



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

Campo 1

Estudio comparativo de dos aislados de *Trypanosoma cruzi*: "Querétaro" versus "La Purísima "

Tesis que para obtener el título de
Lic. En Químico Farmacéutico Biólogo

Presenta:

Antonio Fajardo Tovar

Asesora

Dra. Ana María Fernández Presas

Cuautitlán Izcalli, Estado de México 2015



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 esta 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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Estudio comparativo de dos aislados de Trypanosoma cruzi: "Querétaro" versus "La Purísima"

Que presenta el pasante: Antonio Fajardo Tovar

Con número de cuenta: 402074368 para obtener el Título de: Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 10 de Octubre de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Ana María Fernández Presas	
VOCAL	QFB. Juan Chiu Chan	
SECRETARIO	MVZ. Gabriela Fuentes Cervantes	
1er. SUPLENTE	M. en C. Lidia Rangel Trujano	
2do. SUPLENTE	M. en C. Socorro Sandra Martínez Robles	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HMI/iac

Esta tesis se desarrolló en el Departamento de Microbiología y Parasitología, en el edificio de Investigación "A" de la Facultad de Medicina en Ciudad Universitaria, bajo la dirección de la Doctora Ana María Fernández Presas de Noviembre del 2009 a Junio del 2015. Este trabajo fue apoyado por donativo de PAPIIT, con proyecto # IN213208

Agradecimientos

A mi madre Maria Teresa quien ha sido una fuente de inspiración y amor, de quien todo lo bueno que hay en mí, de ella lo herede y que nunca me perdió la esperanza a pesar de que yo muchas veces me la perdí; a mi tía Linda por su infinito amor, a mi familia (Bacho, Celia Gaby, Pepe, Chucho, Enrique y Lalo; sin ellos simplemente nada de esto hubiese sido posible.

A Karina y Jm que llegaron a mi vida y ahora son una parte de ella. Gracias por colorear mis días

A la Dra. Ana María Fernández por brindarme esta valiosa oportunidad de incursionar en la investigación de un tema que ya hace años durante la formación como técnico tenía la inquietud de conocer y permitirme colaborar con mis observaciones.

Al Dr. Fernando Carbajal (Fer) por brindarme su amistad y sus consejos y por dedicarle su tiempo a este estudiante de química para enseñarle a trotar, todas esas cocas bien frías y tabacos que hicieron mi estadía en Ciudad Universitaria muchísimo más amena.

A la QFB Vero y a Técnico Richard del tercer piso del edificio A de FACMED por todo el apoyo brindado en las cuestiones de histopatología, y por brindarme hospitalidad en su laboratorio así su como su amistad.

A la Familia Hernández Zamudío y a Sakane San por enseñarme mucho de lo aprendido.

A mis amigos de la universidad, a Omar, Cha, a Ismael, el Anders, Ale González (El Logan), a la Dra. Terciopelis, con quien compartí Chelas tabs wine y queso, a Jairo, Yaneli. Angélica, Y tantos otros con quien compartí en la FESC.

A mi Carnal el Abraham (el único hombre que he amado) de quien aprendí un madral de cosas

Y a mí porque pese a todo aguante.

INDICE DE CONTENIDO

Resumen.....	1
BACKGROUND.....	2
Introducción.....	3
<i>I Tripanosomiasis americana (Enfermedad de Chagas).....</i>	4
1.1 <i>Historia.....</i>	4
1.2 <i>Antecedentes de la Enfermedad de Chagas en México.....</i>	7
1.2.1 <i>Reservorios.....</i>	7
1.2.2 <i>Distribución geográfica de los triatomos mexicanos.....</i>	8
II Marco teórico (información básica sobre la tripanosomiasis americana).....	9
2.1 <i>Enfermedad de Chagas – Tripanosomiasis americana.....</i>	9
2.2 <i>Formas clínicas.....</i>	10
2.2.1 <i>Fase aguda.....</i>	11
2.3.2 <i>Fase crónica.....</i>	11
• <i>Forma cardíaca.....</i>	12
• <i>Forma digestiva.....</i>	13
• <i>Megaesófago.....</i>	13
• <i>Megacolon.....</i>	14
III Ubicación taxonómica.....	15
3.1 <i>Características biológicas.....</i>	15
3.2.1 <i>Morfología.....</i>	17
3.2.3 <i>Ciclo de vida.....</i>	19
3.3 <i>Características genéticas.....</i>	22
IV Vectores.....	22
4.1 <i>Taxonomía.....</i>	22
4.2 <i>Distribución geográfica.....</i>	24
V Epidemiología. Tendencias de incidencia.....	24
5.1 <i>Mecanismos de transmisión y Factores ecológicos.....</i>	24
5.1.1 <i>Transmisión por vectores.....</i>	24
5.1.2 <i>Transmisión por transfusión sanguínea.....</i>	24
5.1.3 <i>Transmisión congénita.....</i>	25

5.1.4 Transmisión por trasplante de órganos	25
5.1.5 Transmisión accidental.....	25
5.1.6 Transmisión oral.....	26
VI Diagnostico por el laboratorio.....	26
6.1.1 Diagnostico parasitológico.....	26
• Serología convencional.....	27
VII Tratamiento.....	27
7.1 Tratamiento tripanomicida.....	27
VIII Tripanosomiasis americana (enfoque actual).....	28
8.1 Planteamiento del problema.....	28
8.2 Justificación.....	29
IX Objetivo General.....	29
9.1 Objetivos particulares.....	29
• Hipótesis.....	29
X Material y métodos.....	30
• Parásitos.....	30
• Animales de experimentación.....	30
• Curva de crecimiento	30
• Parasitemias.....	31
• Estudio de histopatología.....	31
XI Resultados.....	31
• Curvas de crecimiento.....	31
• Parasitemias.....	33
• Histopatología.....	34
XI Discusión.....	36
XII Conclusiones.....	38
XIII Expectativas.....	39
Bibliografía.....	39

Resumen

Se recuperó un aislado de *Trypanosoma cruzi* de *Triatoma barberi* del estado de Querétaro, México., in 2007. El aislado de *T. cruzi* que se aisló hace 27 años en el mismo lugar, ha mostrado una disminución gradual en su virulencia detectada en el modelo murino susceptible. Consideramos importante aislar una cepa reciente para analizar el comportamiento biológico, y compararla con el aislado del estado de Querétaro. **MÉTODOS:** Se recuperó el aislado de *T. cruzi* de las heces de *Triatoma barberi* en el estado de Querétaro (Purísima de la Cueva). Las heces de la triatoma infectada con tripomastigotes metacíclicos se inocularon por vía intraperitoneal a 2 ratones hembras. A los 15 días post infección se anestesiaron a los ratones para obtener sangre total. Se mezcló la sangre de los 2 ratones y se alicuotaron. Un lote se inoculo en medio de N.N.N y en RPMI para analizar la curva de crecimiento de los epimastigotes. Con el otro lote se inocularon 10 ratones por vía intraperitoneal con las formas sanguíneas (1×10^6). Se realizó histopatología de los diferentes órganos de los ratones infectados (corazón, musculo esquelético, esófago, intestino grueso, bazo, ganglios linfáticos cervicales). El mismo procedimiento se realizó con aislado de *T. cruzi* de Querétaro. Se compararon los resultados de las curvas de crecimiento y el tropismo de los órganos de los aislados de *T. cruzi* utilizando el análisis de Varianza (ANOVA) seguido por la prueba múltiple de comparación Tukey & Kramer. Los resultados de las parasitemias se analizaron con la prueba no paramétrica de Kolmogorov y Smirnov. **RESULTADOS:** No hubo diferencias estadísticas en las curvas de crecimiento $p > 0.05$, en el análisis de las parasitemias, el aislado de Querétaro presentó diferencia estadísticamente significativa comparado con el aislado Purísima $p < 0.017$. El análisis histopatológico de los órganos disecados (corazón músculo esquelético y esófago) mostró diferencias estadísticas entre la presencia de nidos de amastigotes en cardiomiocitos de ratón del aislado Querétaro versus La Purísima $p < 0.01$. Se encontraron más nidos de amastigotes en el músculo esquelético del aislado de la Purísima, comparado con Querétaro. $p < 0.001$. No hubo diferencias estadísticas en los esófagos de ratones de ambos aislados $p > 0.01$. **CONCLUSIONES:** Los dos aislados de *T. cruzi* se obtuvieron del mismo lugar en el estado de Querétaro, en la localidad de la Purísima de la Cueva y de un espécimen de *Triatoma barberi*, se encontraron ligeras diferencias en el comportamiento biológico de ambos aislados a pesar de que el aislado de Querétaro se obtuvo en 1987 y la Purísima de la Cueva 20 años después en 2007. Proponemos realizar estudios moleculares para determinar las posibles diferencias, por ejemplo el análisis del DNA del cinetoplasto (kDNA).

BACKGROUND

Trypanosoma cruzi was isolated from feces of a *Triatoma barbari* specimen from the state of Queretaro, México in 2007. An *T. cruzi* isolate obtained in the same place 27 years ago has a gradual virulence decrease detected in a susceptible murine model. Therefore, it was important to isolate a recent strain, for analyzing the biological behavior and compare with the one isolated in the state of Querétaro. **METHODS:** A *T. cruzi* isolate was recovered from *Triatoma barbari* feces in Queretaro State (Purísima de la Cueva). *Triatoma* feces with metacyclic tripomastigotes were inoculated intraperitoneally to 2 female mice. After 15 days of infection mice were anesthetized to obtain total blood. Blood was pooled and aliquoted; one lot was inoculated on N.N.N medium and in RPMI to analyze epimastigotes growth curve. Another lot was inoculated intraperitoneally to ten mice with bloodstream forms (1×10^6). Histopathology from the different organs was performed (heart, skeletal muscle, esophagus, large intestine spleen and cervical lymph nodes). The same procedure was done with the Queretaro *T. cruzi* isolate. *T. cruzi* isolates was compared for significance using analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey-kramer multiple comparison test. **RESULTS:** No statistically significant difference was found in the epimastigotes growth curves from both isolates $p > 0.05$, the parasitemia analysis showed statistical difference in the Queretaro isolate when compared with the Purísima $p < 0.017$. Histopathological analysis of dissected organs (heart, skeletal muscle and esophagus) showed statistical differences in the presence of cardiomyocytes nests in mice of the Queretaro isolate versus La Purísima $p < 0.01$, we also observed statistical differences between the presence of amastigotes nest in a mice skeletal muscle of the Purísima isolate when compared with Queretaro $p < 0.001$. No differences were seen the mice esophagus from both isolates $p > 0.01$. **CONCLUSIONS:** The two isolates of *T. cruzi* were obtained from the same place in the state of Queretaro in the Purísima de la Cueva locality and from a *Triatoma barbari* specimen, but slight differences in the biological behavior of both isolates were found, nevertheless, the Queretaro isolate were obtained in 1987 and la Purísima 20 years later (2007). We propose to perform molecular studies to determine significant differences for example by analyzing the DNA of the kinetoplast (kDNA).

Introducción

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es una de las infecciones parasitarias de mayor frecuencia en América Latina, con una tasa que supera los 18 millones de casos por año; 100 millones de personas están en riesgo de infectarse, 8 millones se encuentran infectados, 56000 casos nuevos anualmente y cerca de 12000 muertes anuales (WHO, 2012). Existen escasos estudios epidemiológicos de esta parasitosis, en los últimos años se ha encontrado un incremento del número de casos, debido a infecciones relacionadas con la donación y trasplante de órganos, y transfusiones sanguíneas (OPS 2012).

A pesar de ser un problema de salud pública, existe poca difusión de las campañas para la erradicación del vector en las zonas endémicas de nuestro país, a diferencia de las realizadas en otros países de América Latina conocida como *la iniciativa del Cono sur* (OPS 2002). Actualmente, México cuenta un programa de prevención y control del vector enfocado principalmente a reducir los daños en la salud, mediante la aplicación de una estrategia tripartita enfocada en la erradicación del vector, la detección precoz de los casos emergentes, así como el tratamiento oportuno, pero este programa es de tipo regional, *no nacional* (Méndez Galván, 2006).

En el ciclo biológico del parásito, se ha encontrado que el nexo común determinante, es la prevalencia del vector, la interacción con los hospederos y reservorios de forma simultánea (mamíferos de corral, así como silvestres y mascotas) y finalmente el hombre (Biagi F., 2002).

La enfermedad la podemos dividir teóricamente en dos fases, la primera o fase aguda la cual es ocasionada post-inoculación y se caracteriza por la presencia de chagoma, o el Signo de Romaña. La fase intermedia asintomática con una duración de 5 a 20 años, que la presentan del 30 a 40% de los pacientes y da lugar al desarrollo de la fase crónica (segunda fase), en la que se ven afectados órganos como; el corazón, intestino y tejido nervioso, dejando secuelas como la discapacidad del hospedero o su muerte. Sin embargo, la sintomatología observada en el curso de la enfermedad está relacionada principalmente con la virulencia de la cepa, y de la zona geográfica de la que proviene la cepa (Naquira Velarde, 2001; Huapaya, P. et al., 2001).

El objetivo de esta trabajo fue estudiar las cinéticas de crecimiento "*in vitro*", e "*in vivo*" de ambos aislados, y analizar el histotropismo de los aislados de *Trypanosoma cruzi*, recuperando diferentes órganos blanco del modelo murino.

I Tripanosomiasis americana (Enfermedad de Chagas)

1.3 Historia

Los tripanosomas aparecieron aproximadamente hace 680 millones de años (mda), ya como organismos parasitarios de mamíferos primitivos. El movimiento de las placas tectónicas que derivó en la división del supercontinente conocido como Pangeae delimitó a los tripanosomas (se sugiere que *T.brucei* y *T.cruzi* compartían un ancestro común). Se piensa que *T.cruzi* emergió hace 475 mda de tripanosomas anteriores a la aparición de los primeros insectos y de los primeros vertebrados terrestres los cuales aparecieron hace solo 380 mda. La evolución de los linajes de *T.cruzi* ocurrió de 88 a 37 mda según se cree debido a las diferencias evolutivas de las faunas de mamíferas respectivas de las regiones norte y sur de América. Los homínidos evolucionaron en África de 5 a 15 mda, los homínidos superiores del género *Homo* hace solo 3mda, y el *Homo sapiens* hace solo 300000 años expuestos al vector la mosca tsé tsé y a los tripanosomas africanos, así que *T. brucei* ha coevolucionado con los homínidos desde África, pero *T.cruzi* ha evolucionado en ausencia de éstos, y la aparición del hombre dentro de su lista de hospederos vertebrados fue solo hace 30-40000 años con la migración a América.

El último intercambio de faunas en el Cenozoico se correlaciona análogamente a la última evolución de los subgrupos de *T.cruzi*, lo que determina su patogenicidad y especificidad por el hospedero; el subgrupo 2 es nativo de América del Sur, aunque en la actualidad se halla introducido el subgrupo 1 en Sudamérica, análogamente a mamíferos placentarios (mamíferos cuyas crías son retenidas en el útero materno, siendo alimentadas por una placenta alantoica) durante la conexión de las Américas en el Plioceno hace 5mda mediante el istmo de Panamá, lo que presuntamente explica la afinidad del linaje 2 con marsupiales y del linaje 1 con la enfermedad humana(Imbert-Palafox, etal.2003)

La relevancia de estos descubrimientos en función a su comportamiento biológico, y epidemiológico infieren en que el linaje 1 está íntimamente relacionado al ciclo doméstico, y el linaje dos se encuentra principalmente en el ciclo selvático (Suarez, N. 2009; Naquira, C.2009).

Se han recopilados diversas crónicas en lo que respecta a la Enfermedad de Chagas, que corresponde cronológicamente a la época pre-colonial, describiendo al insecto vector; Antonio Herrera, en 1523 publicó un escrito de Francisco de Garay en Panuco Veracruz México "*El ejército expedicionario fue víctima de mosquitos i pitos que pican i dejan señal como chinches i suelen causar calenturas*" haciendo referencia a *T. dimidiata* común en esa región; Gonzalo Fernández de Oviedo comentaba acerca de la islas de Chara o San Lucas y Potosí en el golfo de Nicaragua "*para mi fue cosa nueva y enojo, de muchas chinches de los bohíos con alas e no aparecen de día ni avia pocas de noche, son más diligentes y prestas que las de España e pican más mayores que aludas grandes..... i estas chinches en toda la provincia de Nicaragua las hay*" haciendo referencia a *Rhodnius prolixus*. Fray Bernardino de Sahagún(1575-1577) las describió como "Cucarachillas que son pardillas y tienen dos maneras de alas, con las que vuelan y son ponzoñosas, donde pican imprimen comezón e hinchazón; aquí en el Reino de la Nueva Galizia mas enojosas y malas son que las arañas" describiendo a *Triatoma piturata* y *T. longipennis*. Felix de Azara(1809), popularizó el nombre de "Vichucas", en toda Sudamérica; Burmeister (1835), hizo la primera referencia sobre la existencia de triatominos en nuestro país; Herich y Shaeffer(1848) describieron a *T.mexicana*, anteriormente conocida como *Conorhinus mexicanus*. Toda esta información recopilada durante la época pre y colonial sugiere que se pensaba en alguna relación entre estos "insectos hematófagos" y las calenturas sufridas posteriormente, ya durante los siglos XVI y XVII los colonizadores portugueses sufrieron Mal do bicho, Mal do gasso o Mal do culo (posiblemente problemas esofágicos y colónicos ocasionados por *T.cruzi*, incrementados por multiparasitosis por helmintos y nematodos. (Velasco, C.O.; Rivas, S.B.; 2008)

Sin embargo, fue hasta 1909 cuando se descubrió al agente etiológico de la tripanosomiasis americana, y fue Carlos Chagas quien realizó ese descubrimiento. En los anales de la Microbiología y la Parasitología nunca se había dado el caso de que se descubriera el agente etiológico, su vector *pero no la enfermedad*, por lo que este caso en particular se considera único en la medicina debido a que sucedió en orden inverso. Esta contribución científica tuvo un gran impacto en la salud pública

de Brasil y de América Latina ya que fue rechazada por los higienistas tradicionales, por el descubrimiento de esta entidad biológica agente etiológico de una enfermedad no emergente hasta ese momento (Suárez, N.; Naquira, C. 2009).

Carlos Justiniano Riveiro Chagas nació al oeste de Minas Gerais en 1879, se matriculó en la Facultad de Medicina de Rio de Janeiro en 1897 y obtuvo su grado de Médico en 1903 con la tesis *Estudo hematológico do paludismo* (Velasco, C.O.; Rivas, S.B.; 2008). En 1907 ingreso al Instituto Soroterapico de Manguinhos, donde formó parte de un grupo de jóvenes talentos liderados por Oswaldo Cruz conocido como la Escuela de Manguinhos. Sus estudios sobre protozoología le ayudaron a describir a este nuevo protozoario denominado *Trypanosoma cruzi* en honor a Oswaldo Cruz (Velasco, C.O.; Rivas, S.B.; 2008); este protozoario agente etiológico de la enfermedad de Chagas fue descubierto en chinches *Panstrongylus megistus* colectados en Lassance en Minas Gerais Brazil (Gomez, G.J.V.; Muñoz, J.S.; Ortiz E.R.M. 1999). Posteriormente en 1909 se publicó en alemán y portugués Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, llamando a su artículo *Nouva tripanosomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do Schizotripanum cruzi n.sp. agente etiológico do nova entidade mórbida do homem*. Este trabajo describía al agente etiológico vectores, signos clínicos, y reservorios animales así como el ciclo de vida del parásito en el tracto digestivo, y su cultivo en agar con sangre. Oswaldo Cruz perdió la vida precozmente a la edad de 45 años, siendo sucedido por Chagas en 1917, conservando ese puesto hasta su muerte el 8 de noviembre de 1954 a la edad de 55 años. Chagas recibió varios premios, menciones honoríficas, y distinciones (miembro extraordinario de la academia de medicina brasileña) premio Shaudinn 1912 del Instituto Hamburgo, el premio de la exposición conmemorativa de Pasteur en Estrasburgo (Imbert-Palafox et al. 2003).

Carlos Chagas murió súbitamente de un infarto masivo de miocardio en el año de 1935, pero se descarta la posibilidad, de que la etiología de su deceso fuese la enfermedad de Chagas; un año más tarde, el investigador argentino Cecilio Romana, describió la puerta de entrada de *T.cruzi*, el signo de "Chagas, Mazza, Romana" impulsando las investigaciones clínicas de la enfermedad (Velasco, C.O.; Rivas, S.B.; 2008)

1.4 Antecedentes de la Enfermedad de Chagas en México

Como se menciona anteriormente, los primeros casos de Chagas fueron descubiertos por Mazzoti en el año de 1940. Hoffman (1928) publicó sus estudios sobre *T. dimidiata* y su vasta distribución y domiciliación, diez años más tarde dio a conocer el primer caso de la enfermedad (la cual fue desmentido por Mazzoti (1940)). Ese mismo año Mazzoti reportó los dos primeros casos de Chagas agudo en México y observó por primera vez un triatomino infectado, posteriormente reportó la presencia de otros géneros y especies susceptibles a la infección: *Meccus pallidipennis*, y *T. dimidiata*, *R. prolixus*, *T. rubida*; También estudio la distribución geográfica del vector, y descubrió una nueva especie, *T. hegneri*, que estaba infectada e inoculó al parásito en garrapatas y ratones, y en su honor se le dio nombre al triatomino, *Triatoma mazzoti*.

Laranja, Diaz y Nobrega (1946) realizaron el primer estudio clínico serológico en México (en Apatzingan, Michoacán) dando un impulso al estudio de la enfermedad en el país; ese mismo año murió Salvador Mazza de un infarto al miocardio al estudiar la enfermedad en el estado de Nuevo León. Biagi, Tay y colaboradores del departamento de microbiología y parasitología de la Facultad de Medicina, de la Universidad Nacional Autónoma de México, (1956 - 1967) realizaron microencuestas sero-epidemiológicas en diferentes estados del País describieron los primeros casos de cardiopatías chagásica comprobados parasitológicamente, además montaron la técnica de inmunofluorescencia indirecta para el diagnóstico de Chagas (Velasco, C.O.; Rivas, S.B.; 2008).

1.2.1 Reservorios

Diversos investigadores como Mazzoti (1940) Biagi,(1957), Tay,(1979) Zarate(1979) se han dado a la tarea de investigar los diversos reservorios animales de *T. cruzi*, aunque el primer caso reportado fue en el año de 1944 por Mazzoti, describiendo el caso de un perro (*Canis familiaris*) infectado, encontrado en el estado de Oaxaca. Se han descrito diversos reservorios, como Tlacuaches (*Didelphis marsupialis*), armadillos (*Dasypus novemcinctus*), ratas de alcantarilla (*Rattus norvegicus*), ardillas de tierra (*Sciurus vulgaris*), zarihueyas (*Phyllander oposum*) vacas (*Bos taurus*). Se han descrito las diversas preferencias alimentarias de los diversos Triatomas que son vectores de la enfermedad, sin embargo, es en *Meccus pallidipennis* en la cual puede observarse el ciclo completo

aunque esta sea mala transmisora del parásito al hombre por ser defecadora tardía (Velasco, C.O.; Rivas, S.B.; 2008).

1.2.2 Distribución geográfica de los triatominos mexicanos

Los triatominos se distribuyen por todas las entidades federativas del país, se han descrito 32 especies de triatominos pertenecientes a siete diferentes géneros aunque sin duda el género *Triatoma* (tres segmentos antenales) es el más abundante en especies. (Benitez- Alba Jose Ismael. 2012)

En el último censo del 2006 al 2010 realizado por el InDRE en seis entidades federativas (Aguascalientes, Chiapas, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Oaxaca), se realizó el análisis taxonómico en el laboratorio de entomología del mismo Instituto, encontrando ejemplares de *M. pallidipennis*, *T. dimidiata*, *M. mazzottii*, *M. longipennis*, *T. barbieri*, y *M. picturatus* como se muestra en la figura 1 INDRE-DGE-SECRETARÍA DE SALUD (2014)

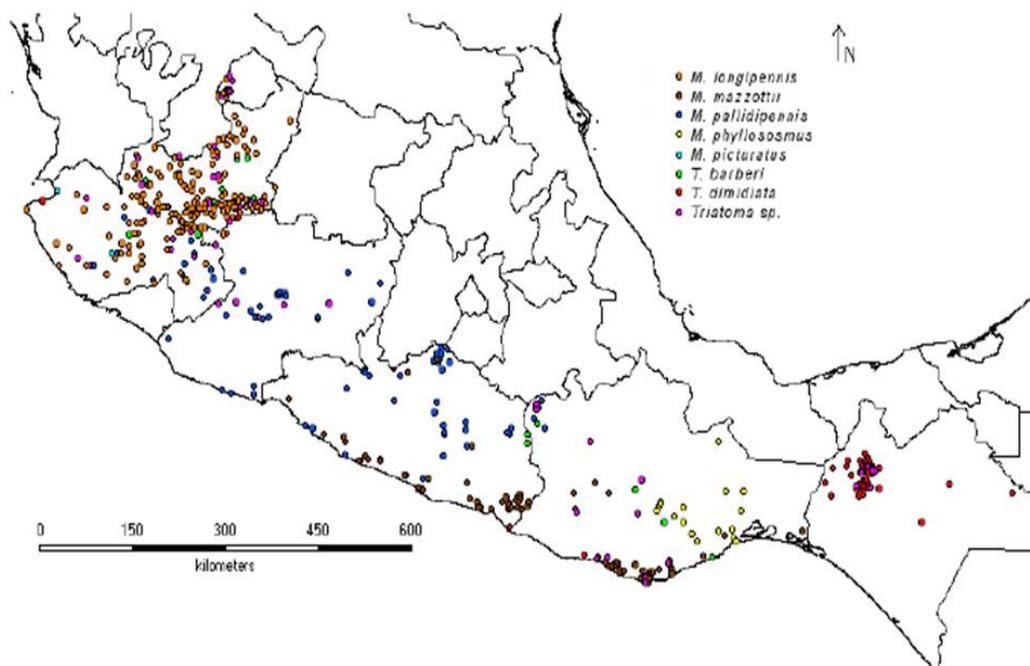


Fig. 1 Distribución de Triatóminos recolectados durante el periodo de estudio 2006-2010 por el InDRE

II Marco teórico (información básica sobre la tripanosomiasis americana)

2.1 Enfermedad de Chagas – Tripanosomiasis americana-

La tripanosomiasis americana, es una zoonosis, infección parasitaria producida por *Trypanosoma cruzi*, protozoario hemoflagelado, cuyo vector son insectos hematófagos de la familia *Reduviidae*, análogamente perteneciente a los estercorarios (parásitos que se desarrollan en el intestino de su vector). Es exclusiva del continente americano desde México (42° latitud norte) hasta Argentina (43° latitud sur) (*Información general sobre enfermedad de Chagas, OPS 2012*). Es una enfermedad endémica en 21 países de las Américas, pero actualmente se encuentra propagándose por otros continentes. La enfermedad es transmitida a los seres humanos, no directamente por la picadura, sino por las heces arrastradas mecánicamente conteniendo una concentración del parásito penetrando a través de la picadura del insecto a través de escoriaciones o mucosas; también puede transmitirse por transfusiones sanguíneas, donación de órganos, vía transplacentaria o por accidentes de laboratorio (nota descriptiva N° 340, marzo del 2014 WHO.org).

Se calcula que a nivel mundial hay entre 7 y 8 millones de personas infectadas, y en América Latina donde la enfermedad es endémica, 25 millones de personas están en riesgo de adquirir esta zoonosis; La OPS (2012) reportó que la incidencia anual es de 28000 casos, con alrededor de 12000 decesos por esta enfermedad.

Durante el año 2012 la Secretaría de Salud, reportó en 28838 casos estudiados, cuatro tipos de enfermedades transmitidas vectorialmente que fueron atendidos en establecimientos de salud pública y privados, como se muestra en la tabla 1. Estas representan un grave problema de salud pública, pues se estima que casi el 60% del territorio nacional, presenta condiciones favorables para la proliferación de vectores y transmisión de enfermedades. En México, de acuerdo a las estadísticas de Salud, realizadas por la INEGI, se reportaron 65 casos en instituciones públicas, de los cuales el 84.6 % corresponden a personas que no cuentan con seguridad social. Mientras que en hospitales privados fueron reportados 13 casos (fuente INEGI 2014).

Tabla 1

Enfermedades transmitidas por vectores en México. 2012

Causas	Instituciones del sector público ¹			Establecimientos privados		
	Casos registrados	Días de estancia	Defunciones	Casos registrados	Días de estancia	Defunciones
Paludismo (malaria)	95	443	0	51	195	0
Tripanosomiasis	65	440	5	13	34	0
Oncocercosis	2	4	0	50	197	0
Dengue	28 562	91 560	63	ND	ND	ND
Total	28 724	92 447	68	114	426	0

¹ IMSS, ISSSTE, PEMEX, SEDENA, SEMAR, instituciones de la Secretaría de Salud e IMSS Oportunidades.

ND. No disponible.

Fuente: **Secretaría de Salud**. Boletín de Información Estadística. Volumen II. Daños a la Salud Número 32, Año 2012; INEGI. Estadísticas de Salud en Establecimientos Particulares. Tabulados Básicos 2012.

2.2 Formas clínicas

La enfermedad presenta dos fases sucesivas, la fase aguda y la fase crónica con un estadio intermedio totalmente asintomática. La fase aguda es totalmente asintomática y con una duración de aproximadamente de 6 a 8 semanas, los pacientes se muestran sanos en esta fase, sin aparente daño en órganos; pero si puede haber la presencia en algunos casos de sintomatología leve, como dolor de cabeza, adenopatías de los ganglios linfáticos, dolor muscular, dificultad para respirar, edema, dolor abdominal y torácico; En el 50 % de las personas picadas por el vector presentan el chagoma de inoculación. Las personas infectadas con *T.cruzi* cursan con la enfermedad que en muchos de los casos les resta calidad de vida, y como resultado de las lesiones en los diferentes órganos con pérdida parcial o total de la función del órgano durante la fase crónica de la enfermedad puede conducir a la muerte. (El diagnóstico de la infección se implementa mediante serología, o quicktest parasitológicos (CHAGATEST _{T.M.}). WHO, Nota descriptiva N°340, marzo del 2014).

2.2.1. Fase aguda

Se inicia con la entrada del agente causal al organismo, con una reacción localizada en la zona de entrada, seguida de malestar general; estas manifestaciones clínicas declinan después de 6 a 8 semanas o menor tiempo con el oportuno tratamiento. (Rodríguez, D.J., 2005).

La reacción local debido a la puerta de entrada del parásito se denomina chagoma, (reacción en la conjuntiva, con el subsecuente desarrollo de edema de ambos párpados y linfadenitis de los ganglios preauriculares) (Maldonado Rodríguez, 2005). Este signo es característico de la infección aguda (signo de Romaña-Mazza), sin embargo es necesario hacer el diagnóstico diferencial con otro tipo de padecimientos similares (miasis, conjuntivitis o traumatismo ocular, trombosis retroocular, otras picaduras de insectos). La picadura del vector con la subsiguiente entrada del agente etiológico causa una reacción en el tejido subcutáneo con induración, congestión vascular, infiltración celular seguida de una linfadenitis localizada, le pueden seguir fiebre, linfadenopatía, hepatomegalia, esplenomegalia, seguidas de vómito, diarrea y anorexia, también pueden observarse signos de afectación cardíaca como taquicardia sinusal, bloqueo atrioventricular de primer grado, bajo voltaje QRS, cambios primarios de las extensiones del sarcolema de la membrana citoplasmática de las fibras musculares (Tubulos T); éstas corren perpendiculares a la longitud de la fibra muscular (WHO, 2014). En una placa de tórax se puede observar diversos grados de cardiomegalia, estas manifestaciones clínicas desaparecen de 4 a 8 semanas espontáneamente sin aparentes secuelas. En poco menos del 3% de los casos se tiene consecuencias fatales durante la fase aguda, generalmente en pacientes menores a 3 años. La infección por este parásito solo es reconocida clínicamente entre el 1 y 2 % de los individuos que presentan la fase indeterminada de la infección (Maldonado Rodríguez, 2005).

2.3.2 Fase crónica

Inicia con la disminución de las parasitemias hasta niveles totalmente indetectables, aunado a la desaparición de la sintomatología clínica y los síntomas generales descritos en la fase aguda, este cambio en la evolución de la infección parasitaria y en el curso clínico toma lugar entre la cuarta y octava semana posterior a la infección (Maldonado R., A. 2005).

En individuos no tratados farmacológicamente, la disminución en los niveles de parasitemia es un indicativo del equilibrio entre la infección parasitaria y la respuesta inmunológica montada hacia éste; y puede durar el resto de la vida del individuo; la infección por tripanosomiasis se detecta mediante niveles de anticuerpos IgG contra *T. cruzi*; las pruebas parasitológicas como el xenodiagnóstico y el hemocultivo, confirman los parásitos aún circulantes en la mitad de individuos, muchos años después de que la infección haya tenido lugar (OPS, 2010).

Forma cardíaca

Clínicamente se observa en los casos de cardiomegalia signos de congestión y tromboembolia, siendo éstos los signos patológicos más recurrentes (OPS, 2010); la combinación de hipertrofia y dilatación favorece la aparición de cardiomegalia, con la subsecuente alteración en la morfofisiología del corazón. Se caracteriza por una reacción inflamatoria celular de tipo citotóxica mediada por linfocitos T CD8 + responsables directos de la respuesta inmune a nivel miocárdico a través de la activación del Complejo Mayor de Histocompatibilidad mediada por macrófagos que contienen antígenos de *T. cruzi*. La ausencia de linfocitos TCD4+ sugiere que la activación vía MHC clase II es inhibida en presencia de los antígenos de *T.cruzi*, experimentalmente se ha demostrado que esta inhibición puede ser el resultado de apoptosis selectiva (Bilate & Cunha Neto, 2008)

Los cambios que se observan en el corazón, ocasionan hipertrofia de miocitos, necrosis y anomalías como focalización, y acumulación de gránulos de lipofucsina, degeneración hialina, edema intracelular, interrupción y la pérdida de miofibrillas. Se puede apreciar necrosis completa en los focos inflamatorios donde las células parecen estar en el interior de las fibras miocárdicas (absceso en los miocitos). Los miocitos atróficos comúnmente presentan un denso parche de tejido fibroso; este es una combinación de fibras miocárdicas hipertróficas y atróficas las cuales se detectan mediante técnicas histológicas que indican miocarditis fibrosa crónica activa, sugerente de enfermedad de Chagas OPS, 2010.

Forma digestiva

La forma digestiva, es descrita principalmente, en casos crónicos de la enfermedad, y se presenta frecuentemente en el sur del Ecuador. La disfunción del sistema digestivo, así como las alteraciones anatómicas y funcionales se debe a la destrucción de la enervación entérica inducida por *T.cruzi*; las anomalías más frecuentes se presentan en el esófago y en el colon. Las observaciones de alteraciones anatómicas del esófago (mega esófago) son a nivel hospitalario, el paciente presenta disfagia que lleva al paciente a buscar atención médica, siendo más importante que el estreñimiento. El aumento de volumen del duodeno, estómago, así como la colecistomegalia se encuentran asociados a las alteraciones anatómicas del esófago y el colon (OPS,2010).

Megaesófago

Esta anomalía es asintomática en pacientes chagásicos crónicos, por lo que frecuentemente las anomalías en la motilidad esofágica, no son detectadas con facilidad. Los métodos radiológicos, son muy sensibles, por lo que se aceptan bien en el diagnóstico clínico del paciente chagásico, ya que permiten la evaluación tanto de pacientes sintomáticos como asintomáticos permitiendo evaluar diámetro, tránsito, y grado de retención del bolo alimenticio, así como la presión del esfínter alimenticio en reposo (Matsuda, Miller, Barbosa; 2009).

Se sabe que la infección crónica originada por *T. cruzi* causa denervación del esófago con la pérdida de la peristalsis esofágica y de acalasia en el esfínter esofágico anterior. El síntoma inicial es la disfagia y se acompaña de dolor torácico, hipo, tos, ptialismo, regurgitación pasiva, acidez, infiltración de las glándulas parótidas. En pacientes que presentan esta sintomatología se recomienda realizar una placa de rayos X en dos planos, con medio de contraste de bario, la primera placa se toma posteriormente a tomar 150 ml de medio de contraste de bario y la segunda placa un minuto después. (A.M.Batista; et al., 2010).

En esta segunda placa se busca evaluar las siguientes características:

- Diámetro normal del esófago
- Vaciado incompleto del esófago y el restante medio de contraste de bario formando un cilindro con un eje horizontal en el eje superior.
- Presencia de aire por encima del medio de contraste a lo largo del esófago

La prevalencia del megaesófago ha disminuido importantemente en zonas endémicas, donde ha sido un éxito la implementación de medidas preventivas para el control de la enfermedad de chagas, como son la interrupción de la transmisión vectorial (eliminación de triatoma infestans) interrupción de la transmisión transfuncional (tamizaje universal de de la sangre en los 21 países de la región así como la cooperación técnica entre los mismos que genere metodologías y estrategias encaminadas a dar prevención, control y atención y tratamiento de la enfermedad de Chagas (OPS, 2010)

Megacolon

La sintomatología del megacolon se caracteriza por la retención de heces y gases (estreñimiento), sin embargo una placa radiográfica tomada después de realizar un enema de bario, puede mostrar la dilatación del colon, pese a que el paciente presente movimientos normales del intestino; otros signos son el meteorismo y distención abdominal. También se observa denervación extrínseca en este trastorno, la motilidad basal se puede ver aumentada o disminuida. Se presenta acalasia del esfínter anal, la cual no puede relajarse como en individuos normales lo cual causa hipersensibilidad en la pared rectal, lo que necesita un estímulo más fuerte para inducir la defecación (WHO, 2010; M.A. de Lima; M.C. Santos; 2008)

III Ubicación taxonómica

3.1 Características biológicas

Phylum: Sarcomastigophora

Subphylum: Mastigophora

Clase: Zoo mastigophorea

Orden: Kinetoplastida

Familia: Trypanomatidae

Género: Trypanosoma

Especie: cruzi

Las cepas de *Trypanosoma cruzi* presentan una gran diversidad que es posible identificarlas estudiando diferentes parámetros biológicos. El parásito infecta a una gran variedad de hospederos vertebrados, se sabe que aproximadamente 100 especies de mamíferos han sido infectados de forma natural o experimentalmente. (Rafael-Oswaldo, Angel, B., Chinchilla C.,M.,Guerrero,O.M., 2006).Estudios realizados en ratones infectados con tripomastigotes sanguíneos como modelo experimental, han mostrado que los parásitos presentan diferencias características morfológicas observadas a simple vista al microscopio (delgado, ancho, grueso y la forma), también se pueden presentar diferencias variables en los patrones de la parasitemia, sin embargo, la distribución de la fase de amastigote intracelular en los tejidos es cepa-dependiente ya que algunas cepas muestran un tropismo preferencial por los macrófagos en el bazo, hígado y hueso, mientras que otros carecen de tropismos específicos(OPS,2010).

Se han descrito patrones de variabilidad en la virulencia de *Trypanosoma cruzi*, así como también en las tasas de parasitemia y mortalidad, de una misma cepa del parásito que presentan comportamiento diferentes en diversos linajes de ratones. Por otro lado, se ha trabajado experimentalmente con tlacuaches y los resultados muestran que existen diferentes cepas que

originan una infección leve, mientras que otras son eliminadas a través mecanismos inmunes que no se entienden completamente (Rafael-Oswaldo, Angel, B., Chinchilla, C.M., Guerrero, 2007)

Se han estudiado las diferencias que se pueden presentar entre cepas, como por ejemplo la capacidad de invasividad de los tripomastigotes, en la que participan varias moléculas de superficie del parásito, algunas de ellas como la trans-sialidasa y las glicoproteínas que participan en la penetración celular. También existen diferentes grados de sensibilidad a los agentes quimioterapéuticos en las diferentes cepas. Se ha reportado resistencia natural a benznidazol(N-benzil-2-nitroimidazolacetamida) y el nifurtimox (4-(5-nitro-furilidenoamina)-tetrahydro-4-4-1,4- tiozina-1-1-dióxido)(figura 2). Estos son los fármacos más utilizados, hasta el momento, para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, ambos tripanocidas están dirigidos contra la forma de tripomastigote y amastigote. Estos medicamentos disminuyen la carga parasitaria, durante la fase aguda de la enfermedad en un porcentaje de 60 a 80%, principalmente cuando se implementa el diagnóstico oportuno y tratamiento inmediato (Villalobos Rocha, 2009 poner cita en bibliografía).

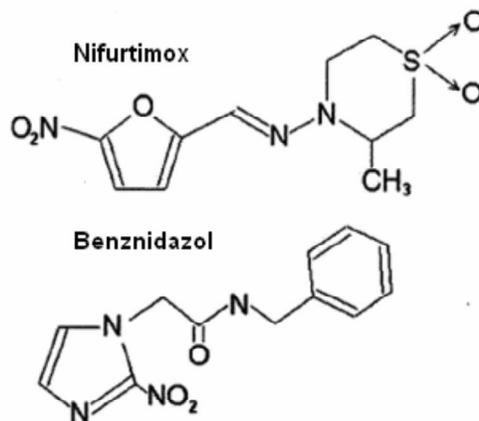


Figura 2. Estructuras químicas de los principales fármacos antichagasicos

3.2.1. Morfología

Epimastigote. (Del griego epi: de arriba; mastis: látigo o flagelo). forma replicativa, no infectiva . Se encuentra en el intestino del vector invertebrado. El cinetoplasto se localiza en la posición anterior, cercana al núcleo, y con un flagelo que forma una pequeña membrana ondulante. En ésta fase del ciclo de vida se lleva a cabo la multiplicación en el intestino de los triatominos dando lugar a los tripomastigotes metacíclicos, también es la forma que el parásito adopta en medio de cultivo. (Zeidenberg, et al. 2000)



Imagen tomada de *CDC.GOVorg*

Tripomastigote metacíclico. (Del griego trypo: perforar; mastis: látigo o flagelo). Forma no replicativa pero *si* infectiva; se genera a partir diferenciación de los epimastigotes presentes en la porción distal del intestino del vector, los cuales se excretan con las heces fecales del insecto usándolas como vehículo para luego penetrar al hospedero a través de las mucosas. Presenta forma alargada y con longitud de 20 a 25 μm . Se distingue morfológicamente un núcleo vesiculoso, y hacia la parte posterior el cinetoplasto de forma esférica, flagelo, y membrana ondulante, a lo largo del cuerpo del parásito y surgiendo en el extremo posterior.(Zeidenberg, et al 2000)



Imagen tomada de <http://www.respyn.uanl.mx/viii/3/articulos/urique-b.htm>

Amastigote. (Del griego a: sin; mastis: látigo o flagelo). Forma replicativa intracelular en el hospedero. Proviene de la diferenciación de los tripomastigotes, tanto metacíclico como sanguíneo, y tiene la capacidad de infectar otras células. Es de forma redondeada (leishmanoide), mide de 2 a 2.5 μm , su flagelo se encuentra dentro de una bolsa visible, que solo se puede observar al microscopio electrónico, también presenta un gran núcleo y cinetoplasto. (Zeidenberg, et al, 2000)

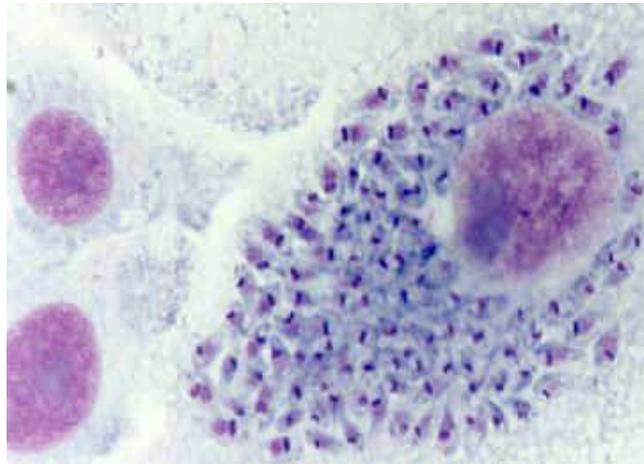


Imagen tomada de infectionlandscape.org

Tripomastigote sanguíneo. Forma no replicativa e infectiva; resulta de la diferenciación del amastigote; en este estadio se presentan dos opciones viables, diferenciarse a un estadio no infectivo en forma de amastigote en las células del hospedero o bien pasar al vector invertebrado,

para ubicarse en su intestino y posteriormente transformarse de epimastigote a tripomastigote metacíclico e infectar a un nuevo hospedero mamífero.(Zeidenberg, et al, 2000)

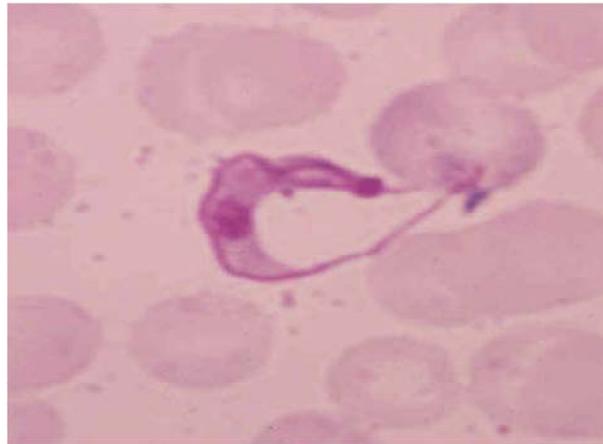


Imagen tomada de *infectionlandscape.org*

3.2.3 Ciclo de vida

Inicia cuando el vector se alimenta de la sangre de un mamífero infectado que contiene tripomastigotes circulantes, pasan a los intestinos del vector, se transforman en epimastigotes, se multiplican por fisión binaria longitudinal, maduran pocos días después a tripomastigotes metacíclicos y se ubican espacialmente en la porción distal del intestino del vector. Cuando este se alimenta nuevamente, ingiere varias veces su peso corporal en sangre comprimiendo sus intestinos, lo que causa el reflejo de defecar sobre la piel o mucosas del mamífero del cual se alimenta; depositando junto con su excremento tripomastigotes metacíclicos infectantes. Cuando los tripomastigotes metacíclicos son arrastrados de forma mecánica junto con la materia fecal (ya sea mediante las patas del vector, o simplemente cuando el hospedero se rasca), se introducen por la laceración inducida por la probóscide del vector; otras vías de entrada es cuando se ingieren las heces del vector hacia alguna mucosa o a la conjuntiva ocular (Biagi, 2002).

Una vez que los tripomastigotes son depositados en la barrera de la piel, mucosas o conjuntiva ocular se introducen en las células del tejido celular cercano al sitio de penetración, y en el macrófago se transforma a amastigotes; es ahí donde multiplican por fisión binaria y alcanzan la circulación sanguínea; cuando su elevado número causa la muerte y destrucción de la célula

infectada, se ha planteado mecanismos de salida de los parásitos de las células sin que causen daño mecánico inmediato; ver Figura 3 (Santos Varias 2013).

Sin embargo al llegar al torrente sanguíneo, los amastigotes liberados de las células infectadas pueden infectar nuevas células, o transformarse rápidamente en tripomastigotes sanguíneos y diseminarse por vía hematológica por todo el organismo, en donde pueden invadir casi cualquier célula. Cuando un triatómino se alimenta de un hospedero infectado y adquiere al parásito se convierte en vector, cerrando el ciclo biológico hasta infectar nuevamente a otro hospedero al alimentarse. La tripanosomiasis persiste en el organismo durante toda la vida, dependiendo de la respuesta inmune que monte el hospedero tropismos hacia órganos blanco así como de la cepa de *T.cruzi*.(CDC, 2009).

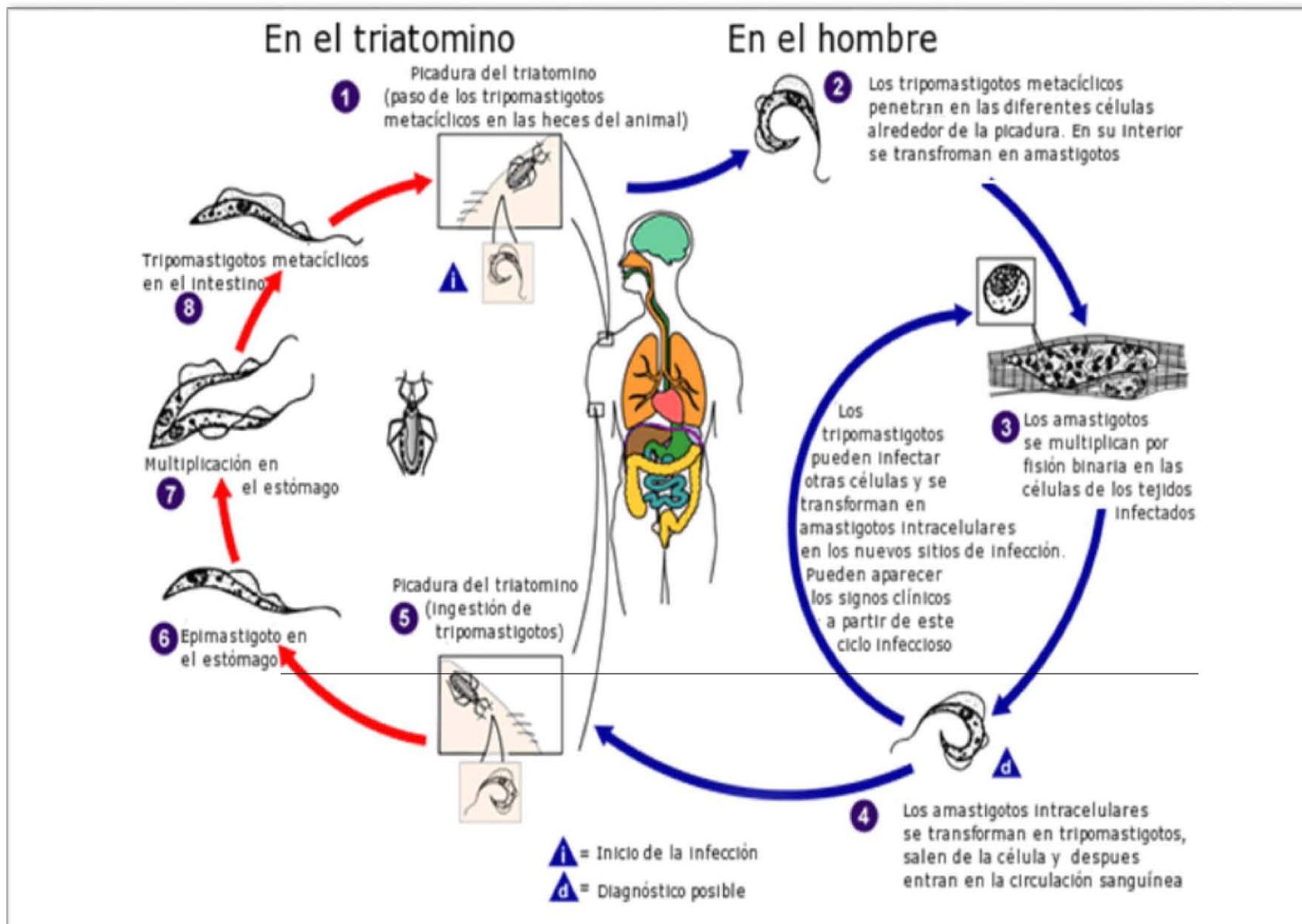


FIGURA 3 Ciclo de vida de *T. cruzi* (CDC, 2009)

3.3 Características genéticas

Los estudios genético-moleculares de *T. cruzi* han permitido clasificar a las diferentes cepas a través de sus propiedades biológicas, tropismos, capacidad de inducir una respuesta inmune, niveles de parasitemia, manifestaciones clínicas, sintomatología, con patologías de diferentes órganos, así como características epidemiológicas. La más reciente nomenclatura de *T. cruzi*, incluye seis Unidades Taxonómicas discretas (DTU's en inglés), que abarcan de *T. cruzi* I (TcI) hasta *T. cruzi* VI (TcVI) diferenciados y caracterizados por marcadores moleculares y por sus características biológicas. (Guhl, 2010)

La epidemiología molecular de *T. cruzi* puede aportar importante información sobre las características de la enfermedad. Sin embargo, pocas correlaciones han relacionado *T. cruzi* la variabilidad genética y la enfermedad; se ha mostrado que TcI esta más relacionada a pacientes con miocardiopatía en Colombia y Venezuela; mientras TcII y TcVI estan relacionadas en pacientes con síndrome digestivos (megaesófago / megacolon). En Colombia, TcI es predominante en hospederos, insectos vectores y reservorios, pero TcII también ha sido reportada la primera descripción de los nueve pacientes chagásicos crónicos infectados con TcII fueron reportados por Zafra et al., 2008 y también fue informada una infección mixta en el mismo paciente con TcI y TcII . (Guhl, 2010)

IV Vectores

4.1 Taxonomía

Los vectores de *T. cruzi* son insectos pertenecientes al orden Hemiptera, de la familia Reduviidae y subfamilia Triatominae, son, más de 130 especies conocidas; sin embargo, sólo unas pocas especies de tres géneros como son *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus*, son

importantes vectores de *T. cruzi* entre los animales domésticos y los seres humanos en las zonas endémicas. Los tres géneros se encuentran distribuidos en América latina, desde México hasta Argentina y Chile; ver figura 4(Guhl, 2009).



Fig. 4 Distribución de los triatómicos en América Latina (Guhl, 2009)

La mayoría de las especies de triatóminos viven en hábitats naturales en contacto con aves, mamíferos y reptiles en los diferentes ecosistemas; algunas de las especies sólo pueden sobrevivir dentro de un estrecho rango de temperaturas (por ejemplo *Belminus laportei* y *Triatoma dispar*), y de humedad (por ejemplo, *Dipetalogaster máximus*, *Triatoma breyeri*). (S.A. Kjos ;2009)

Otras pueden tolerar una amplia gama de condiciones climáticas, (altura precipitación, temperatura, insolación, presión de vapor, velocidad del viento, microclimas, amplitud térmica, índices de continentabilidad y productividad vegetal primaria) por ejemplo, *Panstrongylus geniculatus*, *Triatoma infestans*, y *Mepraia spinolai* (Ravinovich, 2008). Otros triatóminos requieren fuentes específicas de alimentos, por ejemplo, *Cavernicola pilosa*, que se alimenta de la sangre de los murciélagos, y

Triatoma protracta, que se alimenta de la sangre de ratas del género *Neotoma*. Otras especies no tienen preferencias especiales de alimentación, como *Triatoma guasayana*, *T. sanguisuga* y *T. sordida* (Imbert, 2003).

4.2. Distribución geográfica

La infección humana se produce a largo de la distribución de la mayoría de las especies que se encuentran entre los paralelos 45° S y 40° N y en altitudes de hasta 1500 metros sobre el nivel del mar; donde los triatomíneos se han adaptado al ámbito doméstico y transmitir mediante vía oral (a través de la ingestión de alimentos contaminados con triatomíneos) la infección en países endémicos. (Maldonado 2005; J. Carrasco; 2012)

V Epidemiología. Tendencias de incidencia

5.1 Mecanismos de transmisión y Factores ecológicos

5.1.1 Transmisión por vectores

T. cruzi se transmite vectorialmente a través de las heces de triatomíneos. La mayoría de los casos se atribuyen a las principales especies de vectores domiciliados, es decir, *Panstrongylus megistus*, *Rhodnius prolixus*, *Triatoma brasiliensis*, *T. dimidiata* y *T. infestans*, especies características de ambientes abiertos de América Central y del Sur, o bien las áreas naturales (sabanas y pastizales, pastizales, bosque seco, el desierto y valles) o ecotopos artificiales (PAHO, 2010).

5.1.2 Transmisión por transfusión sanguínea

Los movimientos migratorios rural-urbanos ocurridos en América a partir de la década de 1960 cambio el patrón epidemiológicos tradicional de transmisión de *T. cruzi*. convirtiéndose en una infección que se podía transmitir por transfusión de sangre en una zona urbana. (PAHO, 2010).

En la actualidad, en la mayoría de los países de América Latina, el suministro de sistemas para la detección de donantes de sangre en los bancos de sangre ha sido obligatorio por ley con el fin de prevenir la transmisión de *T. cruzi* por transfusión de sangre. Esa transmisión no se limita a los países donde la enfermedad es endémica. La migración de las personas infectadas por *T. cruzi* plantea un problema de salud pública, incluso para los países en los que transmisión vectorial del parásito no se

produce, como en Canadá y EE.UU, en donde la transmisión de T.cruzi por productos sanguíneos ha sido reportada desde hace ya varios años. La transmisión de la enfermedad de Chagas por transfusión depende de varios factores, el nivel de parasitemia de los donantes, el número y el volumen de las transfusiones recibidas, el tiempo entre la recolección de sangre y la transfusión, el estado inmunológico del receptor, entre otros. El riesgo de transmisión del parásito por transfusión de una unidad única de 500 ml de total de la sangre varía de 12 a 20%. T.cruzi también puede ser transmitida por plasma y glóbulos rojos concentrados, por regla general, la implementación de mecanismos efectivos nacionales de bancos de sangre políticas resulta en una reducción drástica en el riesgo de transmisión por transfusión de la enfermedad de Chagas (Werner y col, 2008).

5.1.3 Transmisión congénita

La prevalencia de la infección por T. cruzi en mujeres varía ampliamente en los diferentes países endémicos. La enfermedad de Chagas predominante en ambientes rurales, sin embargo en la actualidad, debido a la migración de mujeres infectadas en edad fértil a las grandes ciudades, esta enfermedad ha emigrado junto con ellas. La transmisión congénita depende directamente de la prevalencia de la infección en mujeres en edad fértil que se infectaron por lo general por la transmisión vectorial. (PAHO, 2010)

5.1.4 Transmisión por trasplante de órganos

Los pacientes que han recibido órganos de donantes con enfermedad de Chagas crónico, han experimentado episodios agudos de la enfermedad, y el parásito se ha aislado de la sangre periférica. Esto ha ocurrido después de trasplantes de riñón, corazón, médula ósea, y los trasplantes de páncreas de donantes tanto muertos como vivos, y esta es probablemente la causa de la etiología de la transmisión (PAHO, 2010).

5.1.5 Transmisión accidental

Se ha informado la transmisión accidental de la enfermedad de Chagas en varias situaciones, por ejemplo, en laboratorios y hospitales, tanto de zonas endémicas y como no endémicas. Más de 70 casos bien documentados se han registrado en técnicos, médicos e investigadores por el manejo de diferentes tipos de materiales contaminados, tales como deyecciones de triatomíneos, los cultivos de

parásitos, y la sangre infectada de humanos y los animales de investigación infectados (Navarro Pereira; 2013).

5.1.6 Transmisión oral

La transmisión oral ha sido documentada en diversas epidemias en Brasil, Colombia y México, después de la ingestión de alimentos contaminados con triatominos infectados o sus deyecciones (Imbert, 2003; Navarro Pereira; 2013).

Se relaciona también a zonas endémicas selváticas donde se ven involucrados elementos naturales permitiendo que los ciclos de transmisión del parásito estén presentes permanentemente disminuyendo ampliamente la capacidad de erradicación del vector y aumentando las probabilidades de infección por parte de un hospedero vertebrado. Actualmente se han reportado más de mil casos en la cuenca amazónica, los cuales han sido identificados de 138 brotes atribuidos por las autoridades epidemiológicas a la ingesta de triatominos o sus deyecciones. La transmisión por vía oral si se encuentra bien documentada por autores como Cardoso y Silveira los cuales reportan haber encontrado a *T. cruzi* en bebidas en las 24 horas posteriores a su contaminación. El mecanismo es sumamente simple simplemente es la prevalencia del vector que contamine bebida o comida sea con sus heces o el vector completo. Este tipo de transmisión presenta un marcado incremento en países como Brasil, Colombia, México, y Venezuela siendo esto notable tras el control del vector como transmisión; en la mayoría de los brotes reportados como probable transmisión por vía oral existe la correlación de que los grupos de personas coincidieron en tiempo y espacio durante alguna reunión en la que compartieron comida elaborada tradicionalmente, y al practicárseles el estudio clínico correspondiente ninguno arrojó señal de puerta de entrada. (Soto, Tibaduiza et al. 2014).

VI Diagnostico por el laboratorio

6.1.1 Diagnostico parasitológico

Durante la fase aguda de la enfermedad, los índices de parásitos presentes en la sangre periférica pueden ser detectados por pruebas parasitológicas directas. La observación microscópica de sangre fresca entre portaobjetos y un cubreobjetos puede revelar la presencia del parásito, debido a su movilidad; también puede realizarse un frotis de sangre delgado y grueso, teñido con tinciones derivadas de Romanosky, (GIEMSA, WRIGHT y sus variantes), que permitan la observación de las

características morfológicas del parásito. Cuando el grado de la parasitemia es bajo, es necesario el uso de métodos de concentración de los parásitos (Pasten S., 2014).

Serología convencional

Se utilizan tres pruebas convencionales para el diagnóstico: hemaglutinación indirecta (IHA), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA. Se ha sugerido que, si se obtienen resultados positivos en más de una de las mencionadas pruebas, esto puede ser considerado como un diagnóstico definitivo de la infección por T.cruzi. Sin embargo, una sola prueba positiva, si IFI o ELISA, ahora debería ser suficiente ya que la sensibilidad de estas pruebas es alrededor del 99%, siempre que los reactivos se han sometido a controles de calidad (Pasten, 2014).

En la mayoría de las pruebas convencionales, se puede emplear una mezcla compleja de antígenos del parásito (IHA y ELISA) o el parásito completo (IFI). Esto incrementa la probabilidad de diagnosticar la infección, con títulos bajos de anticuerpos. Sin embargo se incrementa la probabilidad de obtener resultados falsos positivos por reacción cruzada entre T. cruzi y Leishmania spp. o T.rangeli (PAHO, 2010).

En la prueba de IHA, se obtienen resultados en un tiempo aproximado a 2 horas, y no requiere ningún tipo de equipo sofisticado, ni personal con habilidades técnicas especializadas ni capacitación. Alcanza una sensibilidad en el rango de 96-98%, que es menor a la obtenida con el IFI y ELISA. La prueba por lo general no detecta 1,6-2,5% de los falsos positivos (individuos infectados). La prueba de IFI tiene una sensibilidad del 99%, pero la lectura es subjetiva y debe ser realizado por un técnico especializado con un curso de capacitación sobre la técnica, así como del equipo y un microscopio especial de luz ultravioleta. La titulación de los conjugados es esencial como es el control de los reactivos utilizados, otro de los inconvenientes es que los estuches comerciales no están fácilmente disponibles, y la especificidad es más baja que el de la prueba de IHA (WHO, 2010).

VII Tratamiento

7.1 Tratamiento tripanomicida

El Nifurtimox (4-(5-nitro-furilidenoamina)-tetrahidro-4-4-1,4- tiozina-1-1-dióxido) y Benznidazol (N-benzil-2-nitroimidazolacetamida) han sido casi los únicos fármacos utilizados para el tratamiento de la

fase aguda de la enfermedad de Chagas y de la infección congénita debido a que, la enfermedad de Chagas se considera como una enfermedad autoinmune, por lo cual se convino que los pacientes con lesiones crónicas no se beneficiarían de un tratamiento tripanomicida; ya se han considerado otras opciones como el aplicar tratamientos a base de Benznidazol a escolares que presentan la fase de la crónica fase de la enfermedad, se seroconvierten a negativo hasta el 60% de seropositivos en las pruebas serológicas convencionales. Se ha reportado que el benznidazol causa efectos secundarios en la mayoría de los pacientes adultos, sin embargo, no sucede lo mismo en los niños, que tienen una tolerancia notablemente mayor al tratamiento. Los beneficios proporcionados por el benznidazol en la fase aguda y fases crónicas de la enfermedad de Chagas indican que debe ser recomendado para cualquier persona con resultados positivos en la serología. (PAHO, 2010).

VIII Tripanosomiasis americana (enfoque actual)

8.1 Planteamiento del problema

La enfermedad de Chagas está tomando una perspectiva totalmente diferente a la presentada con anterioridad; actualmente ya no es una enfermedad que se presente únicamente en América Latina, ahora le podemos encontrar en Estados Unidos y Europa, debido a los cambios económico-sociales que desde hace algunas cuantas décadas que involucran la migración legal e ilegal de latinoamericanos hacia el resto del mundo. La enfermedad además de transmitirse vectorialmente, se transmite a través de donaciones de sangre y de órganos; muchos de estos donadores desconocen que se encuentran infectados con el parásito y que se encuentran en la fase crónica y totalmente asintomática, esta problemática se une a la actual pandemia de SIDA, junto con las enfermedades reemergentes(WHO, 2010; Naqira, 2001). Millones de personas no han sido detectadas, y ahora ya sabemos que existen vías alternas para la transmisión de la enfermedad que excluyen al vector.

Aunque la biotecnología que ha brindado herramientas muy útiles para el diagnóstico, y la investigación, los avances en cuanto tratamiento, aun requieren mayor especificidad además de proporcionar los resultados más rápidamente. Las acciones gubernamentales han tomado otro enfoque diferente en el combate de la enfermedad, lo cual es la lucha contra el vector, implementado con gran éxito puesto a que sus acciones no van enfocadas, solo a la erradicación del vector, sino a combatirlo mediante diversas acciones como la implementación de aplanados de

suelo, campañas informativas en zonas endémicas, pesquisas médicas para detectar posibles infectados (PAHO, 2010).

8.2 Justificación

Es de suma importancia estudiar el comportamiento biológico de *Trypanosoma cruzi* para poder comprender la relación hospedero-parásito. Los resultados obtenidos del estudio comparativo de los dos aislados de *T. cruzi*, obtenidos, en el mismo lugar (La Purísima de la Cueva, Qro.) con 20 años de diferencia, podrá aportar herramientas importantes para poder comprender la enfermedad.

IX Objetivo General

Estudiar las diferencias que se presentan entre el aislado mantenido desde hace 27 años y el recién adquirido en la comunidad de la Purísima de la cueva, ambos obtenidos en el estado de Queretaro para realizar un estudio comparativo del comportamiento biológico del *Trypanosoma cruzi*

9.1 Objetivos particulares

- Realizar curvas de crecimiento para estudiar si existen diferencias entre el comportamiento biológico de ambos aislados in vitro.
- Cuantificar los niveles de parasitemia de ambos aislados en un modelo murino.
- Recuperar los órganos del modelo biológico infectado con *T.cruzi* y observar los tropismos órgano-blanco, detectando la presencia o ausencia de nidos de amastigotes, y establecer si existen diferencias

Hipótesis

Si aislado silvestre de *T. cruzi* obtenido de *T. barberi* en 2007, presenta diferencias biológicas importantes con el aislado de *T. cruzi* mantenido en el laboratorio por 20 años entonces se puede inducir que hay una variabilidad en comportamiento biológico de *T. cruzi*.

X Material y métodos

El estudio comparativo se realizó con 2 aislados de *T. cruzi*; un aislado fue recuperado de las heces de *Triatoma barbieri* en el estado de Querétaro en la comunidad de la Purísima de la Cueva, en el año 2007; el otro obtenido hace 20 años por parte del departamento de Parasitología y Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNAM. Las heces de la triatoma infectada con tripomastigotes metacíclicos se inocularon intraperitonealmente en 2 ratones hembras. A los 15 días post infección se anestesiaron a los ratones para obtener sangre total. La mezcla de la sangre de los 2 ratones se alicuoto. Un lote se inoculo en medio de N.N.N y en RPMI para analizar la curva de crecimiento de los epimastigotes. Con el otro lote se inocularon 10 ratones por via intraperitoneal con las formas sanguíneas (la cantidad a inocular fue 1×10^6). Se realizó histopatología de los diferentes órganos (corazón, músculo esquelético, esófago, intestino grueso, bazo, ganglios linfáticos cervicales).

Parásitos.

Los aislados de *T. cruzi* se mantienen en el laboratorio por pases sucesivos en ratones hembras CD-1 y en medio de cultivo RPMI. El estudio de las tasas de crecimiento de epimastigotes de *T. cruzi* se realizó inoculando (1×10^6) en medio de cultivo RPMI-1640 (Life Technologies Laboratories, Gaithersburg, MD, USA) que contenían 10 U penicilina por mililitro, 25 μg de estreptomycin por mililitro (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD, USA), 10 ml de amortiguador de Hepes (25 mM; Gibco, Grand Island, NY, USA), 10 ml de L-glutamina (200 mM; Sigma, St. Louis, MO, USA) suplementado con 10% de suero fetal bovino (Gibco, Grand Island, NY, USA).

Animales de experimentación

Se trabajó con ratones hembras CD-1 obtenidas del Bioterio de la Facultad de Medicina UNAM, se mantuvieron en condiciones estándares de alimentación. Se inocularon a un grupo de 10 ratones por vía intraperitoneal con 1×10^6 de tripomastigotes sanguíneos (TS) con ambos aislados..

Curva de crecimiento

Se monitoreó el crecimiento in vitro de los dos aislados durante 29 días, la cuantificación del número de parásitos se realizó con la cámara de Neubauer.

Parasitemias

Se estudió la presencia de tripomastigotes sanguíneos de *T.cruzi* en 5 ratones infectados de ambos aislados, se tomaron 5 μ L de sangre de la cola del ratón y se depositó en 45 μ L de Cloruro de amonio. La cuantificación de parásitos se hizo cada tercer día en la cámara de Neubauer durante 19 días post-infección, hasta que no se encontraron parásitos en sangre.

Estudio de histopatología

El grupo de los 5 ratones infectados con los dos aislados de *Trypanosoma cruzi*; La Purísima o Querétaro, se sacrificaron a los 29 días post-infección con sobredosis de anestésico. Se obtuvieron los siguientes órganos; corazón, esófago, músculo gastrocnemius, ganglios cervicales, intestino grueso y bazo. Los órganos se fijaron en 10% de formalina, y se deshidrataron con etanol en forma gradual al 40%,60%, 70 % y 100%, después se les adicionó xilol y finalmente se embebieron los tejidos en parafina. Se realizaron cortes de 4 μ m de los tejidos con el micrótopo (American Optical), y se depositaron en portaobjetos. Se cortaron a diferentes distancias para cubrir todo el órgano, los tejidos obtenidos se desparafinaron, se lavaron con xilol y se tiñeron con hematoxilina eosina y se cubrieron con Permount. La búsqueda de los nidos de amastigote se realizó al microscopio de luz (Leika DME). Se realizaron 70 cortes histológicos de cada órgano, se analizaron 100 campos microscópicos con los objetivo 100 y 8x, se sumaron la cantidad de nidos encontrados en cien campos de cada uno de los 70 cortes histológicos para hacer el promedio.

Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos de los aislados de *T. cruzi*, se analizaron utilizando el análisis de varianza (ANOVA) seguido por la prueba múltiple de comparación Tukey & Kramer, y con la prueba no paramétrica Kolmogorov y Smirnov. Se considera de significancia estadística $p \leq 0.05$. Se utilizó el programa InStat Statistical Program Gradpad, San Diego California.

XI Resultados

Curvas de crecimiento

En la tasa de crecimiento de ambos aislados analizados durante 29 días no se encontró diferencias como se muestra en los gráficos 1 y 2. Se observan entre los días sexto y octavo(fase logarítmica

de crecimiento en los dos aislados aproximadamente de 5.5 a 7 millones de epimastigotes). En la fase estacionaria de crecimiento se observaron 7.5 millones de parasito por ml en ambos aislados . No se encontraron diferencias estadisticamente significativas en las curvas de crecimiento de ambos aislados ($p \geq 0.05$).

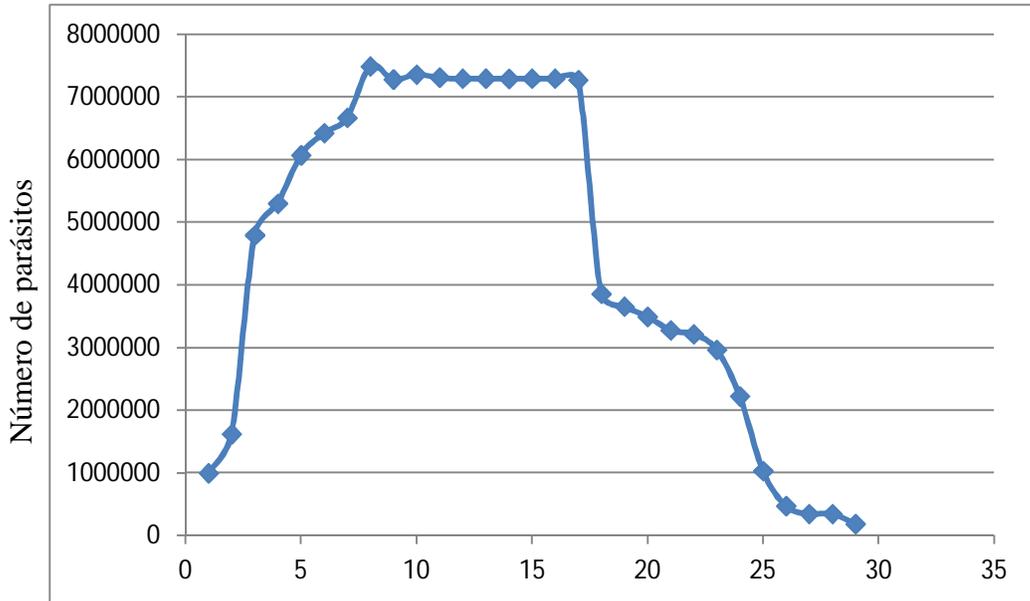


Gráfico 1. Curva de crecimiento en medio RPMI® de aislado Querétaro

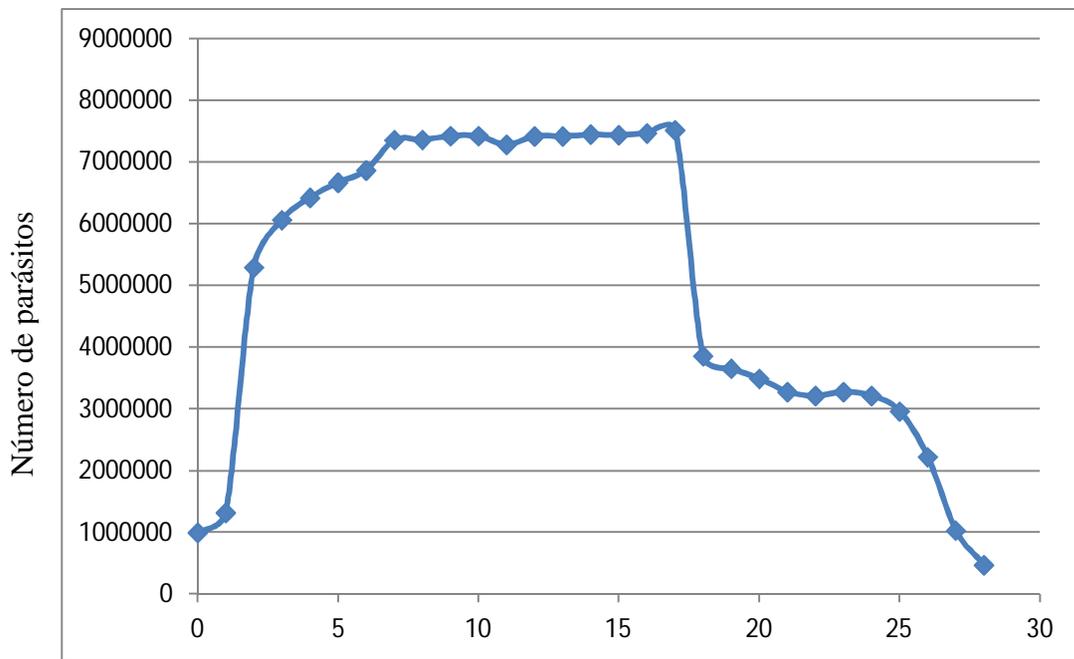


Gráfico 2. Curva de crecimiento en medio RPMI® de aislado Purísima de la Cueva

Parasitemias

En ambos aislados hubo un rápido y continuo crecimiento de los parásitos. El resultado del análisis de las medias de las parasitemias de ambos aislados mostró diferencias significativas en el aislado Querétaro $p < 0.017$ comparado con el La Purísima como se muestra en el gráfico 3. En la Tabla 3 se muestran las medias de las parasitemias de ambos aislados en donde se puede apreciar que en el aislado Querétaro la media de las parasitemias es superior que en el aislado La Purísima.

Comparación de medias de los aislados Purísima y Querétaro (Mean and standard deviation)

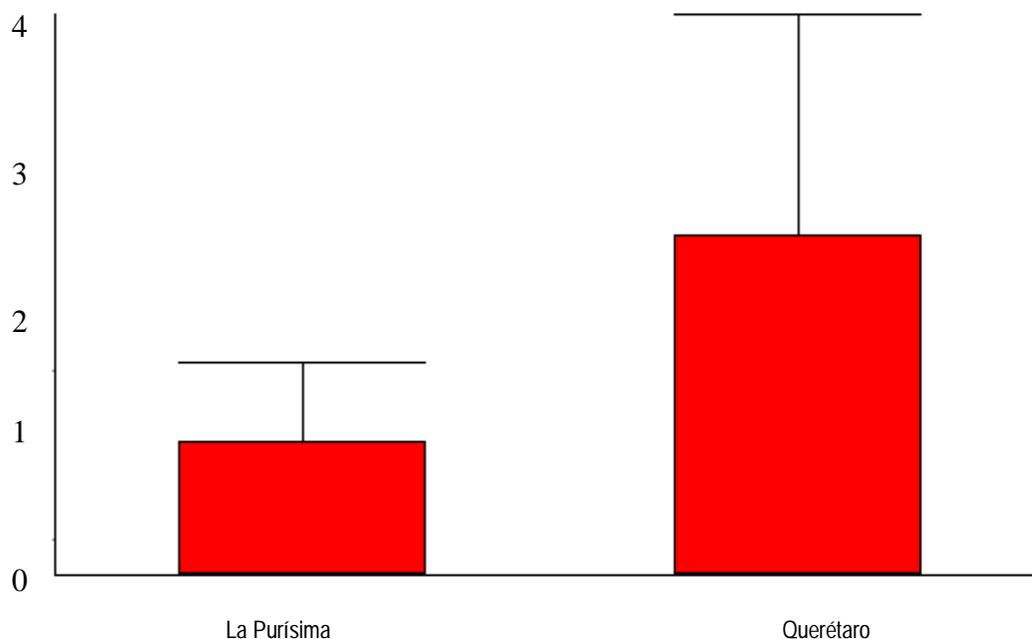


Gráfico 3. Representación de la media y la desviación estándar de las parasitemias de los aislados de La Purísima y Querétaro $p < 0.017$

La Purísima	Querétaro
0.556250	0.368750
2.025001	0.287500
1.381250	3.918751
1.212500	4.075001
0.656250	4.060251

Tabla 3 Se muestran las medias de las parasitemias de los aislados La Purísima y Querétaro.

Histopatología

El análisis del tropismo de los aislados de *T. cruzi* no mostraron diferencia significativa en cuanto a la presencia de nidos de amastigotes en esófago de ambos aislados $p > 0.05$, se encontraron más nidos en el aislado La Purísima que en el Querétaro (figura 5). En células cardíacas se observó una diferencia significativa en el aislado Querétaro comparado con el de la Purísima $p < 0.01$ figura 6. Se encontró mayor cantidad de nidos en musculo esquelético de ratones infectados con el aislado Purísima comparados con los encontrados en el de Querétaro, $p < 0.001$ figura 7. No se recuperaron nidos de amastigotes en ganglios linfáticos cervicales, en intestino grueso ni en el bazo de ratones infectados en ambos aislados como se muestra en la tabla 2.

Nidos	Querétaro	Purísima
Corazón	73	51
Esófago	17	32
Bazo	0	0
Músculo	29	61
Ganglios linfáticos cervicales	0	0
Intestino	0	0

Tabla 2 Numero de nidos encontrados en los diferentes órganos de ratón infectados aislados Querétaro y Purísima

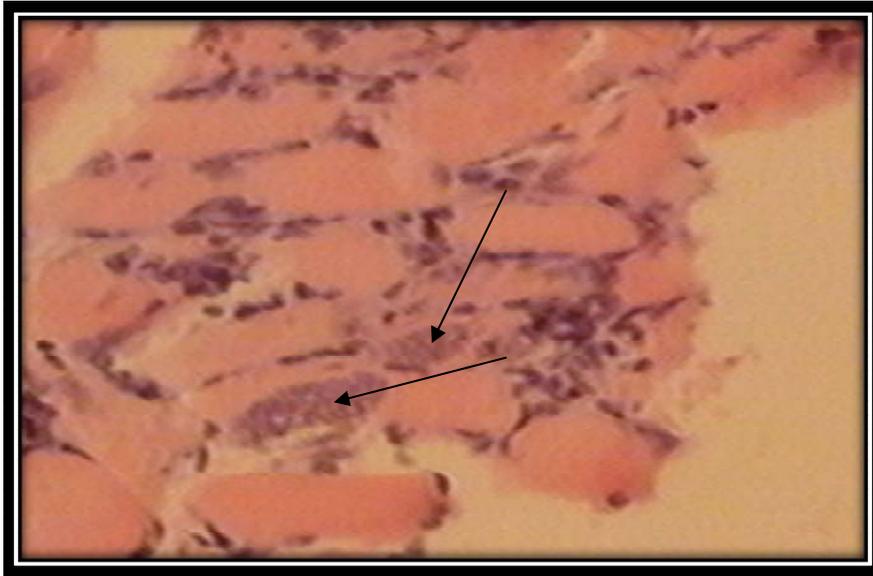


Figura 5. Corte histológico de esófago de ratones infectados con el aislado de *T.cruzi* La Purísima. Se observan nidos de amastigotes(flechas)

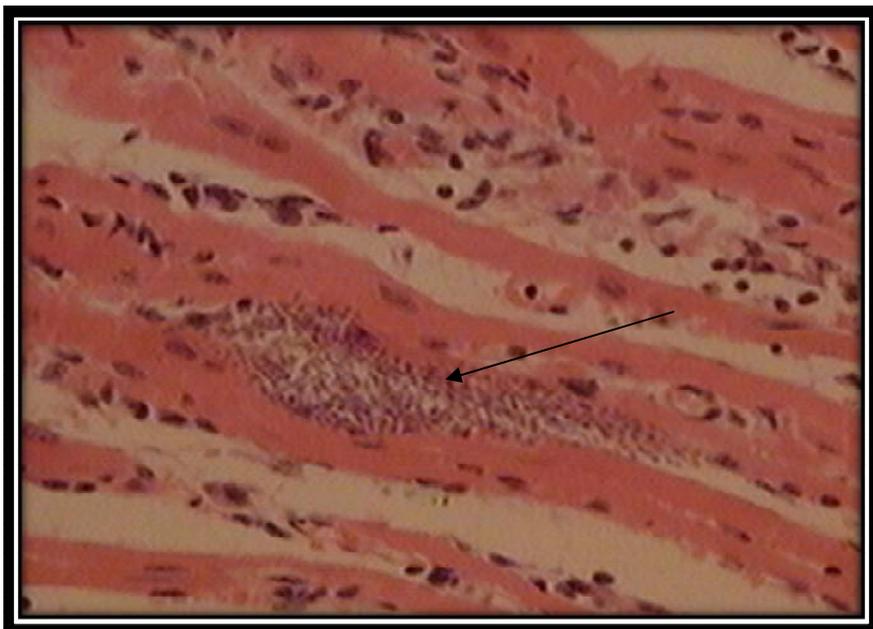


Figura 6. Amastigotes de *T.cruzi* en miocardiocitos de ratón infectado del aislado Querétaro

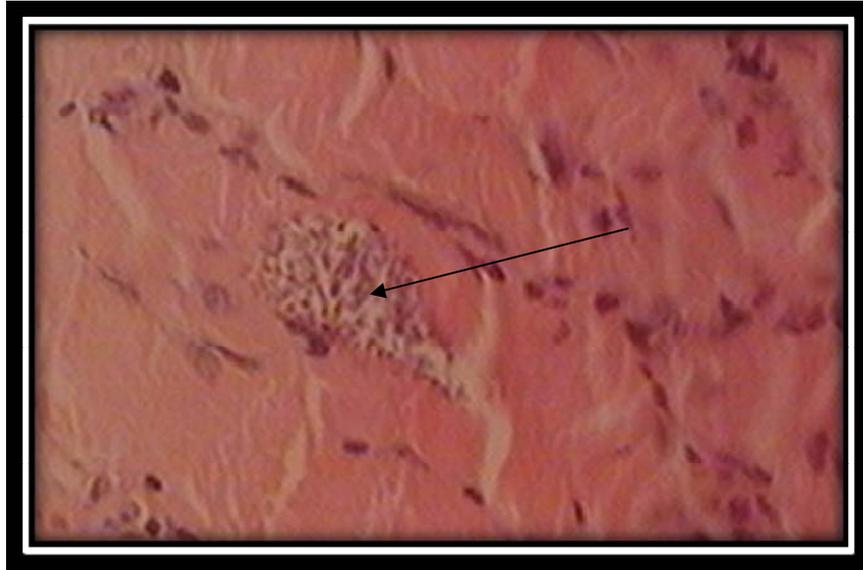


Figura 7. Amastigotes de *T.cruzi* en músculo esquelético de ratón infectado con el aislado

Discusión

La enfermedad de Chagas presenta una gran gama de presentaciones clínicas que se pueden atribuir a la heterogenicidad que presentan los diferentes aislados de *Trypanosoma cruzi*, o también a la respuesta inmune del hospedero. Se considera que la infectividad de las cepas juega un papel determinante en la evolución de la enfermedad. La diversidad en la expresión clínica de la infección ha estimulado el interés de entender las diferencias biológicas, bioquímicas, inmunológicas y genéticas entre las cepas de *T. cruzi*. El análisis de poblaciones naturales de *T. cruzi* comprende el estudio isoenzimático de las secuencias de DNA del cinetoplasto (kDNA) como marcadores básicos. Se ha encontrado una estructura básica clonal; Miles et al., en 1978 definio 3 zimodemos numerados Z1, Z2 y Z3 basados en el análisis de los aislados predominantes del norte y del noroeste de Brasil. Cuando se aplica la amplificación del DNA polimórfico al estudio de poblaciones de parásitos, se ha concluido por el grupo de Stander et al., (1993) que estas variaciones genéticas significativas dependen principalmente de los zimodemos. Por otro lado, diferentes grupos de investigadores han demostrado que existe una estrecha relación entre zimodemos y esquizidemos sugiriendo que los genes estructurales nucleares que codifican por enzimas ó para el DNA extarnuclear kDNA tienen una evolución paralela. Una posible explicación de la variabilidad en la virulencia de las diferentes cepas de *T.cruzi* se puede atribuir a la capacidad que tiene este de interiorizarse y multiplicarse en las células, esto se ha estudiado en diferentes aislados de origen salvadoreños, en el que se han encontrado clonas con diversos grados de infectividad (Calderon- Arguedas et al., 2002).

El objetivo principal de este trabajo fue conocer el comportamiento de dos aislados de *T. cruzi*, obtenidos de *Triatoma barberi* en la misma localidad La Purísima de la Cueva en el estado de Querétaro, con 20 años de diferencia.

Los resultados del análisis estadístico de las curvas de crecimiento no mostraron diferencias estadísticas significativas entre los dos aislados. En las parasitemias si se presentaron diferencias estadísticamente significativas, el aislado Querétaro mostró índices más altos de parásitos que el aislado La Purísima, Por otro lado, los resultados de las parasitemias en el modelo murino mostraron variaciones en el número de parásitos en los ratones inoculados con un mismo aislado, esto lo podríamos atribuir, entre otras variantes, a las diferencias genéticas inherentes a cada ratón individual y a la relación huésped- parásito. Se ha observado experimentalmente que los tripomastigotes en sangre circulante aparecen más rápido en circulación cuando se inoculan tripomastigotes metaclícos. En nuestro diseño experimental se incluyeron tripomastigotes sanguíneos en la inoculación, probablemente, esto contribuyó a observar los parásitos en circulación hasta el décimo día post-inoculación. Esto nos podría ayudar a comprender en parte la complejidad del desarrollo de una respuesta inmune protectora y una respuesta autoinmune que conduce al daño tisular (Zuniga *et al.*, 2012; Bilate, Cuhna-Neto, 2008). Las diferencias observadas en la patogenicidad y virulencia de una misma cepa tanto "*in vitro*" como "*in vivo*" podrían atribuirse en parte al vector del parásito (*Triatoma*) (Valerio *et al.*, 2009).

Interesantemente, el aislado Querétaro que se obtuvo en 1987 se ha mantenido en el laboratorio en cultivo e "*in vivo*" durante 27 años y el aislado La Purísima es de origen silvestre, y fue aislado recientemente, por lo que se podría sugerir que este aislado de *T. cruzi* sería más virulento que el que se ha mantenido por pases sucesivos (Querétaro). Sin embargo, los resultados obtenidos muestran que existen ligeras diferencias en el comportamiento biológico, como lo mostró el análisis de las parasitemias de ambos aislados en el que el aislado Querétaro presentó las parasitemias más elevadas. En los resultados del histotropismo se encontraron diferencias estadísticas en el aislado Purísima presentó más nidos de amastigotes en el músculo liso como el esófago y en músculo esquelético comparado con Querétaro, pero en el aislado Querétaro se encontraron más nidos de amastigotes en corazón que en La Purísima. Probablemente, los resultados que encontramos en las parasitemias, en el aislado de La Purísima que se presentaban menos parásitos que en el de Querétaro, podría indicar que los tripanosomas se dividen más lentamente que en aislado Querétaro, por eso es posible encontrar más parásitos en los ratones infectados en el aislado Querétaro que en el de la Purísima.

En este estudio los aislados pertenecen a la misma zona geográfica (Estado de Qro. hace 26 años, y el otro obtenido en la comunidad Purísima de la Cueva municipio de La Corregidora Qro. Encontramos que ambos aislados presentaban marcado tropismo por células cardíacas y musculares, no así por órganos encapsulados como el bazo o los ganglios, probablemente ésta distribución podría jugar un importante papel en la etiopatogenia de la enfermedad de Chagas, por

ejemplo, los pacientes infectados con estos aislados de *T.cruzi* podrían desarrollar cardiopatía chagásica y mega esófago, pero no megacolon ya que en el modelo experimental estudiado no fue posible detectar nidos de amastigotes en el intestino grueso. (Andrade y et al., 2010).

XII. Conclusiones

- Se tiene que los dos aislados de *Trypanosoma cruzi*, uno de ellos obtenido en el municipio de la Corregidora, con 27 años de aislamiento en el laboratorio, y el segundo recolectado en el año de 2007 en la localidad de La Purísima de la Cueva, ambos localizados en el estado de Queretaro,, mostraron ligeras diferencias significativas en el comportamiento biológico.
- En el crecimiento en el medio de cultivo RPMI no hubo diferencias significativas en ambos aislados.
- En relación a los niveles de parasitemia si se encontraron diferencias significativas, ya que en el aislado obtenido en 2007 (pusirima) se encontró un mayor número de parásito en sangre en el lote infectado.
- No hubo diferencia en los nidos encontrados en los diversos órganos lo que demuestra que no hay diferencias significativas en los tropismos hacia órganos blanco, por parte de ambos aislados.
- Sería importante realizar estudios moleculares a nivel del DNA extranuclear kDNA, o a nivel proteómico para determinar si a este nivel, existen diferencias significativas entre los 2 aislados de *T.cruzi*.

XIII. Expectativas

La enfermedad de Chagas es una dicotomía en los anales de la medicina, puesto a que puede decirse que es la enfermedad de la pobreza de la América latina, a la cual se le prestó atención por países primermundistas debido a los fenómenos migratorios que se presentaron en las últimas décadas; para este año 2015 se ha acumulado un vasto conocimiento en torno al agente etiológico, el vector, el cuadro clínico etc. mas sin embargo sigue siendo una enfermedad poco conocida tanto por el personal médico, enfermería así como el de laboratorio. Es un problema de salud pública emergente que requiere la vasta aplicación de todo el conocimiento encontrado desde su descubrimiento, desde la capacitación del médico tratante para su oportuno diagnóstico por medio de la clínica; búsqueda de nuevas pruebas diagnósticas con mas alta especificidad y sensibilidad, el desarrollo de nuevos principios activos para el desarrollo de fármacos antichagásicos etc. Si bien es importante profundizar en el ámbito académico y de investigación es sumamente importante la aplicación del conocimiento para desarrollar estrategias que nos permitan manejar esta enfermedad.

Bibliografía

En línea

World Health Organization (Organización Mundial de la salud)

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/index.html>

Pan American Health Organization (Organización Panamericana de la Salud)

<http://www.paho.org/chagas/>

Centers for Disease Control and prevention (Centro para el Control y prevención de Enfermedades)

<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/chagas-disease>

MENDEZ GALVÁN (2006). Situación de la enfermedad de Chagas en México. Secretaria de Salud

BIAGI F. (2002) Enfermedades parasitarias, Manual moderno 3a ed. pp. 135-144.

MALDONADO R., A. (2005) Identificación molecular de *Tripanozoma cruzi* en triatominos de tres eco topos del estado de Colima. Tesis Maestría en ciencias medicas. Colima, Universidad de Colima, México. Centro Universitario de Investigaciones Biomedicas. 90 p.

NAQUIRA, V.C.; HUAPAYA, P.; ESPINOZA, B.Y.; VEGA, CH. S. (2001) Enfermedad de chagas (modulo técnico).Lima, Peru. p.p. 12-13

IMBERT, P.J.L.; FIGUEROA, G.A.H.; GOMEZ, G.J.V.(2003).Tripanosomiasis americana o Enfermedad de Chagas: otra enfermedad de la pobreza. Elementos 49, p.p.13-21

SOTO, H; TIBADUIZA, T; MONTILLA, M; TRIANA, O;SUAREZ, D.C.; TORRES, M; ARIAS, M.T.; LUGO, L. (2014) Investigacion de vectores y reservorios en un brote de Chagas agudo por posible transmisión oral en Aguchica, Cesar, Colombia. Saúde Publica, Rio de Janeiro.30(4) p.p. 746-756

SUAREZ, N.; CABRERA R.; CARTAGENA, L.; AYAQUI, R. (2009) Características de una cepa de *Tripanozoma cruzi* en un modelo murino y análisis de supervivencia. Rev Peru Med Salud publica.p.p. 26(2).

NAQUIRA, C.; CABRERA R. (2009) Breve reseña historia de la enfermedad de chagas a 100 años de su descubrimiento y su situación actual en el Perú. Rev Peru Med Salud pública; 26(2). 494-504.

SAHAGÚN-FRAY B. (1577) Historia general de las cosas de la Nueva España. Códice florentino. Ed. Ángel M., Garibay, México: Porrúa., 1981, t.I, pág. 33.

USINGER RL. The triatomine of North and Central America and the West Indies and their public health significance. Washington, USA; 1944. p. 2-3.

R. L., USINGER; P. WYGODZINSKY, AND R. E. RYCKMAN (1948) The Biosystematics of Triatominae. Annual Review of Entomology Vol. 11: 309-330 (Volume publication date January 1966)

AZARA FELIX DE (1809). Voyages dan L'Amérique Meridionale. Chap. VI. Paris. p. 208-9.

BURMEISTER H. (1835) Handbuch der Entomologie. Part 1. Vol. 2. p. IV-400.

HERRICH-SCHAEFFER GAW.(1848) Die Wanzenartigen Insecten.Vol. 8. Nürnberg; p. 130.

MAZZOTTI L. Triatomineos de México y su infección natural por *T. cruzi*. Chagas Med (Mex). 1940; 20:95

HOFFMANN, C. (1928). Revista Mexicana de Biología, 8, 12-18

HOFFMAN C. Nota acerca de un probable transmisor de la tripanosomiasis humana en el estado de Veracruz. Rev Mex Biol. 1928; 8: 12-8.

MAZZOTTI L. Comentario sobre la distribución geográfica de algunas de las especies de *Triatomineos* que existen en México. Rev Inst Salubr Enferm Trop (Mex). 1962; 22: 75-8.

MAZZOTTI L. Triatominos de México y su infección natural por *T. cruzi*. Chagas Med (Mex). 1940; 20: 95.

LARANJA FS, DIAS E, NOBREGA G. (1948) O electrocardiograma na cardiopatia cronica da doença de Chagas. II Congreso Interamericano de Cardiología. Tomo III. México, D. F.: Edición del Instituto Nacional de Cardiología.p. 1470-7.

BIAGI FF. (1956) Enfermedad de Chagas en Tutuapan, Estado de México. Prensa Med Mex. 21: 463-5.

BIAGI FF, TAY J, GUZMÁN-GARCÍA C, FONG PF.(1964) Tetitlán, Guerrero, foco endémico de enfermedad de Chagas en México. Rev Fac Med (Mex). 6: 625-31.

BIAGI F, GÓMEZ-ARCE E.(1965) Los dos primeros casos de miocardiopatía chagásica, comprobados en México. Arch Inst Cardiol Mex. 35: 611-23.

BIAGI FF, TAY J, MARTINEZ MR.(1964) La reacción de inmunofluorescencia en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Bol Oficina Sanit Panam (USA). 57: 237-40.

BIAGI F, GÓMEZ-ARCE E.(1965). Los dos primeros casos de miocardiopatía chagásica, comprobados en México. Arch Inst Cardiol Mex. 35: 611-23.

BIAGI FF, TAY J, MARTINEZ MR.(1964) La reacción de inmunofluorescencia en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Bol Oficina Sanit Panam (USA). 57: 237-40.

TAY J, GUTIÉRREZ QM, SALAZAR-SCHETTINO PM. (1973).Estudios sobre seis cepas mexicanas de *T. cruzi*. Rev Invest Salud Publica (Mex).; 33: 67-76.

TAY J, GOYCOLEA O, BIAGI FF. Observaciones sobre enfermedad de Chagas en la Mixteca Baja, nuevo caso humano en la República Mexicana. Bol Oficina Sanit Panam (USA). 1961; 51: 322-7.

TAY J, NAVARRETE CE, COROMINAS ER, BIAGI FF. (1966) La enfermedad de Chagas en el municipio de Tuxpan estado de Michoacán, México. Rev Fac Med (Mex). 8: 263-70.

TAY J.(1969) Localidades de triatóminos mexicanos y su infección natural por *Trypanosoma cruzi*. Medicina. 49: 35-41.

TAY J.(1969) Localidades de triatóminos mexicanos y su infección natural por *Trypanosoma cruzi*. Medicina. 49: 35-41.

ZARATE LG, ZARATE CR, TEMPELIS CH, GOLDSMITH RS. (1980)The biology and behavior of *Triatoma barberi* (Hemiptera: *Reduviidae*) in Mexico. I. Blood meal sources and infection with *Trypanosoma cruzi*. J Med Entomol. 17: 103-6.

TAY J, GUTIÉRREZ QM, SALAZAR-SCHETTINO PM. (1973) Estudios sobre seis cepas mexicanas de *T. cruzi*. Rev Invest Salud Publica (Mex). 33: 67-76.

VELASCO, C.O.; RIVAS, S.B. (2008) Apuntes para la enfermedad de Chagas en México (Notes for the history of Chagas disease in Mexico). Med Hosp Infant Mex.; 65, enero-febrero.

MAZZOTTI L.(1940) Triatomíneos de México y su infección natural por *T. cruzi*. Chagas Med (Mex). 20: 95.

BIAGI FF, PÉREZ TR, GOYCOLEA O, TAY J. (1959) Estado actual de nuestros conocimientos sobre la enfermedad de Chagas en México II. Infección en vertebrados. An Congreso Internacional Sobre doença do Chagas. Rio de Janeiro. p. 383-402.

Tay J, Salazar-Schettino PM, Velasco M, Haro I, de García YY, Gutiérrez QM.(1979) Estudio epidemiológico de la enfermedad de Chagas en el estado de Jalisco. Salud Publica Mex.21: 145-9.

Zarate LG, Zarate CR, Tempelis CH, Goldsmith RS.(1980) The biology and behavior of *Triatoma barberi* (Hemiptera: Reduviidae) in Mexico. I. Blood meal sources and infection with *Trypanosoma cruzi*. J Med Entomol.17: 103-6.

GOMEZ, G.J.V.; MUÑOZ, J.S.; ORTIZ E.R.M.(1999). Prevalencia de la seropositividad de *T.cruzi* en Hidalgo: algunas características de las viviendas y la convivencia de animales domésticos. Bol Med Ser. De Sal de Hidalgo en coordinación con los servicios de investigación de la Universidad Autónoma del estado de Hidalgo.

BILATE AM.; CUNHA NETO. E.(2008) Chagas disease cardiomyopathy: current concepts of and old disease Rev Inst Med Trop Sao Paulo. Mar-Apr;50 (2):67-64

N.M.MATSUDA; S.M.MILLER; P.R. BARBOSA. (2009) The chronic gastrointestinal manifestation of chagas disease. Clinics (Sao Paulo) Dec.64(12): 1219-1224

A.M. BATISTA; C. AGUIAR; E.A. ALMEIDA; ETAL. (2010) Evidence of Chagas disease in seronegative Brazilian patients with megaesophagus. International Journal of Infectious Disease .14(2010) e974-e977.

FELIPE GUHL (2009) Enfermedad de Chagas: Realidad y perspectivas. REv Biomed .20: 228-234.

S.A. KJOS; K. F. SNOWDEN; J.K. OLSON (2009) Biogeography and Trypanosoma cruzi infection prevalence of Chagas Disease Vectors in Texas, USA. Vector-Borne and Zoonotic Disease. Volume 9. Number 1: 41-48.

RAVINOVICH, JORGE EDUARDO (2008) Clima Microclima y domicialicion en triatominos. Distribucion geografica y condicionantes climaticas. Journal of Medical Entomology (Impact Factor: 1.82). 07/2011; 48(4):775-87. Universidad Nacional de la Plata, Centro de estudios Parasitologicos y de Vectores.

H.J.CARRASCO; ETAL (2012) Geographical Distribution of Trypanosoma cruzi genotypes in Venezuela. PLOS Neglected Tropical Diseases. June 2012. Volume 6. Issue 6 .e 1707.

P.C.M., PEREIRA; E.C. NAVARRO(2013) Challenges and perspectives of Chagas disease: a review. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases , 19:34

M.A. DE LIMA; M.C. SANTOS; ETAL (2008) Interstitial cells of Cajal in Chagasic megaesophagus. Annals of Diagnostic Pathology. 12(2008): 271-274.

F. GUHL; J.D. RAMIREZ; L.M.RENDON; F.ROSAS; J.A.MARIN; C.A.MORILLO (2010) Chagas Cardiomyopathy manifestations, and Trypanosoma cruzi genotypes circulating in chronic Chagasic patients. PLOS Neglected Tropical Diseases. November 2010. Volumen 4. Issue 11. e899.

BARAJAS S., I.G. (2007). Perspectivas de la terapia antichagasica. Tesis. Mtra. Cien. Colima, Univ. Colima, Mexico. Fac. Med. 177 p.

WHO (1991) Control of chagas` disease-Report of a WHO expert committee. WHO Technical report series 811- Geneva.

VIDAL, A. V.; IBAÑEZ, B.S.; MARTINEZ, C.C.. (2000). Infeccion de chinches triatominas con Trypanosoma cruzi , asociadas a la vivienda en Mexico. Rev. Med. Sal. Pub. De Mexico..42(6).496-503.

WHO (2002) Control of chagas` disease-Report of a WHO expert committee. WHO Technical report series 811- Geneva.

RODRIGUEZ D.,(2005). Enfermedades transmitidas por vector en México. Rev Fac Med.UNAM.Mèx.2005.45(3).137-141.

GOMEZ, G.J.V., MUÑOZ, J.S., ORTIZ, E.R.S.(2006) Prevalencia de seropositividad a t. cruzi en Hidalgo: algunas características de las viviendas y la convivencia con animales domésticos. Rev Fac Med.UNAM.Mèx.2006. 49(5).

CARDONNI, R.L., ANTUNEZ, M.I.,ABRAMI, A.A.,(1999). Respuesta TH1 en la infección experimental con T.cruzi. Med. Buenos Aires, Argentina.59 (sup. II) 84-90.

DUMONTEIL, E. (1999)Update on chagas disease in México. Sal. Pub. Mex. México. 41, 322-327.

RAFAEL-OSWALDO, ANGEL, B., CHINCHILLA C.,M.,GUERRERO,O.M.,(2007) Cinetica de crecimiento *in vitro* de dos cepas de Trypanosoma cruzi (*Kinetoplastidae; Tripanosomatidae*) en células miocárdicas de roedores con diferente susceptibilidad. Rev.Biol.Trop.Costa Rica. 55 (1) 121-126.

PALAU, M.T. (2000) Relación hospedero parasito Trypanosma cruzi MVZ-CORDOBA; 5:(1), 33-37

Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2002, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vectores.

PAZ, M.; SALAZAR, S.; ARTEAGA, I.H.; CABRERA, B.M.(2005) Tres especies de triatominos y su importancia como vectores de Trypanosoma cruzi en México. MEDICINA (Buenos Aires); 65: 63-69

NAQUIRA, V.C.; HUAPAYA, P.; ESPINOSA, B.,Y.;VEGA, C., S.:(2001) Enfermedad de Chagas; modulo técnico dirigido a médicos y otros profesionales de la salud. Mnisterio de salud, lima, Peru.

RIVERA I. M.; MORENO A. E.; GONZALEZ, N.; LUGO, Y. A.; (2000) Caracterización de aislados de Trypanosoma cruzi del occidente de Venezuela.REV. Eco lat. 7:(3):(1) : 1-10

ARROJO, L. ; TANTALEAN, M. ; MIRANDA, E. ; (2000) Aspectos del comportamiento biológico de la cepa TCI de Trypanosoma Cruzi. REV. Per. Par. (15): 9- 14

A. ZAIDENBERG, H. A. TOURNIER, G. R. SCHINELLA, H. O. BUSCHIAZZO (2000): *Trypanosoma cruzi*: obtención de amastigotes extracelulares y estudio de su crecimiento a diferentes condiciones de cultivo. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 42: 21-26

ZUÑIGA, C.; BINDER, N.; PALAU, M.T.; LARENAS, J.; VERGARA U. (2012) Edad del hospedero en la evolución en la infección experimental con *Trypanosoma cruzi* en un modelo murino. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol*; 71 (1): 23-33

A.M.B., BILATE; E. C., NETO (2008) Chagas disease cardiomyopathy: current concepts of an old disease. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 50(2):67-74, March-April

I., VALERIO; M. CHINCHILLA; R., SANCHEZ (2009) *Triatoma dispar*, nuevo transmisor de *T. cruzi* en Costa Rica: su implicación en la epidemiología de la enfermedad de Chagas. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol*; 68(2): 137-141

INDRE-DGE-SECRETARÍA DE SALUD (2014). "lineamientos para la vigilancia de enfermedad de Chagas por laboratorio" versión NO. 01. INDRE.

L.O., ANDRADE; L.M.C. GALVAO; M.N.SL., MIRELLES; ETAL. (2010) Differential tissue tropism of *Trypanosoma cruzi* strains: an in vitro study. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 105(6): 834-837, September

