V; Micro-counterimmunoelectrophoresis: A rapid screening technique for trypanosomiasis. Trans of the Roy Soc of Trop Med and Hyg. 1983; 77: 481.

Tecia De C. U. & De Souza W.; Infectivity of amastigotes of *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1986; 24: 205.

Teixeira M.L. and James A.D.; *Trypanosoma cruzi*: Histochemical characterization of parasitized skeletal muscle fibers. J Protozool. 1985; 32: 339.

Teixeira De P.R., Kloetzel K.J. and Wilder V.R.; Macrophage-tripanosome infection, dead and live cell scoring. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1981; 23: 96.

Teixeira R.L.A.; Modelos animales de la enfermedad de Chagas. Bol of Sanit Panam. 1987; 103: 160.

Teixeira R.L.A. and Martins S.J.; *Trypanosoma cruzi*: Endocytosis and degradation of specific antibodies by parasite forms. Am J Trop Med Hyg. 1989; 40: 165.

Teixeira R.L.A., Teixeira G., Macedo V. and Prata A.; *Trypanosoma cruzi* sensitized T-lymphocyte mediated Cr51 release from human heart cells in Chagas' disease. Am J Trop Med Hyg. 1978; 27: 1097.

Telford R.S. Jr.; Two new tripanosomes from neotropical Gekkonid lizards. The Journal of Parasitology. 1979; 65: 898.

Telford R.S. Jr. y Tonn J.R.; Dinamica de *Trypanosoma cruzi* en poblaciones de un reservorio primario, *Didelphis marsupialis*, en los llanos altos de Venezuela. Bol of Sanit Panam. 1982; 93: 341.

Theis H.J., Mason T.D. and Ault K.S.; Exotic stock of *Trypanosoma cruzi* (*Schizotrypanum*) capable of development in and transmission by *Triatoma protacta protacta* from California. Public health implications. Am J Trop Med Hyg. 1987; 36: 523.

Tibayrenc M., Hoffman A., Poch O.E.L., Le Pont F., Lemestra L.J., Desjeux P. and Ayala J.F.; Additional data on *Trypanosoma cruzi* isozymic strains encountered in Bolivian domestic transmission cycles. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 1986; 80: 442.

Tibayrenc M. and Desjeux P.; The presence in Bolivia two distinct zymodemes of *Trypanosoma cruzi*, circulating sympatrically in a domestic transmission cycle. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 1983; 77: 73.

Tibayrenc M. and Miles A.M.; A genetic comparison between brazilian and bolivian zymodemes of *Trypanosoma cruzi*. Trans of The Roy Soc Trop Med Hyg. 1983; 77: 76.

Tizard I. immunology and pathogenesis of trypanosomiasis. United States of America, Edit. CRC Press. 1985: 145-199.

Torno C.O., Soares V., Vexenat A., Cuba C.C., Barreto A.C., Alveranja N.J., Marsden P.D.; A case of xenodiagnosis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1981; 23: 229.

Trischmann M.T.; Single locus in BXH-2 mice responsible for inability to control early proliferation of *Trypanosoma cruzi*. Infection and Immunity. 1984; 46: 658.

Trischmann M.T., Tanowitz H., Wittner M. and Bloom B.B.; *Trypanosoma cruzi*: Role of the immune response in the natural resistance of inbred strains of mice. Experimental Parasitology. 1978; 45: 160.

Tsieh S.; Pathology and clinical features of parasitic disease. United States of America. Edit. Masson. 1982: 67-72.

Vargas S.F., Cukier A., Tsanaclis A., Pereira P.J., Pereira B.C.A. and Neto R.M.M.; Respiratory mechanics in patients with Chagas' disease without cardiac insufficiency. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1981; 23: 264.

Vattuone H.N. y Pesee J.U.; Evaluación de un antígeno de aglutinación de epimastigote de *Trypanosoma cruzi*. Bol of Chil of Parasit. 1971; 26: 7.

Velasco C.O., Luna V.A., García G.J.L. y Maya V.J.; Nuevo caso humano de enfermedad de Chagas en Jalisco, México. Edit. Prensa Médica Mexicana. 1970; 11: 438.

Velasco C.O. & Bracho G.C.; Importancia de la enfermedad de Chagas en México. Rev Lat Amer Microbiol. 1986; 28: 275.

Vera B. and Klaus D.H.; *Trypanosoma cruzi*: Isolation characterization of a proteasa. Experimental Parasitology. 1978; 45: 8.

Vieckerman K.; Antigenic variation in trypanosomes. Nature. 1978; 273: 613.

Villalta F., Katzin M.A., Leon W. and Gonzalez C.E.; Concanavalina A binding receptors on *Trypanosoma cruzi* amastigotes. J Parasitol. 1980; 66: 1053.

Villalta F. and Kierszenbaum F.; Growth of isolated amastigotes of *Trypanosoma cruzi* in cell-free medium. J Protozool. 1982; 29: 570.

Villalta F. and Kierszenbaum F.; Enhanced multiplication of intracellular (amastigote) stages of *Trypanosoma cruzi* in vitro. J Protozoo. 1984; 31: 487.

Villalta F. and Kierszenbaum F.; Insect-borne and culture derived metacyclic *Trypanosoma cruzi*: Differences in infectivity and virulence. Am J Trop Med Hyg. 1987; 36: 529.

Villalta F. and Leon W.; Effect of purification by DEAE-cellulose column of infectivity of *Trypanosoma cruzi* blood forms. J Parasitol. 1979; 65: 188.

Weller F.P.; Tripanosomiasis Americana. Protozoan Infections, XXXIV. 1985: 44.

Widmer G.B., Marinkelle F.G. and Miles A.M.; Isozyme profiles of *Trypanosoma cruzi* stocks from Colombia and Ecuador. Annals of Tropical Medicine and Parasitology. 1985; 79: 253.

Williams G.T. and Hudson L.; Growth of *Trypanosoma cruzi* in vitro: Development and application of a continuous-flow culture system. Parasitology. 1982; 84: 511.

Wirth J.J. and Kierszenbaum F.; Variations in expression of markers by populations of adherent cells from *Trypanosoma cruzi*-infect mice. J Protozool. 1984; 31: 147.

Wirth J.J. and Kierszenbaum F.; Stimulatory effects of leukotriene by on macrophage association with and intracellular destruction of *Trypanosoma cruzi*. The American Association of Immunologists. 1985; 134: 1989.

Wirth J.J., Kierszenbaum F., Sonnenfeld G. and Zlotnik A.; Enhancing effect of gamma interferon on phagocytic cell association with and killing of *Trypanosoma cruzi*. Infection and Immunity. 1985; 49: 61.

Wisniveski-Colli C., Frey C. and Solrz N.; Detection of host proteins in the intestine of *Triatoma infestans* by agar double diffusion test. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1982; 22: 118.

Wisniveski-Colli C., Gürtler E.R., Solarz D.N., Lauricella A.M., Segura L.E.; Epidemiological role of humans, dogs and cats in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in a central area of Argentina. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1985; 27: 346.

Yoshida N.; Surface antigens of metacyclic trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*. Infect and Immun. 1983; 2: 836.

Yoshida N., Teixeira M.M.G. & Sbravate C.A.; Antigen characterization of vector-borne and cultured metacyclic trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1986; 28: 80.

Zárate G.L; Comportamiento de los triatomíneos en relación a su potencial transmisor de la enfermedad de Chagas (*Hemiptera reduviidae*). Folia Entomológica Mexicana. 1984; 61: 257.

Zavala V.; Enfermedad de Chagas. Actualidades médicas. 1979; 18.

Zenian A. and Kierszenbaum F.; Inhibition of macrophage *Trypanosoma cruzi* interaction by concanavalin A and differential binding of bloodstream and culture forms to the macrophage surface. J Parasitol. 1989; 68: 405.

Zweerink J.H., Anderson O.F., Greenblatt C.H. and Murray P.K.; Parasite specific antibodies in three strains of mice after infection with *Trypanosoma cruzi*. J Parasitol. 1985; 71: 43.

Zweerink J.H., Weston D.H., Andersen F.O., Garber S.S., and Hayes C.E.; Immunity against infection with *Trypanosoma cruzi* in mice correlates with presence of antibodies against three trypomastigote polypeptides. Infect and Immun. 1984; 46: 826.