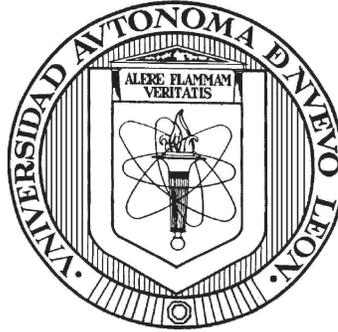


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**SEROPREVALENCIA Y VECTORES DE LA ENFERMEDAD
DE CHAGAS EN LA REGIÓN CARBONÍFERA DE
COAHUILA, MÉXICO**

Por

JOSÉ GERARDO MARTÍNEZ TOVAR

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con acentuación en
ENTOMOLOGÍA MÉDICA**

Octubre, 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Tesis que presenta JOSÉ GERARDO MARTÍNEZ TOVAR como requisito parcial para obtener el grado de DOCTORADO EN CIENCIAS con acentuación en ENTOMOLOGÍA MÉDICA.

SEROPREVALENCIA Y VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA
REGIÓN CARBONÍFERA DE COAHUILA, MÉXICO.

DIRECTOR: Dr. Eduardo Rebollar Téllez,

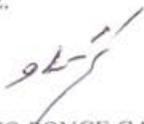
DISCIPLINA Y CAMPO DE INVESTIGACIÓN: Entomología médica.

LUGAR DE TRABAJO: Departamento de Medicina Interna, Hospital General de Zona No 24 del IMSS en Nueva Rosita Coahuila y el Laboratorio de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL, San Nicolás de los Garza N.L.

Nombres y Firmas del Comité de Tesis



DR. EDUARDO A. REBOLLAR TÉLLEZ
PRESIDENTE.



DR. GUSTAVO PONCE GARCÍA.
SECRETARIO.



DR. FELICIANO SEGOVIA SALINAS
VOCAL



DR. ROBERTO MERCADO HERNÁNDEZ
VOCAL



DR. RAÚL TORRES ZAPATA
VOCAL

Nombre y Firma del Alumno.



José Gerardo Martínez Tovar

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi esposa Iztaccihuatl Villarreal Segura, Ingeniero en Sistemas, Profesora de Arte, Maestro en Ciencias de la Educación y Musa Inmortal por su incondicional apoyo a todos mis proyectos sacrificando incluso los propios. Con ella nunca más hubo oscuridad en mi vida. Algunos creen en la luz al final del túnel como señal guía en el camino correcto hacia la otra existencia. Pero esa luz existe en esta vida. Son las personas que iluminan nuestro camino y nos alejan de las tinieblas. El brillo que se desprende de Izta me ha guiado como faro en la noche para llegar seguro a puerto. No hay dudas, no hay miedos, solo certeza y serenidad. Tengo con ella una deuda eterna de gratitud pero sobre todo de amor. Iztaccihuatl, mi Musa.

AGRADECIMIENTOS

A mi Director de tesis el Dr. Eduardo A. Rebollar Téllez por su incondicional apoyo y excelente guía en la realización de mi doctorado. Conocerlo y trabajar con Usted, cambió mi vida para siempre.

Al Dr. Ildefonso Fernández Salas, Jefe del Laboratorio de Entomología Médica, por haber tenido absoluta confianza en mi persona y mi trabajo. Ha sido un verdadero honor trabajar con Usted.

A todos mis maestros y compañeros del Laboratorio de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL que siempre estuvieron atentos y al pendiente de nuestro trabajo y me ayudaron en el difícil camino desde el ingreso hasta la culminación de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por su apoyo con la beca No. 392195,

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO	PÁGINA
Comité de Tesis	2
Dedicatoria	3
Agradecimientos	4
Índice General	5
Índice de Tablas y Figuras	6
Resumen	7
Introducción	8
Definición del Problema y Justificación	10
Objetivo General	10
Objetivos Particulares	10
Hipótesis	11
Antecedentes	12
- Consideraciones Epidemiológicas	13
- Consideraciones Clínicas	19
- Cardiomiopatía Chagásica	26
- Laboratorio de la Enfermedad de Chagas	29
- Tratamiento de la Enfermedad de Chagas	44
- Características Morfológicas de los Triatominos	51
- Consideraciones del Vector	59
- Consideraciones del Parásito <i>Trypanosoma cruzi</i>	65
Metodología	68
- Estudio Clínico	68
- Estudio de Vectores	70
Resultados	73
- Estudio de Seroprevalencia	73
- Búsqueda de Triatominos	82
Discusión	86
Conclusiones	97
Bibliografía	98
Anexos	111
Anexo 1 Carta de Consentimiento Informado	112
Anexo 2 Artículo de Acta Zoológica Mexicana.	113
Anexo 3 Artículo de la Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo	121
Anexo 4 Carta de aceptación y manuscrito de la revista International Journal of Case Reports and Images	128

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Fig. 1 Distribución de los casos de Chagas en México	16
Fig. 2 Incidencia de casos de Chagas por estados en México	17
Tabla 1. Características Clínicas de la Enfermedad de Chagas	22
Fig. 3 Algoritmo para los pacientes sospechosos de Chagas agudo	24
Fig. 4 Algoritmo para pacientes sospechosos de Chagas crónico	25
Fig. 5 Algoritmo para infección congénita con <i>Trypanosoma cruzi</i>	26
Tabla 2. Comparativa sensibilidad y especificidad de laboratorio	39
Tabla 3. Utilidad de las técnicas diagnósticas	43
Tabla 4. Comparativo de pruebas serológicas	44
Tabla 5. Impacto sobre el tratamiento etiológico	48
Fig. 6 Vista dorsal de la cabeza de triatomo	53
Fig. 7 Vista lateral de la cabeza de triatomo	53
Fig. 8 Vista dorsal del protórax y escutelo	54
Fig. 9 Vista ventral de la cabeza y tórax	55
Fig. 10 Vista lateral de la cabeza, protórax y escutelo	55
Fig. 11 Ala posterior y ala anterior	56
Fig. 12 Pata anterior	56
Fig. 13 Vista dorsal del extremo posterior del macho	57
Fig. 14 Vista dorsal del extremo posterior de la hembra	57
Tabla 6. Distribución de las especies de triatominos en México	63
Tabla 7. Porcentaje de infección natural de triatominos	64
Fig. 15 Esquema del ciclo de vida del <i>Trypanosoma cruzi</i>	65
Fig. 16 Ubicación de la región carbonífera de Coahuila	68
Fig. 17 Trampa para triatominos con malla de alambre y tela adhesiva de doble lado.	71
Tabla 8. Resultados de seroprevalencia en la región carbonífera de Coahuila	74
Tabla 9. Características principales de los casos con resultados positivos.	75
Fig. 18 Ubicación geográfica de los casos de Chagas en la región carbonífera de Coahuila	76
Fig. 19 Electrocardiogramas y radiografías de tórax de casos de cardiopatía chagásica.	81
Fig. 20 Picaduras de triatominos y <i>Triatoma gerstaeckeri</i> .	82
Fig. 21 <i>Triatoma gerstaeckeri</i> y <i>Triatoma rubida</i>	83
Fig. 22 <i>Triatoma gerstaeckeri</i>	84
Fig. 23 <i>Triatoma rubida</i>	85

RESUMEN

La enfermedad de Chagas es una de las enfermedades parasitarias más frecuentes en el mundo superada solo por la malaria y la esquistosomiasis, además de ser la causa más común de cardiomiopatía. Esta enfermedad no se ha identificado más que en forma aislada en el norte de México y su importancia epidemiológica así como la dinámica de transmisión vectorial en la región carbonífera de Coahuila aún es desconocida. Se determinaron anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en todos los donadores de sangre sanos voluntarios y a todos los casos con diagnósticos de cardiomiopatía, insuficiencia cardíaca o arritmias utilizando las pruebas de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) como prueba de tamizaje y la de hemaglutinación indirecta como confirmación. A todos los casos positivos se les realizó estudio epidemiológico, radiografía de tórax y electrocardiograma así como búsqueda de vectores triatominos dentro del domicilio y alrededor de este. Se encontraron tres niveles de seroprevalencia, en donadores asintomáticos 0.31%, en pacientes con insuficiencia cardíaca y arritmias 1.25% y en aquellos con diagnóstico específico de cardiomiopatía crónica 21.42%. La búsqueda de triatominos en el domicilio y peridomicilio de los individuos que presentaron reacción positiva para anticuerpos contra *T. cruzi* fue negativa para su presencia por lo que se extendió su pesquisa al área rural encontrando en los municipios coahuilenses de Ocampo y Muzquiz a los vectores *Triatoma gerstaeckeri* y *Triatoma rubida*. Este último constituyendo un primer reporte estatal. Un ejemplar adicional de *Triatoma rubida* fue encontrado en el municipio de Cuatro Ciénegas, Coahuila. Sin embargo el examen en fresco del contenido intestinal de los triatominos encontrados fue negativo para *Trypanosoma cruzi*. Se concluye que en la región carbonífera de Coahuila, México existe transmisión de la enfermedad de Chagas manifestada por seroprevalencia de los grupos estudiados y la presencia de vectores.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una enfermedad latinoamericana, común en el Cono Sur, donde constituye uno de los problemas prioritarios de salud pública. El agente etiológico es el *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909, *Schizotrypanum cruzi*), un hemoprotozoario flagelado. Su ciclo vital se presenta en dos huéspedes: el vector, un insecto de la familia Reduviidae, hematófago (en México la "chinche hocicona") que alberga en su intestino la fase flagelada metacíclica, y el vertebrado, que incluye al humano, donde el parásito es intracelular en la fase de amastigote (sin flagelo). Además del humano, al que *T. cruzi* le produce con frecuencia enfermedad grave, muchos animales silvestres y domésticos actúan como reservorios. La transmisión de esta enfermedad se da habitualmente por la picadura de los triatomíneos vectores y la ulterior contaminación de piel y mucosas con las deyecciones del insecto o por la hemotransfusión proveniente de individuos infectados con *T. cruzi*, la cual es la segunda forma de adquirir la enfermedad de Chagas. (Ponce, 1999). Otros mecanismos de transmisión menos comunes lo constituyen la vía trasplacentaria (Bern, 2009; Muñoz, 2007), el trasplante de órganos (Kun, 2009; Riarte, 1999), la ingesta de leche materna (Ferreira, 2003), accidentes de laboratorio (Herwaldt, 2001; Kinoshita-Yanaga, 2009), el desollamiento de animales silvestres (Hanford, 2007) y la ingestión de carne parasitada semicruda o de bebidas contaminadas con material fecal de triatomíneos (Toso, 2011).

Prácticamente no hay diagnóstico de enfermedad de Chagas en Coahuila y en la Región Carbonífera en particular prácticamente es inexistente. Datos como la prevalencia, incidencia, tipo de transmisión y tipos de vectores en la región han sido referidos solo en forma aislada (Mendez-Galvan, 2006; Carabarin-Lima, 2013). La Encuesta Nacional de Seroepidemiología (ENSE) mostró en 1992 que la tripanosomiasis tenían una prevalencia de 1.6%, 0.5% y 0.2% para las diferentes diluciones aplicadas en el análisis en el país. Esta encuesta permitió ratificar los focos de transmisión ya conocidos e identificar algunos nuevos en los estados de Hidalgo, Chiapas y Veracruz, así como detectar trabajadores migratorios infectados en las ciudades fronterizas de Baja California, situación que indica un riesgo para la transmisión por hemotransfusión en zonas aparentemente libres de la infección. El 74.5 por ciento de los seropositivos fueron menores de 39 años. (Velasco-

Castrejón, 1992). Asimismo, el haber detectado infección en niños menores de cuatro años sugiere que en algunos focos la transmisión natural aún es importante. La seroprevalencia, aunque mayor en los estratos bajos, también se detectó en individuos pertenecientes al nivel socioeconómico elevado, particularmente en aquéllos que poseen casas de fin de semana en regiones tropicales. Para el estado de Coahuila, los porcentajes de positividad variaron de 0.1% a 0.6%, muy por debajo de los estados con mayor frecuencia como Chiapas y Oaxaca con 5.0% y 4.5% y de la media nacional ubicada en 1.6%.

Este estudio se realizó para determinar la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en la Región Carbonífera del estado de Coahuila en cualquiera de sus formas clínicas y conocer las variables epidemiológicas relacionadas. En particular cual es la especie del vector, su grado de infección y de colonización en la comunidad.

DEFINICION DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

No existe certeza de la frecuencia de la Enfermedad de Chagas en general y de la miocarditis chagásica en particular en la Región Carbonífera del estado de Coahuila. Este estudio permite conocer ambos y además establecerá el tipo de vector predominante en el medio y el grado de colonización. Como una de las enfermedades desatendidas, los resultados de este estudio proporcionan las condiciones de establecer un programa permanente de vigilancia no solo en bancos de sangre sino también en mujeres embarazadas y/o en pacientes con cardiopatía, lo cual permitirá iniciar tratamientos encaminados a la solución clínica tanto de los casos agudos, como los crónicos y perinatales.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en la región carbonífera del norte de Coahuila utilizando una población de donadores de sangre asintomáticos y pacientes con insuficiencia cardiaca, arritmias y cardiomiopatía y las especies de vectores relacionadas a ellos.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Establecer la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en donadores de sangre asintomáticos.
2. Establecer la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en pacientes con insuficiencia cardiaca, arritmias y cardiomiopatías.
3. Determinar cuáles son las especies de vectores predominantes en el medio, así como su grado de infección.

HIPÓTESIS

En la región carbonífera de Coahuila hay seropositividad para *Trypanosoma cruzi*, casos clínicos, especies vectores y esto, en su conjunto, representa la existencia local de la Enfermedad de Chagas.

ANTECEDENTES

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una enfermedad infecciosa causada por un protozoo y la cual es transmitida por artrópodos y endémica en el continente americano. Es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* y transmitida a los humanos por la llamada “chinche hocicona” (orden: Hemíptera, familia: Reduviidae, subfamilia: Triatominae). Estos tripanosomas transmiten varias cepas zoonóticas de *T. cruzi* entre muchos mamíferos que actúan como huésped reservorio.

La forma más común de transmisión al ser humano de la enfermedad de Chagas es mediante la inoculación del *T. cruzi* a través de la picadura de un triatomo. El triatomo defeca sus heces infectadas con el *T. cruzi* cerca del sitio de la picadura y el rascado inocula al protozoo en el huésped humano (Velasco-Castrejón, 1992). La enfermedad de Chagas también puede transmitirse congénitamente al feto de una madre que padezca la enfermedad, por ingestión oral del parásito, por transfusiones sanguíneas y por trasplantes de órganos (Díaz, 2008).

Una infección indeterminada o crónica puede reactivarse por inmunosupresión, particularmente por infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), por el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), y por embarazo (Díaz, 2008). La forma aguda inicial de la infección puede simular un cuadro clínico tipo influenza con fiebre, mialgias, artralgias y ataque al estado general, a veces auto limitado y otras veces conduce a un estado crónico de enfermedades cardíacas o de megasíndromes intestinales, seguido de un prolongado e indefinido estado de infección subclínica.

En el Reporte Mundial de Salud de 2003, la Organización Mundial de la Salud (OMS) refirió que la enfermedad de Chagas es la causa de un mayor número de muertes que cualquier otra enfermedad parasitaria en Latinoamérica y que el *T. cruzi* es el responsable de la tercera causa de parasitosis en el mundo, solo superada por la malaria y la esquistosomiasis (Díaz, 2008). La OMS estima que puede haber 18 millones de personas infectadas en la actualidad y hasta 100 millones en riesgo de infección en el continente americano.

Dado que la colonización de las casas por triatominos es un factor clave en la transmisión del *T. cruzi*, la enfermedad de Chagas está asociada directamente con las condiciones socioeconómicas, particularmente con la pobreza y la falta de higiene (Dumonteil, 1999).

CONSIDERACIONES EPIDEMIOLÓGICAS:

Desde el descubrimiento de *Triatoma dimidiata* en 1928 por Carlos Hoffman, en Veracruz, y los primeros reportes de Luis Mazzotti, en 1936 y 1940, del vector infectado y de infección aguda en el humano, hasta la fecha han transcurrido varias décadas en que la importancia de la enfermedad de Chagas en México no tuvo su justa valoración. El país tiene las características geográficas, climáticas y socioculturales, y un gran número de transmisores existentes como para haberse considerado su importancia desde el hallazgo de los primeros triatominos naturalmente infectados con *Trypanosoma cruzi* y, desde luego, con los reportes de casos humanos que no han dejado de publicarse en la literatura correspondiente (Segura, 2005) (Hoffmann, 1928) (Mazzotti, 1936; 1940).

La enfermedad de Chagas constituye una de las mayores endemias en toda América Central y del Sur, así como en México. Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, existen 16 a 18 millones de personas infectadas por *T. cruzi* y aproximadamente 50.000 pacientes mueren cada año víctimas de la enfermedad de Chagas. Debido a su larga fase inactiva, muchas personas no saben que llevan la enfermedad.

La transfusión de sangre es la segunda causa de transmisión de la enfermedad en países endémicos, y esto se debe a la gran progresión de la infección al estado crónico asintomático, a su prevalencia elevada en la población de donantes de sangre y la viabilidad del parásito en las condiciones de almacenamiento de la sangre. El *T. cruzi* puede sobrevivir en plaquetas almacenadas a temperatura ambiente, en sangre entera o glóbulos

rojos a 4°C por 21 días y en plasma y crioprecipitados. En los banco de sangre de Argentina, se encontró una prevalencia de anticuerpos contra el *T. cruzi* de 2.4% a 4.76% (Czernik, 2006).

Durante el embarazo las mujeres infectadas en fase aguda ó crónica pueden transmitir *T. cruzi* a través de la placenta. La infección fetal se produce como consecuencia de la presencia de parasitemia materna. La transmisión congénita de *T. cruzi* oscila entre 0.7% y el 10%. Luego de la infección el feto puede sufrir alteraciones en su viabilidad y/o en su crecimiento, de acuerdo al momento en que suceda la parasitación. La enfermedad de Chagas congénita puede producir aborto espontáneo³⁵, nacimiento prematuro, retardo de crecimiento y mortinatos (Contreras, 1999).

En 1967 se describieron en el estado de Jalisco, México las primeras evidencias de la enfermedad de Chagas en cinco niños con fiebre en los que se demostró la presencia de *T. cruzi*. En 1970 y 1974 se notificaron tres casos más. Un hecho relevante fue la ocurrencia en 1986 de nueve casos en etapa aguda de la enfermedad, según el informe del servicio de medicina interna del Hospital Civil de Guadalajara, en donde se reconoció el antecedente de múltiples picaduras por triatomas en los miembros de una familia tras su estancia durante una semana en una casa abandonada. Se aislaron y caracterizaron cepas de tres de estos pacientes. En el mismo año se publicaron los decesos de dos niños hermanos que sufrieron múltiples picaduras. Los pacientes presentaron cuadros febriles y murieron por una cardiopatía chagásica aguda. Se aisló el *T. cruzi* por punción cardiaca del ventrículo (Lozano-Kasten, 2008).

En 1992 se publicaron los resultados del estudio denominado “Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México”. Esta se realizó debido a la escasa información que se tenía de la tripanosomiasis en nuestro país. Se encontró que la enfermedad de Chagas tenía una distribución irregular en todo el territorio nacional con una prevalencia de 1.6, 0.5 y 0.2 para las diferentes diluciones aplicadas en el análisis. La encuesta permitió ratificar los focos de transmisión ya conocidos e identificar algunos nuevos en los estados de Hidalgo, Chiapas y Veracruz, así como detectar trabajadores migratorios infectados en las

ciudades fronterizas de Baja California, situación que indicó un riesgo para la transmisión por hemotransfusión en zonas aparentemente libres de la infección (Guzmán-Bracho, 1998). Se encontró que la seroprevalencia era mayor en individuos de estratos socioeconómicos bajos o en aquellos de estratos socioeconómicos más elevados que poseían casas de fin de semana en regiones tropicales. El resultado para el estado de Coahuila fue que de una muestra de 1976 personas, el 0.6% eran seropositivos a la dilución más baja 1:8 y a la siguiente 1:16, solo el 0.1% dieron positividad. (Velasco-Castrejón, 1992).

Al regionalizar la seroprevalencia observada por Velasco-Castrejón y colaboradores se hace notar que los estados del sur y sureste del país, con menos desarrollo económico, bajos niveles de escolaridad y un mayor número de asentamientos rurales, fueron las entidades con rangos de seroprevalencia altos.

Esto coincide con el mapa de distribución geográfica de la enfermedad de Chagas en México en el período 1928 - 2004 (Figura 1) publicado por el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades de la Secretaría de Salud:

Casos de Enfermedad de Chagas México 1928 - 2004

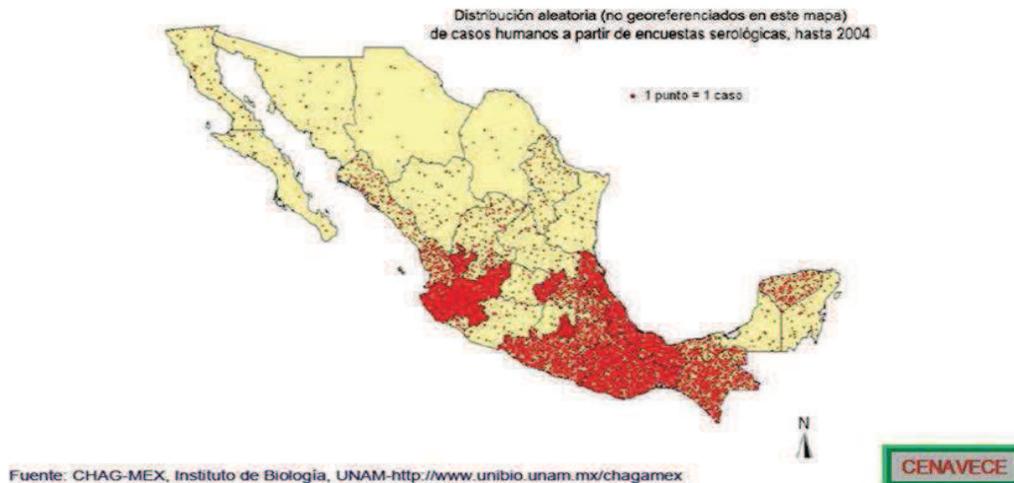


Figura 1. Los estados del norte del país son los menos afectados y de estos Chihuahua y Coahuila son los que menos casos han reportado. (CHAGMEX, Instituto de Biología, UNAM <http://www.unibio.unam.mx/chagamex>)

El mencionado estudio de seroprevalencia en México reveló también respecto al tipo de asentamiento, el rural prevaleció en todos los grupos de seropositivos, particularmente a las diluciones mayores. Es importante el hecho de que existen dos veces más casos confirmados en áreas rurales que urbanas a la dilución 1:32. Sin embargo, la prevalencia de seropositivos a títulos de 1:8 fue semejante, lo que puede explicarse por la migración del campo a la ciudad. En cuanto a la edad, se encontró que el grupo de 20 a 50 años fue el predominante. (Velasco-Castrejón, 1992).

El dato más reciente publicado por el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades es que la Enfermedad de Chagas tiene una incidencia de 0.64 por 100 mil habitantes en México lo que representa 69000 nuevos casos anuales y una mortalidad no menor de 25000 por año y es más alta en los estados de Yucatán, Quintana Roo y Oaxaca (Figura 2). (www.dgepi.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html).



Figura 2. Distribución de la incidencia de la enfermedad de Chagas por estados en México (CHAGMEX, Instituto de Biología, UNAM <http://www.unibio.unam.mx/chagamex>).

En relación con el tipo de la vivienda se encontró que predominaron las de mala calidad y en particular aquéllas que poseen una de las siguientes características o todas juntas: techo de palma u otro material similar, piso de tierra, paredes de bajareque, adobe o madera. Los datos presentan un riesgo de infección confirmatoria tres veces mayor entre los habitantes de viviendas de mala calidad respecto de los que habitan viviendas adecuadas. (Velasco-Castrejón, 1992).

Para el caso de Yucatán, la primera evidencia de enfermedad de Chagas apareció en 1940, pero no fue sino hasta 1972 en que se llevó a cabo la primera investigación relacionada con esta. En ese estudio se demostró una prevalencia de 11.2% y se encontraron 12 casos clínicos. Ese mismo estudio mostró una prevalencia de infección por *T. cruzi* de los insectos vectores (triatominos) de un 17.3%. Para 1985, la seroprevalencia se había incrementado a un 18%. En 1990, dos estudios llevados a cabo en ese estado sobre donadores de sangre, revelaron la posibilidad de que la transfusión sanguínea era un riesgo de infección (Zavala-Velázquez, 2003).

Se ha reportado enfermedad de Chagas en áreas no endémicas de América y específicamente en los Estados Unidos, donde la mayoría de los casos son importados de Latino América, sin embargo se han presentado seis casos autóctonos. El primer caso autóctono de enfermedad de Chagas en los Estados Unidos fue reportado en un niño en Corpus Christi, Texas en 1955 (Woody, 1955). El segundo caso autóctono se reportó en una mujer de 56 años en California en 1984 (Schiffler, 1984). Dos casos más de niños con enfermedad de Chagas se reportaron en Texas en 1996 utilizando una reacción en cadena de polimerasa (PCR) como estudio post mortem para confirmar el diagnóstico (Ochs, 1996). El quinto caso de enfermedad de Chagas en los Estados Unidos fue reportado en Tennessee, una vez más en un niño y usando PCR para confirmar el diagnóstico (Herwaldt, 2000). En abril de 2007 se reportó el sexto caso autóctono de infección con *T. cruzi* en una mujer de 74 años, residente en un área boscosa de Nueva Orleans, Louisiana. Posteriormente a la fumigación peridomiciliaria de este caso se encontraron 20 ejemplares muertos adultos y 1 vivo en la segunda etapa de ninfa de *T. sanguisuga* en una madriguera de armadillo a 50 metros del domicilio de la paciente (Dorn, 2007). El 56% de los triatominos recolectados fueron positivos para *T. cruzi* por PCR. Se observaron tripanosomas consistentes con *T. cruzi* en los hemocultivos realizados en el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Atlanta junto con una amplificación positiva del c RNA específico para *T. cruzi* para esta paciente. (Diaz, 2008).

También en los Estados Unidos en el 2003 se reportaron casos de perros infectados con *T. cruzi* y muertos por cardiomiopatía aguda en la localidad de San Benito en el estado de Texas cerca de Brownsville en la frontera mexicana con Matamoros Tamaulipas. La inspección de las viviendas reveló la presencia de *Triatoma gerstaeckeri*. El examen de 31 triatominos recolectados mostró que 21 contenían el *T. cruzi* en su intestino. La importancia de este estudio es que *T. gerstaeckeri* se le considera una especie selvática y estas observaciones demostraron la existencia de un ciclo de transmisión doméstica para un insecto que es típicamente considerado un vector enzoótico. Si esta observación representa un caso aislado o está ocurriendo con frecuencia no se conoce con certeza, y si esto indica un problema emergente de salud pública aún está por determinarse. (Bear, 2003).

En el estudio del grado de infestación, se utilizan índices para establecer la magnitud del problema y estandarización de datos. Los siguientes son los índices utilizados en epidemiología: (WHO, 1991 citado en Damborsky, 2001):

- Índice de infestación (II) = (No de casas infestadas/No de casas examinadas) x 100.
- Índice de infección natural (IIN) = (No de triatomíneos infectados por *T. cruzi*/No de triatomíneos examinados) x 100.
- Índice de dispersión (IDD) = (No de localidades infestadas / No de localidades examinadas) x 100.
- Índice de colonización (IC) = (No de viviendas con ninfas/No de casas infestadas) x 100.
- Índice de densidad (ID) = (No de triatomíneos capturados/No de casas infestadas) x 100.

CONSIDERACIONES CLÍNICAS:

La enfermedad de Chagas solo se reconoce el 1% al 2% de todas las personas que contraen la infección. Es una enfermedad crónica y causa una severa discapacidad. En el ser humano existen tres etapas.

1. La etapa aguda. Aparece poco después de la infección y está caracterizada por una parasitemia elevada y una respuesta inflamatoria generalizada (fiebre, cefalea, edema periférico, signo de Romaña) de intensidad variable. La mayoría de los pacientes no recuerdan la fase aguda de la enfermedad asociándolo con algún tipo común de enfermedad febril.
2. Etapa intermedia o indeterminada asintomática. La infección aguda es seguida por un estado intermedio asintomático durante 5 a 40 años, durante los cuales, el sistema inmunológico parece capaz de reducir el número de tripanosomas circulantes por debajo de niveles microscópicamente detectables.

3. Fase crónica. La fase crónica de la enfermedad de Chagas se desarrolla en un 30% a 40% de los pacientes infectados y corresponde a la destrucción lenta de las células infectadas por la forma amastigote del parásito (Coura, 2002).

Los órganos blanco primarios son el corazón y, con menor frecuencia, el intestino y el sistema nervioso. Los signos clínicos de la miocarditis aparecen en pacientes de 30 a 50 años de edad. Algunas de las alteraciones cardiacas tales como arritmias o bloqueos aurículo-ventriculares se observan en los pacientes con frecuencia pero ninguna es totalmente específica de la cardiomiopatía chagásica.

Se han implicado reacciones autoinmunes en la progresión de la enfermedad debido a la presencia de antígenos con reactividad cruzada del tejido cardiaco y el *T. cruzi* pero su relevancia en el desarrollo patológico aún es controversial. La fase crónica de la enfermedad de Chagas es altamente incapacitante y puede producir insuficiencia cardiaca y muerte (Dumonteil, 1999).

La evolución de la enfermedad de Chagas es insidiosa. Excepto por un pequeño porcentaje de personas en las que se desarrolla una forma fulminante de miocarditis o de meningo encefalitis, todos los pacientes sobreviven la etapa aguda de la infección. Una vigorosa respuesta inmune reduce el número de parásitos a niveles casi indetectables, lo que permanece de este modo a menos que la infección se reactive por el síndrome de inmunodeficiencia adquirida o por tratamiento inmunosupresor. Por razones aún no comprendidas, solo del 10% al 30% de las personas infectadas tienen manifestaciones clínicas de enfermedad de Chagas crónica. El corazón y el tracto gastrointestinal son los principales blancos, y los síntomas tardan en aparecer de 15 a 30 años (Maguire, 2006).

Se pueden distinguir en la evolución natural de la enfermedad de Chagas, tres fases, en cada una de ellas la presentación clínica, los criterios diagnósticos y terapéuticos son distintos. La fase aguda, cualquiera que sea la vía de contagio, se inicia en el momento de adquirir la infección, dura entre 2 a 4 meses, con poca manifestación clínica y elevada parasitemia. Luego, se pasa a la fase indeterminada intermedia, en la cual la única

evidencia es la serología positiva con escasa cantidad de parásitos en el torrente circulatorio, sin presentar síntomas ni signos viscerales, y que puede durar toda la vida o derivar a la fase crónica. El individuo en fase indeterminada se denomina “infectado chagásico”. En la fase crónica el paciente presenta alguna manifestación orgánica. A esta fase llega el 30% o 40% de los infectados chagásicos, presentando síntomas y signos de expresión variada, siendo la forma cardíaca la más frecuente. Al paciente se lo designa “enfermo chagásico”. (Arrieta, 2004).

Tabla 1. Características de la enfermedad de Chagas en sus diferentes etapas. Modificada de Díaz, JH, 2008.

Características Clínicas	Fase Aguda	Fase Indeterminada	Fase Crónica
Parasitemia	Elevada	Baja	Baja
Síntomas Constitucionales	Inespecíficos, semejantes a un resfriado, fiebre elevada	Asintomático	Dolor torácico, mareos, edemas, palpitaciones, episodios de síncope.
Cardíacos	Miocarditis aguda	Sin manifestaciones.	Anormalidades en el EKG en más del 50% de los casos; bloqueos de conducción, síndrome del seno enfermo, extrasístoles ventriculares multifocales, cardiomegalia, insuficiencia cardíaca, aneurisma ventricular izquierdo con trombo mural.
Gastrointestinal	Diarrea, vómitos y a veces hepato y espleno megalias.	Sin manifestaciones.	Acalasia y constipación crónica. Los megasíndromes pueden incluir megaesófago con acalasia, megacolon con obstrucción intermitente y distensión abdominal dolorosa.
Neurológico	Meningoencefalitis en neonatos con Chagas congénita y en pacientes con VIH/SIDA	Sin manifestaciones	Raramente se puede presentar meningoencefalitis, particularmente en pacientes con VIH/SIDA.
Inmunológico	Linfadenopatía generalizada, seropositividad.	Seropositividad. En la fase intermedia de la enfermedad de Chagas, solo las pruebas serológicas positivas indican la presencia de infección por <i>T. cruzi</i> .	Seropositividad.
Varios	Chagoma de inoculación. Signo de Romaña.	No aplicable.	No aplicable.

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas se puede hacer a través de la observación del parásito en un frotis de sangre bajo el microscopio. Para la visualización de

los parásitos, se hace un frotis de sangre delgado y otro grueso y se les tiñe. Sin embargo, el frotis de sangre funciona bien solo en la fase aguda de la infección, cuando se ven los parásitos circulando en la sangre. El diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica se hace después de tener en cuenta el cuadro clínico del paciente y la probabilidad de que esté infectado, por haber vivido en un país donde la enfermedad es endémica. El diagnóstico se confirma con dos pruebas serológicas diferentes por lo menos. Generalmente se realiza un análisis inmunoenzimático (ELISA), el otro puede ser la hemaglutinación indirecta (HAI) o la inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Salazar, 2007).

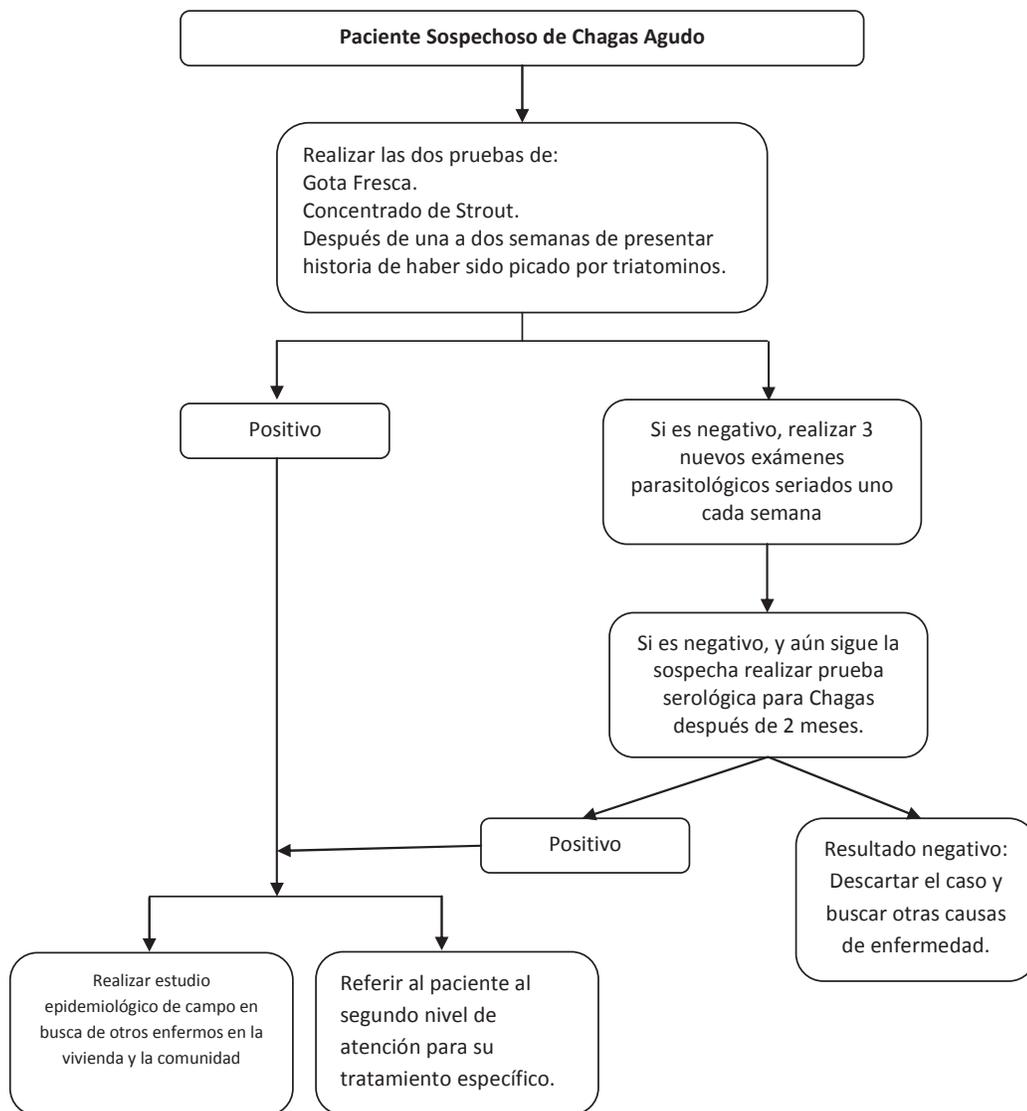


Figura 3. Algoritmo normativo para los pacientes sospechosos de Chagas agudo. (Norma técnica para prevención y control de la enfermedad de Chagas. Ministerio de Salud de El Salvador, 2011).

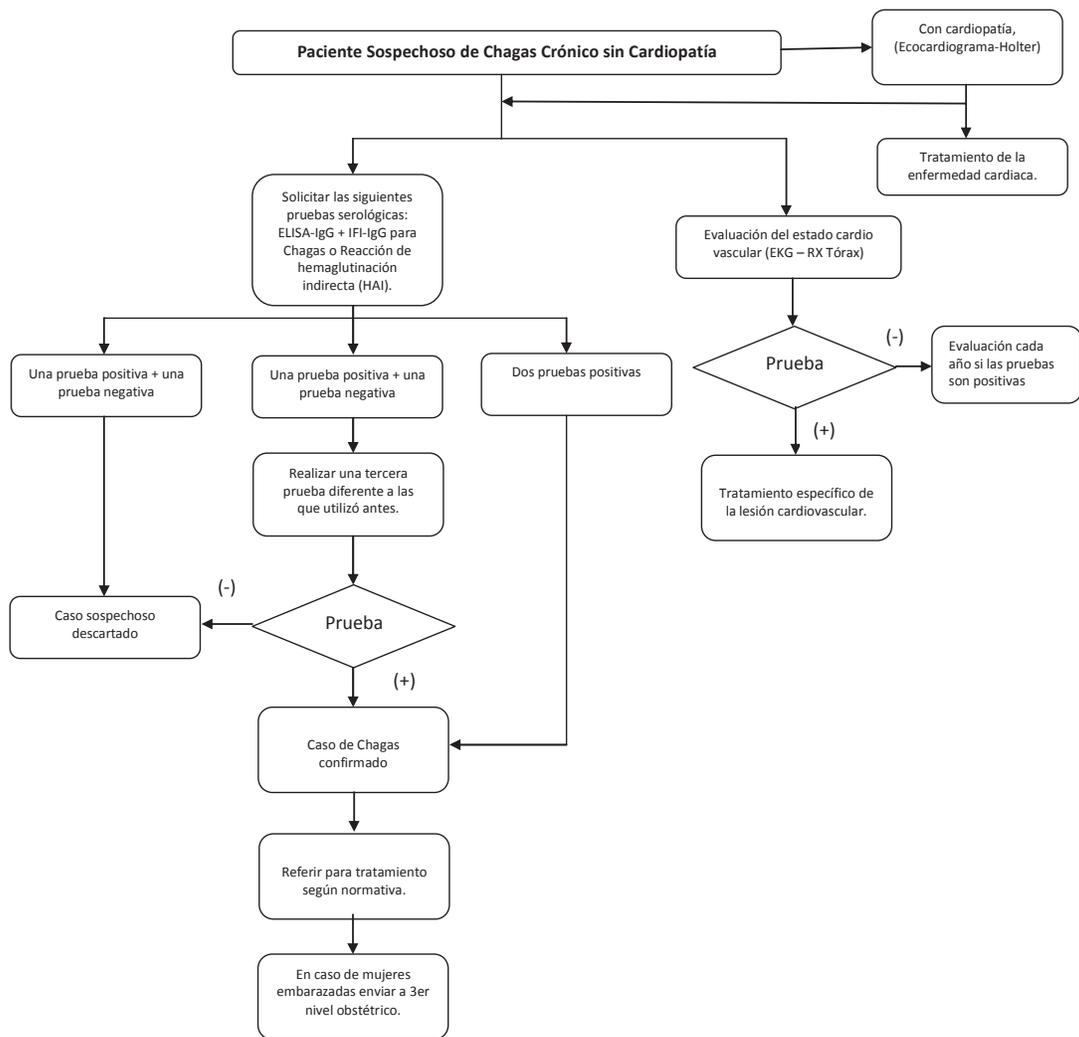


Figura 4. Algoritmo normativo para los pacientes sospechosos de Chagas crónico. (Norma técnica para prevención y control de la enfermedad de Chagas. Ministerio de Salud de El Salvador, 2011).

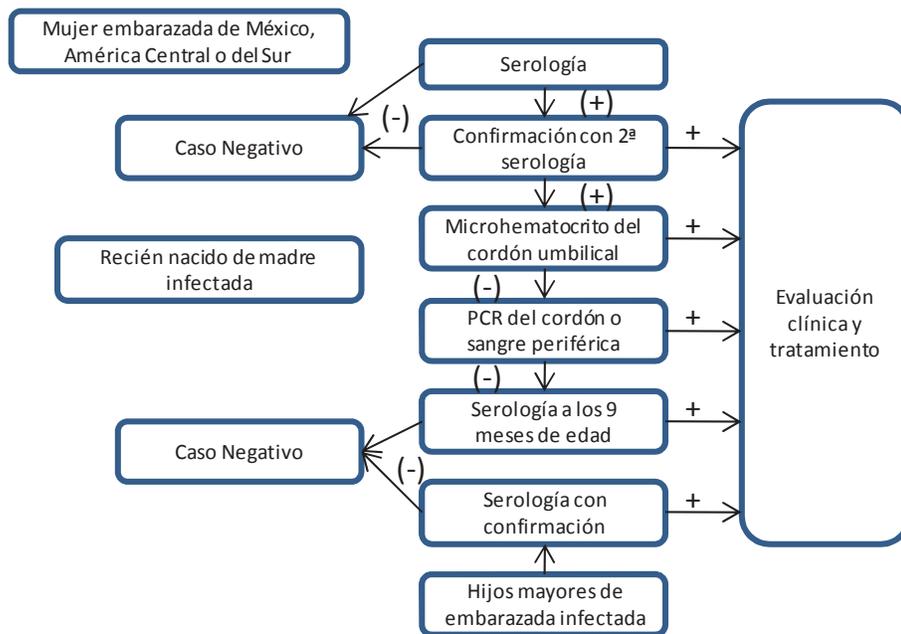


Figura 5 Algoritmo para tamizaje, diagnóstico y tratamiento de infección congénita con *Trypanosoma cruzi* en el Hospital Universitario de Génova, Génova, Suiza. (Modificado de Jackson, 2009).

CARDIOMIOPATÍA CHAGÁSICA:

La miocarditis puede presentarse con un amplio rango de síntomas que van desde la disnea leve o dolor torácico que se resuelve sin tratamiento específico hasta el choque cardiogénico y muerte. La cardiomiopatía dilatada con insuficiencia cardíaca crónica es la principal secuela a largo plazo de las miocarditis. La mayoría de las veces, la miocarditis es el resultado de infecciones virales comunes; con menos frecuencia puede ser el resultado de otros patógenos, tóxicos, reacciones de hipersensibilidad a drogas, miocarditis de células gigantes o sarcoidosis. El pronóstico y tratamiento varían de acuerdo a la causa y los datos clínicos y hemodinámicos usualmente proporcionan la guía para decidir si hay que tomar una biopsia endomiocárdica (Cooper, 2009).

Según la fuerza de tarea de la American Heart Association existen tres tipos de cardiomiopatías: dilatada, hipertrófica y restrictiva. Los criterios diagnósticos de la cardiomiopatía dilatada son: dilatación del ventrículo izquierdo, derecho o ambos; la dilatación a veces es severa y es invariablemente acompañada de hipertrofia; la función

ventricular izquierda está dañada; puede o no haber insuficiencia cardíaca; los trastornos del ritmo ventricular o auricular son comunes y puede ocurrir la muerte en cualquier etapa (Brandenburg, 1981).

Las siguientes son características clínicas en común a la cardiomiopatía dilatada: falla cardíaca sistólica y/o trastornos del ritmo o la conducción no explicables por condiciones de comorbilidad tales como diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica, enfermedad isquémica aterosclerosa, enfermedad valvular adquirida, cardiopatía congénita o alcoholismo. Además de alteraciones radiográficas como cardiomegalia y alteraciones ultrasonográficas como dilatación de cámaras cardíacas, insuficiencia valvular y aneurisma de miocardio.

Según datos de la Secretaría de Salud, el 96.5 de los casos crónicos de enfermedad de Chagas en México los constituye la cardiopatía. Esto adquiere una importancia sustantiva ya que el compromiso cardíaco es la principal causa de muerte en estos pacientes. Durante un seguimiento de 7.9 años a pacientes con diagnóstico de cardiomiopatía chagásica se encontraron seis factores pronóstico independiente y a cada uno se les asignó un número de puntos proporcional a su coeficiente de correlación con los casos fatales. Estos factores pronóstico fueron los siguientes: Pacientes en clase funcional III o IV de la New York Heart Association (5 puntos), evidencia de cardiomegalia (índice cardiorácico > 0.5) en la radiografía (5 puntos), disfunción ventricular sistólica izquierda (fracción de eyección del ventrículo izquierdo subnormal, $< 55\%$) en el ecocardiograma (3 punto), taquicardia ventricular no sostenida en el monitoreo Holter de 24 horas (3 puntos), bajo voltaje del complejo QRS (< 5 mm) en el electrocardiograma (2 puntos) y sexo masculino (2 puntos). Se calcularon los factores de riesgo de cada paciente y se definieron tres grupos: bajo riesgo (0 a 6 puntos), riesgo intermedio (7 a 11 puntos) y alto riesgo (12 a 20 puntos). Las probabilidades de mortalidad a 10 años fueron de 10% para el grupo de bajo riesgo, 44% para el de riesgo intermedio y del 84% para el de alto riesgo (Rassi, 2006).

En un estudio llevado a cabo en Oaxaca en el año 2000, el 2.4% (16) de 540 pacientes estudiados en la consulta en una unidad de cardiología cubrieron los criterios de cardiomiopatía dilatada. El 81% de estos (13 pacientes) tuvieron anticuerpos contra *T. cruzi* (Moreno López, 2000).

Los pacientes se presentan principalmente con bloqueo auriculoventricular, insuficiencia cardíaca congestiva, dolor torácico tipo anginoso, muerte súbita o taquicardia ventricular sostenida. El electrocardiograma frecuentemente sugiere enfermedad coronaria y los estudios dinámicos de perfusión con talio pueden mostrar isquemias o infarto. Se han detectado también aquinesia o hipoquinesia segmentaria y aneurismas ventriculares. Es común que estos pacientes sean etiquetados como isquémicos sobre todo en lugares no endémicos. (Hagar, 1991).

Para hacer el diagnóstico de cardiomiopatía chagásica deberán coincidir las características clínicas de una cardiomiopatía dilatada en un paciente al que se le demuestren anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi* en suero.

Desde el punto de vista fisiopatológico, la cardiomiopatía chagásica puede ser considerada como una enfermedad progresiva y fibrótica en la cual, la inflamación del miocardio juega un papel fundamental. Las características microscópicas de la cardiomiopatía chagásica incluyen: miocarditis linfocítica severa, fibrosis miocárdica difusa asociada con engrosamiento arteriolar sugestivo de lesión isquémica, fibras miocárdicas que contienen grandes pseudoquistes de *T. cruzi* y no muestran reacción inflamatoria y evidencia de macrófagos que contienen antígenos de *T. cruzi* en el interior de granulomas. Pese al enorme daño miocárdico que presentan estos pacientes, la cantidad de parásitos es relativamente escasa en esta fase crónica. Se ha encontrado un anticuerpo llamado factor EVI que está presente en todos los casos de cardiomiopatía chagásica y que reacciona contra las células del miocardio, endocardio, vasos e intersticio. Sin embargo, pareciera que la autoinmunidad por sí misma no es suficiente para explicar la naturaleza multifocal de la miocarditis y la localización preferencial de la fibrosis en ciertas regiones tales como la pared posterior y apical del ventrículo izquierdo. La fibrosis que afecte los

nodos sinusal y sinoauricular daría como resultado las arritmias asociadas y por supuesto la muerte súbita secundaria a fibrilación ventricular. Se piensa que es también la presencia del parásito en el miocardio junto a mecanismos inmunológicos adicionales, tales como formación de complejos del complemento, los que conducen al desarrollo de una miocarditis linfocítica severa. Esto tendría implicaciones terapéuticas importantes como el uso de citocinas tales como IL2 ya que al momento actual estos pacientes son tratados en forma muy convencional con soporte inotrópico y antiarrítmico, llegando algunos al trasplante cardiaco. (Higuchi, 2003).

Se ha demostrado que la activación de macrófagos mediada por *T. cruzi* resulta en niveles elevados de oxígeno libre. Además de los radicales libres de oxígeno, los macrófagos activados producen grandes cantidades de óxido nítrico con el subsecuente daño oxidativo. (Grupta, 2009).

El trasplante de células derivadas de la médula ósea (terapia celular) puede proporcionar una modalidad terapéutica en el manejo de la cardiomiopatía chagásica terminal. Se han utilizado trasplantes de médula ósea autóloga inyectadas directamente en las coronarias de pacientes con cardiopatía chagásica terminal con resultados clínicos favorables mejorando la fracción de eyección y la tolerancia al ejercicio. El mecanismo de acción de esta metodología mediante el cual se supone que existe regeneración miocárdica se desconoce y su uso es controversial. (Campos de Carvalho, 2009).

LABORATORIO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS:

Dado que los hallazgos clínicos en la enfermedad de Chagas son inespecíficos, deben realizarse estudios parasitológicos y serológicos para establecer el diagnóstico. La fase aguda es diagnosticada mediante la detección del parásito, las pruebas serológicas son de poca ayuda en esta etapa. Las formas activas circulantes de *T. cruzi* pueden ser vistas con frecuencia al examen microscópico de la sangre anticoagulada o al frotis coloreado. En pacientes inmunosuprimidos la médula ósea, el líquido cefalorraquídeo y pericárdico pueden contener parásitos. Si no se encuentra el parásito directamente en repetidos intentos,

puede utilizarse el hemocultivo. Para el diagnóstico de infección crónica con *T. cruzi* se utilizan pruebas que detectan anticuerpos a los antígenos parasitarios (Kirchhoff, 1993).

El diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas se establece con métodos que demuestran el parásito en la sangre directa o indirectamente (métodos parasitológicos) y mediante la detección de anticuerpos anti *T. cruzi* en suero. Los métodos parasitológicos pueden emplearse para diagnosticar tanto la etapa aguda como la crónica.

En la fase aguda de la enfermedad de Chagas (primeras 6 semanas) se emplean métodos que demuestran la presencia de tripanosomas en la sangre. Esto puede ser llevado a cabo mediante el examen al microscopio de un frotis fino de sangre periférica. Otras variaciones de este método tales como la preparación de un frotis de gota gruesa o métodos de concentración del parásito los cuales pueden ser la centrifugación de sangre heparinizada o la cromatografía de intercambio aniónico, incrementarán la probabilidad de detección parasitaria. Un método denominado “Quantitative Buffy Coat” o QBC, ampliamente utilizado para diagnosticar infecciones con plasmodios, se ha usado exitosamente para detectar tripanosomas, especialmente en pacientes con baja parasitemia. En recién nacidos con infección congénita por *T. cruzi*, se recomienda la búsqueda de tripanosomas en médula ósea o líquido cefalorraquídeo. Las formas amastigotes han sido demostradas en la forma crónica, particularmente en tejido muscular. La sensibilidad de los métodos que demuestran directamente la presencia de *T. cruzi* en sangre varía del 50% al 95% y es influenciada por varios factores que van desde la calidad del equipo de microscopia utilizado a la experiencia del observador.

En la fase crónica de la enfermedad se utilizan el xenodiagnóstico y el hemocultivo (métodos indirectos).

El diagnóstico por laboratorio de la enfermedad de Chagas depende de la etapa clínica en que se encuentre el paciente. Dado que los hallazgos clínicos en la enfermedad de Chagas son inespecíficos, deben realizarse estudios parasitológicos y serológicos para establecer el diagnóstico. La fase aguda es diagnosticada mediante la detección del parásito, las pruebas serológicas son de poca ayuda en esta etapa. Las activas formas circulantes de

T. cruzi pueden ser vistas con frecuencia al examen microscópico de la sangre anticoagulada o al frotis coloreado. En pacientes inmunosuprimidos la médula ósea, el líquido cefalorraquídeo y pericárdico pueden contener parásitos. Si no se encuentra el parásito directamente en repetidos intentos, puede utilizarse el hemocultivo. Para el diagnóstico de infección crónica con *T. cruzi* se utilizan pruebas que detectan anticuerpos a los antígenos parasitarios (Kirchhoff, 1993).

Diagnóstico de infección aguda por *T. cruzi*.

En la fase aguda, los trypomastigotes móviles pueden detectarse al microscopio de preparaciones frescas de sangre anticoagulada o de la capa leucocitaria (Buffy coat, microconcentración). Los parásitos pueden visualizarse con microscopía óptica teñidos con Giemsa. También en esta fase puede intentarse el hemocultivo en alguno de los medios estándares para parásitos (p.e. Novy-MacNeal-Nicolle) que es relativamente sensible durante la fase aguda pero requiere de 2 a 4 semanas para mostrar replicación. La parasitemia disminuye hacia los 90 días de la infección, aún sin tratamiento, lo que hace prácticamente indetectable al parásito durante la fase crónica (OMS, 2002).

Examen de Sangre en Fresco: Consiste en examinar directamente con el microscopio una gota de sangre de la persona con sospecha de infección. Es la prueba más sencilla, rápida y económica que permite demostrar la presencia del parásito en la forma aguda o congénita de la enfermedad de Chagas. El rendimiento del examen es bueno, y la prueba es útil cuando la parasitemia es elevada (Vega-Chirinos, 2006).

Gota Gruesa: La gota gruesa consiste en concentrar y defibrinar la gota de sangre de la muestra, la que posteriormente será deshemoglobinizada y teñida con Giemsa durante 30 minutos (Vega-Chirinos, 2006).

Microconcentración: La técnica consiste en concentrar los parásitos de una muestra de sangre colectada en tubos capilares heparinizados por centrifugación. Los elementos de la sangre se separan por gradiente de densidad, concentrándose los glóbulos rojos en la parte inferior del capilar, sobre ella se ubica un anillo blanquecino de 1 mm de altura conformado por los glóbulos blancos y en la parte superior líquida transparente constituida por el plasma. Los tripanosomas presentes en la muestra se ubicarán entre los glóbulos blancos y el plasma (Vega-Chirinos, 2006).

Concentración de Strout: Esta técnica se basa en la concentración de los parásitos en la muestra sanguínea por centrifugación y examen del sedimento al microscopio en busca de trypomastigotes móviles de *Trypanosoma cruzi*. Es una técnica simple y de buena sensibilidad en casos agudos de enfermedad de Chagas y en el seguimiento de congénitos (Vega-Chirinos, 2006).

Hemocultivo: Consiste en sembrar una muestra de sangre en medio de cultivo artificial o celular, con la finalidad de amplificar el número de parásitos presentes y confirmar el diagnóstico. Presenta una sensibilidad alta en los casos agudos y congénitos. El cultivo en medio artificial es factible de realizar en cualquier laboratorio bacteriológico, no así en medio celular que requiere de laboratorio mejor equipado (Vega-Chirinos, 2006).

Xenodiagnóstico: Es una técnica que permite la multiplicación del parásito in vivo y consiste en hacer picar a la persona sospechosa de infección por el vector libre de infección, de preferencia la especie de triatomino de mayor importancia en la región (Vega-Chirinos, 2006).

Reacción en Cadena de Polimerasa: La reacción en cadena de polimerasa (PCR) es una herramienta diagnóstica sensible en la fase aguda de la enfermedad de Chagas y puede también utilizarse para monitoreo de infección aguda por *T. cruzi* en el receptor de un trasplante de órganos que luego se considere sospechoso o posterior a una exposición accidental (Herwaldt, 2000).

Diagnóstico de infección congénita por *T. cruzi*: La enfermedad de Chagas congénita es una forma aguda de infección por *T. cruzi* y se usan métodos similares de laboratorio. Los métodos de concentración tienen mejor sensibilidad que el examen directo en fresco de sangre. El método más utilizado en Latino América es el de microhematocrito. En este se obtiene sangre fresca del cordón umbilical, se coloca en 4 o 6 tubos para microhematocrito heparinizados, se centrifuga y la capa leucocitaria es examinada en microscopía de luz (Feilij, 1983).

La parasitemia alcanza su nivel máximo a los 30 días de vida. Muestras seriadas durante los primeros meses pueden mejorar la probabilidad de encontrar el parásito. También el hemocultivo en medios apropiados puede incrementar la sensibilidad pero los resultados no son evidentes hasta pasadas 2 o 4 semanas.

Las técnicas moleculares tienen una sensibilidad elevada y detectan infecciones congénitas a más temprana edad que el método de microhematocrito. Se han reportado la detección transitoria de DNA parasitario en especímenes de niños que subsecuentemente fueron descartados como pacientes infectados. Por esta razón, se requiere de dos PCR positivas tomadas en ocasiones separadas como un criterio para confirmar infección congénita. La PCR se utiliza cada vez más en el diagnóstico temprano de Chagas congénito en Latino América y es el método de elección en países industrializados. (Jackson, 2009).

Para niños que no fueron diagnosticados al nacimiento, la serología similar a la etapa crónica se recomienda a partir de los 9 meses de edad cuando los anticuerpos maternos han desaparecido y la infección congénita pasa a la etapa crónica. (Bern, 2009).

El xenodiagnóstico es realizado a través del uso de vectores en etapa de ninfas cultivadas en laboratorio y alimentadas con sangre de aves las cuales son resistentes a la infección con *T. cruzi*. En esta técnica, se permite a las ninfas que se alimenten de sangre del paciente. Luego de 4 a 6 semanas se examina el contenido intestinal de las ninfas para determinar la presencia de *T. cruzi* con microscopía óptica. La sensibilidad de este método es del 85% al 100% en la fase aguda y del 50% en la fase crónica. Una variante del método clásico (xenodiagnóstico artificial) se introdujo para evitar reacciones de hipersensibilidad en pacientes susceptibles. Los vectores en etapa de ninfa se dejan alimentar de sangre del paciente que se ha colocado en bolsas de diálisis usualmente construidas con intestino de cerdos. Se realizan lecturas secuenciadas del contenido intestinal de los vectores así alimentados a 30, 60, y 90 días para incrementar la probabilidad de resultados positivos en la fase crónica de la enfermedad. El hemocultivo es una técnica poco sensible pero útil para aislar *T. cruzi* para estudios bioquímicos y de inmunquímica. Cuando es usado con fines de diagnóstico, detecta aproximadamente el 50% de los casos crónicos (Ferreira, 1995).

Las pruebas serológicas son ampliamente utilizadas como escrutinio para donadores, como marcadores para monitorear tratamiento, para confirmar o descartar el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, en estudios epidemiológicos e incluso laborales. Las pruebas serológicas dan solamente una estimación de probabilidad de la enfermedad y su interpretación final es influenciada por numerosos factores como la sensibilidad y

especificidad de la prueba y la prevalencia de la enfermedad de Chagas en la población estudiada.

Muchas pruebas estandarizadas han sido usadas para diagnosticar la enfermedad de Chagas. Es importante mantener en mente la gran complejidad antigénica de *T. cruzi*. Esta característica dicta la respuesta inmune del huésped a la enfermedad y ha conducido a la investigación de diferentes marcadores biológicos. Mediante técnicas de biología molecular, se han intentado identificar epitopos antigénicos altamente específicos. Las siguientes pruebas son o han sido las utilizadas en el diagnóstico serológico: (Lana, 2009).

- I. Fijación del Complemento. Introducida en 1913, la prueba de fijación del complemento en la actualidad solo tiene valor histórico, aunque en algunos laboratorios aún se utiliza para tamizaje en donadores de sangre y con propósitos de diagnóstico. La complejidad de esta prueba requiere estandarización diaria de sus componentes – antígeno, sistema hemolítico y complemento – y esto hace difícil su reproducibilidad. Su bajo nivel de sensibilidad y especificidad han contribuido a la baja popularidad de esta prueba.
- II. Prueba de precipitación. Las diferentes variaciones de esta prueba, aunque altamente específica, tienen pobre sensibilidad. Es usada principalmente en el estudio de los diferentes componentes antigénicos de *T. cruzi*. La contraelectroforesis ha sido el método preferido para diagnóstico y estudios seroepidemiológicos. Tiene una sensibilidad del 85% y una especificidad del 100%. Debido a su baja sensibilidad se utiliza muy poco en la clínica.
- III. Pruebas de aglutinación. Este tipo de pruebas de la cual describiremos tres variantes han sido ampliamente utilizadas en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.

- a) Aglutinación directa. Algunos autores comparan en su efectividad a esta prueba con la inmunofluorescencia. Se emplea una suspensión de formas epimastigotos de *T. cruzi* tratadas con enzimas y fijadas con formalina obteniendo buena sensibilidad en la detección de anticuerpos en la fase aguda. La prueba de microaglutinación empleando formas epimastigotes de *T. cruzi* tratadas con tripsina y teñidas con azul de Coomasie mejoró la sensibilidad y especificidad. Un inconveniente de la prueba de aglutinación es la gran cantidad de parásitos necesarios para preparar la suspensión antigénica.
- b) Hemaglutinación. Esta prueba es ampliamente utilizada para diagnóstico, detección y estudios seroepidemiológicos. En esta prueba, glóbulos rojos de mamíferos o aves son tratados con formalina y sensibilizados con componentes antigénicos. El producto, liofilizado o en suspensión, tiene una estabilidad excelente en condiciones de temperatura adversas. La prueba tanto cuantitativa como cualitativa es realizada sobre placas con el uso de diferentes extractos antigénicos. Debido a su simplicidad y bajo costo, la prueba de hemaglutinación es recomendada para detección en donadores de sangre.

IV. Inmunofluorescencia. La prueba de inmunofluorescencia indirecta es realizada usualmente con formas epimastigotes de *T. cruzi* obtenidos de cultivo del parásito. Los tripanosomas tratados con formalina son fijados en portaobjetos e incubados con suero diluido por 30 minutos a 37 grados centígrados. Luego se lavan y se incuban con el conjugado fluorescente (suero de ovino IgG o IgM anti humano marcado con isocianato de fluoresceína). Después de una nueva incubación y lavados, la preparación se lee con un microscopio de fluorescencia. La prueba de inmunofluorescencia para la detección de anticuerpo IgG anti – *T. cruzi* es considerada el estándar de oro en el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas.

V. Ensayo inmuno enzimático (ELISA). En 1975 se estandarizó la prueba con inmunoperoxidasa utilizando formas epimastigotes de *T. cruzi* fijadas con formalina en portaobjetos como antígeno t conjugado enzimático (suero ovino conjugado con peroxidasa). Después de la incubación con suero diluido y conjugado, el sustrato es revelado. El método tiene la misma sensibilidad y especificidad de la prueba de inmunofluorescencia. La ventaja es que el desarrollo del color resultante puede ser visualizado con un microscopio óptico lo que reduce el costo de la prueba. La intensidad del color es medido por espectrofotometría.

Una situación que presenta una problemática especial en el laboratorio de la enfermedad de Chagas es el seguimiento de pacientes tratados farmacológicamente para determinar la efectividad del tratamiento. Los enfoques parasitológicos tradicionales tales como el xenodiagnóstico y hemocultivos, tienen elevada complejidad y baja sensibilidad. Los criterios para monitorear la terapéutica son difíciles debido a las particularidades en la historia natural de la infección. La evaluación de la curación de la etapa aguda no presenta dificultades dado que puede determinarse con certeza la reducción de la parasitemia, El principal problema de la evaluación terapéutica existe en la fase crónica cuando la parasitemia es extremadamente baja y es difícil detectar al *T. cruzi* aún antes del tratamiento. Un enfoque para resolver este problema ha sido la detección directa del parásito basado en la amplificación de secuencias específicas de nucleótidos del *T. cruzi* mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR) (Britto, 1999).

Se ha demostrado una significativa negativización de la parasitemia con la reacción en cadena de polimerasa (PCR) en los pacientes con enfermedad crónica tratados farmacológicamente. Aunque, debido a la relativamente baja sensibilidad de la prueba, un resultado negativo posterior al tratamiento no indica una cura en forma aislada, si apoya la evidencia de una curación cuando se asocia a otros datos clínicos y de laboratorio (Lacunza, 2006).

Inmunoanálisis Ligado a Enzima (ELISA)

En 1975, Voller y colaboradores publicaron en la revista médica inglesa “*The Lancet*” el uso del ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA) aplicado a la enfermedad de Chagas. Hasta ese entonces, el diagnóstico de la forma crónica de la tripanosomiasis americana descansaba en las pruebas serológicas de fijación de complemento, inmunofluorescencia y hemaglutinación indirecta para detectar anticuerpos contra el *T. cruzi*. En el mencionado estudio se encontró una completa correlación comparada con la inmunofluorescencia. Todos sus casos positivos tanto para inmunofluorescencia indirecta como para xenodiagnóstico fueron también positivos para la ELISA sin presentarse falsos positivos. Se destacaban las cualidades del inmunoensayo tales como ser económico, simple, requiera poca cantidad de muestra problema y solo precisa de una dilución (Voller, 1975).

Las pruebas de Voller y colaboradores demostraron que la sensibilidad y especificidad del inmunoanálisis (también denominado inmunoensayo) ligado a enzima (ELISA) eran iguales a los correspondientes de la inmunofluorescencia indirecta y superiores a los de la prueba de fijación del complemento y de aglutinación directa. Sin embargo, sus estudios se realizaron en el laboratorio y con sueros a los que se conocía su reactividad. No fue sino hasta 1979 en que Anthony y colaboradores probaron el inmunoensayo ligado a enzima bajo condiciones de campo encontrando que, bajo estas condiciones de prueba, el ELISA mostraba excelentes sensibilidad y especificidad, siendo muy superior a las pruebas de fijación del complemento y a la aglutinación directa, pudiendo incluso implementarse en condiciones de campo adversas comparadas con las de laboratorio (Anthony, 1979).

En el segundo informe del Comité de Expertos para la enfermedad de Chagas publicado en 2002, se hace mención que hay tres pruebas de laboratorio convencionales cuya utilización está muy generalizada: la hemaglutinación indirecta (HAI), la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y la prueba de ELISA. Se ha considerado que la obtención de resultados positivos en más de una de estas pruebas equivale a un diagnóstico definitivo de infección por *T. cruzi*. Sin embargo, una sola prueba de IFI o ELISA positivas pudiera ser suficiente ya que su sensibilidad es del 99%. La prueba de ELISA tiene una

sensibilidad excelente y una muy buen especificidad además de presentar dos ventajas adicionales: requiere un espectrofotómetro con lo que se elimina la subjetividad en la interpretación del resultado y se puede automatizar. Por lo anterior, la prueba de ELISA es recomendada como la idónea en detección o tamizaje de bancos de sangre (OMS, 2002).

A partir del año 2008, el Instituto Mexicano del Seguro Social, la organización de salud más grande en México y que transfunde 1,800,000 unidades de componentes sanguíneos al año, implementó la detección de la enfermedad de Chagas en sus bancos de sangre con ELISA y determinó una seroprevalencia nacional de 0.406%. Este tamizaje a nivel nacional permitió detectar anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* en regiones donde históricamente la densidad de vectores y de la enfermedad era baja, conjeturando que esto muy probablemente se deba a fenómenos migratorios (Novelo-Garza, 2010).

Aunque fue diseñada para diagnóstico en humanos, con algunas modificaciones, la prueba de ELISA también se ha utilizado para detectar presencia de *T. cruzi* en el insecto vector. Molina-Garza y colaboradores recomiendan el inmunoensayo ligado a enzima para programas de vigilancia epidemiológica preventiva como primera prueba de tamizaje antes de realizar análisis confirmatorios por reacción en cadena de polimerasa (PCR). Ellos desarrollaron un método inmunoenzimático para la detección de *T. cruzi* en heces de triatomíneos, rápido, simple y que permite el análisis simultáneo de numerosas muestras con elevados índices de especificidad y sensibilidad (Molina-Garza et al., 2007).

En el Centro de Control de Enfermedades, en Atlanta (EUA) (CDC por sus siglas en inglés), se utilizan dos pruebas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica, uno es el inmunoanálisis ligado a enzima con antígenos recombinantes; el otro es el análisis con anticuerpo inmunofluorescente. Con la metodología descrita por Cantley y colaboradores utilizando tamizaje para detectar casos asintomáticos de enfermedad de Chagas entre hemodonadores voluntarios se encontraron 16 casos autóctonos en los Estados Unidos de Norteamérica que se agregan a los 7 previamente reportados en la literatura. Desde el año 2007, la Cruz Roja Americana (ARC) y el Blood System Inc. (BSI) utilizan el ELISA como tamizaje en sus donadores. Juntos, la ARC y el BSI representan más del 50% de los

productos sanguíneos colectados en los EUA. Ellos reportan una prevalencia de 1 caso positivo en 26,700 donaciones (Cantley, 2012).

En la tabla 2 se muestran diversas pruebas de laboratorio para detectar anticuerpos contra el *T. cruzi* en pacientes con enfermedad de Chagas crónica o indeterminada. La prueba de ELISA sigue teniendo vigencia por su efectividad, eficiencia y facilidad de implementación.

Tabla 2. Comparación de la sensibilidad y especificidad de las diversas pruebas de laboratorio utilizadas en la actualidad para detectar anticuerpos contra el *T. cruzi*. (Cantley, 2012).

PRUEBA	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)
ORTHO EIA*	99	99
RIPA**	100	100
IFI***	94	95
WIENER EIA****	99	99
TESA IB*****	100	100

* Ortho EIA: Sistema ELISA Ortho para detección cualitativa de anticuerpos contra *T. cruzi*. Utiliza antígenos lisados.

** RIPA: Análisis por radio-inmuno-precipitación basado en lisado de epimastigote y es utilizado en muchos centros de hemotransfusión como prueba de confirmación diagnóstica.

*** IFI: Inmunofluorescencia indirecta. Se basa en epimastigotes fijados; si hay reactividad a una dilución de 1:32 o mayor se considera positiva (o reactiva).

**** Wiener EIA: Utiliza seis antígenos recombinantes. Una densidad óptica de 0.33 o mayor se considera positiva.

*****TESA IB: Inmunoblot de antígenos tripomastigotes excretados o secretados. Usa una mezcla de exoantígenos de tripomastigote. La reactividad a antígenos transialidasa específica de *T. cruzi* a 150 – 160 kDa se considera como resultado positivo.

Hemaglutinación Indirecta

Entre los diversos estudios serológicos que se utilizan para detectar anticuerpos contra la enfermedad de Chagas, particularmente en los estados crónico e indeterminado, destacan los más frecuentemente utilizados en Latinoamérica, la inmunofluorescencia indirecta (IFI), el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA) y la hemaglutinación indirecta (HAI). Las dificultades técnicas y el costo han impedido la generalización de la IFI; quedando entonces el ELISA y la HAI como los estudios con mayor disponibilidad. Del ELISA se ha hablado en otra parte de este escrito, toca ahora el tema de la hemaglutinación indirecta aplicada a detectar anticuerpos contra la tripanosomiasis americana (Souza, 2012).

La hemaglutinación indirecta se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos (que en este caso son anti-*T. cruzi*) de producir aglutinación específica en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del *Trypanosoma cruzi*. En 1970, Neal y Miles publicaron en la revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo una detallada descripción de la técnica hemaglutinación indirecta utilizando eritrocitos de oveja para la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* señalando particularmente a la preparación de un antígeno soluble estable a partir de epimastigotes cultivados *in vitro*. La técnica fue probada con sueros de pacientes chagásicos crónicos e incluso la adaptaron para su uso con sangre seca en papel filtro dada la elevada sensibilidad del estudio diseñado (Neal, 1970).

Por su parte, Leiby y colaboradores compararon la reactividad de sueros que habían resultado positivos para la prueba de inmunofluorescencia indirecta con los correspondientes a los análisis de radio inmuno precipitación (RIPA), ensayo inmuno absorbente ligado a enzima (ELISA) y a la hemaglutinación indirecta (HAI), dado que hasta el momento actual ninguna prueba ha mostrado ser lo suficientemente sensible y específica como para ser designado como único ensayo con fines de tamizaje. Todos sus estudios provenían de diferentes kits comerciales. Por ejemplo, los bancos de sangre en Latinoamérica realizan tres pruebas serológicas para detectar anticuerpos contra *T. cruzi* como protocolo de un algoritmo que considera a un donador como positivo para la

enfermedad de Chagas si resulta reactivo a dos de tres ensayos. En la actualidad, las pruebas más frecuentemente usadas por estas organizaciones, son la inmuno fluorescencia indirecta (IFI), la inmuno precipitación ligada a enzima (ELISA) y la hemaglutinación indirecta (HAI). (Leiby et al., 2000).

En los resultados de la comparación de las diversas pruebas se encontró que, todos los especímenes negativos para la inmunofluorescencia indirecta fueron también negativos en todos los otros ensayos. Para las diluciones de 1:40 o superiores, la concordancia varió entre el 86% y el 98% siendo la más elevada para el ELISA de Organon, una empresa brasileña; en tanto que la más baja fue para el HAI de BioLab, empresa de la India con capital norteamericano. No se hicieron consideraciones acerca de la sensibilidad ya que no hubo confirmación parasitológica de los casos positivos lo que precluye cualquier afirmación en ese sentido. Los estudios para pacientes con infección por *T. cruzi* han sido elusivos y problemáticos a la hora de identificar una prueba o un algoritmo como estándar de oro. Tal vez los únicos ensayos que al presente pudieran considerarse como estándares de oro son el xenodiagnóstico y el hemocultivo. En ambos, el punto final del estudio es la visualización del parásito proveyendo evidencia indiscutible de infección. Sin embargo, la sensibilidad de estos estudios es solo del 30% al 55%, valores muy bajos que a menudo son obtenidos después de repetir varias veces la prueba dada la naturaleza intermitente de la parasitemia. En forma adicional, estos análisis pueden tomar semanas o meses para ser completados. El xenodiagnóstico tiene agregada la desventaja que requiere de permitirle a insectos hematófagos vivos alimentarse del individuo en estudio durante varias horas; proceso que, sin lugar a dudas, es poco placentero. Por estas razones, ambas pruebas, el xenodiagnóstico y el hemocultivo son imprácticas para su utilización en bancos de sangre. A pesar de ello siguen teniendo utilidad en situaciones de investigación, en particular para confirmar parasitemia. (Leiby et al., 2000).

Recientemente, Souza y Amato-Neto (2012) publicaron una comunicación sobre las discrepancias en los resultados entre hemaglutinación indirecta, inmunofluorescencia indirecta y ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima, (HAI, IFI y ELISA respectivamente) para anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*. Se encontró heterogeneidad en la reactividad de los diferentes estudios revisados. Habiendo concordancia de resultados positivos solo en

el 47% de las muestras, 18% en los negativos y 34.7% en los que se reportaron como dudosos. En un intento de explicar estas disparidades se hizo necesario notar que la IFI detecta un anticuerpo específico que reacciona con un antígeno de la membrana plasmática, mientras que el HAI detecta un anticuerpo que reacciona con un antígeno subcelular. Cada una de estas reacciones serológicas opera en diferentes sitios específicos. El anticuerpo indicado por el IFI no será el mismo que el mostrado por la HAI. Es evidente que las dos reacciones serán positivas solo cuando ambos anticuerpos están presentes en el suero. A favor de esta interpretación está la cronología de positivización posterior a la infección con *T. cruzi*. De hecho, los anticuerpos mostrados por IFI en una etapa temprana, podrían no ser los mismos en una etapa tardía en que muestre positividad a HAI. Todavía más, en otras observaciones se ha mostrado que en la fase crónica de una infección confirmada parasitológicamente, hay variaciones en la sensibilidad de las pruebas de fijación de complemento y esto podría estar ocurriendo en IFI y en HAI. Ciertamente, es condición importante para que una reacción serológica sea positiva, la presencia de suficiente anticuerpo en suero, de tal manera que este pueda ser revelado por las pruebas en la fase crónica de la enfermedad (Souza, 2012).

Tabla 3. Utilidad de las técnicas de diagnóstico en las formas clínicas. (Modificado de Vega-Chirinos, 2006).

TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO	FORMAS CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS			VENTAJAS	DESVENTAJAS
	AGUDA	CRÓNICA – PORTADOR	CONGÉNITA		
GOTA FRESCA	+	-	+	Rápidez, Bajo Costo	Sensibilidad operador dependiente
GOTA GRUESA	++	-	++	Rápidez, Bajo Costo	Sensibilidad operador dependiente
MICROCONCENTRACIÓN	+++	-	+++	Rápidez, Bajo Costo	Sensibilidad operador dependiente
CONCENTRACIÓN DE STROUT	+++	-	+++	Rápidez, Bajo Costo	Sensibilidad operador dependiente
HEMOCULTIVO	+++	+/-	+++	Muy sensible, sencillo. Costo moderado.	Requiere personal con experiencia. Contaminación.
XENODIAGNÓSTICO	+++	+	+++	Estándar de Oro	Método cruento. Reacciones alérgicas. Infraestructura compleja.
PCR disponibles	++++	++	++++	Elevada sensibilidad	Falsos positivos (contaminaciones) Falsos negativos (inhibición biológica) Infraestructura compleja Costos elevados Aún No Validada
PRUEBAS SEROLÓGICAS (HAI, ELISA, IFI, RIPA, TESA-Blot)	- Al inicio +++ Después de 30 días.	+++	IgG+: Ac de la madre. IgM+: Ac del recién nacido hasta los seis meses.	Elevada sensibilidad y especificidad.	Requiere equipo y personal especializado.

(-) No útil. (+/-) Utilidad relativa. (+) Útil. Ac Anticuerpos

Tabla 4. Comparativo de las diferentes pruebas serológicas disponibles en México. *Datos proporcionados por el Instituto Mexicano del Seguro Social. (ND: no datos).

MÉTODO	Costo por paciente (US)*	REQUERIMIENTOS			CARACTERÍSTICAS DE LA REACCIÓN		
		Equipos	Recurso Humano Especializado	Infraestructura	Sensibilidad	Especificidad	Tiempo para obtener resultados
HAI	6.99	Bajo	Moderado	Bajo	0.955	0.941	4 horas
IFI	7.22	Moderado	Alto	Moderado	0.966	0.941	6 horas
ELISA	7.45	Moderado	Moderado	Moderado	0.966	0.941	8 horas
Chaga Test Elisa Recomb	8.97	Moderado	Moderado	Moderado	0.900	0.944	2 horas
STAT PAK	9.32	Bajo	Bajo	Bajo	0.833	0.944	15 min
PCR	11.65	Alto	Alto	Alto	0.833	ND	8 horas

TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

El tratamiento de la enfermedad de Chagas sigue siendo controversial. Los principales medicamentos usados son los nitrofuranos y nitroimidazoles, pero ambos son altamente mutagénicos y causan muchos efectos colaterales. Su eficacia es limitada a la fase aguda de la infección y tienen gran variabilidad en sus resultados. Es por ello que las estrategias más ampliamente utilizadas están encaminadas al control del vector mediante insecticidas y mejoramiento de las viviendas.

Por ello el tratamiento de la enfermedad de Chagas está indicado para pacientes con la forma aguda o en la forma congénita. Al momento actual no hay información disponible de la eficacia de ningún fármaco en prevenir el desarrollo de la fase crónica. En estos casos solo se aconseja el tratamiento sintomático.

Las drogas Benznidazole® y Nifurtimox® son las únicas que han probado su eficacia contra la enfermedad de Chagas. Debido a que el Benznidazole es mejor tolerado, se considera de primera elección. Ninguno de estos medicamentos ha sido aprobado para su uso en los Estados Unidos ni en Europa. La dosis para adultos es de 5 a 7 mg/kg por día

dividido en dos dosis durante 60 días para el Benznidazole. Para el Nifurtimox es de 8 a 10 mg/kg por día en dividida en 3 dosis durante 90 días (Bern, 2007).

El Benznidazole (Radanil, Rochagan, Roche 7-1051), introducido en 1971, es un nitroimidazol activo contra las formas del *T. cruzi* trypomastigote y amastigote. El Nifurtimox (Lampit, Bayer 2502), introducido en 1965, es un nitrofurano, también con actividad contra tripomastigotos y amastigotos.

Tanto el benznidazole y el nifurtimox son mutagénicos y hay reportes que muestran un riesgo incrementado de linfomas en animales de experimentación. No obstante, no hay datos definitivos en este sentido.

Una de las mayores dificultades clínicas de la enfermedad de Chagas es el tratamiento. Dentro de las parasitosis es una en la que el consenso y la efectividad de los fármacos utilizados no han sido del todo buenos como en la amibiasis o la malaria. La principal dificultad estriba en que no hay una forma apropiada de decidir cuando un paciente está curado. Además, los medicamentos utilizados en la actualidad tienen una toxicidad elevada (Rodríguez-Morales, 2005).

La Food and Drug Administration en los Estados Unidos de Norteamérica solo acepta dos medicamentos, el Benznidazole y el Nifurtimox, y solo para estudios experimentales. No hay disponibilidad abierta. Asimismo se ha establecido que el uso de estos dos medicamentos tiene utilidad solo en la fase aguda de la enfermedad. Recientemente, el Benznidazole fue retirado del mercado internacional y solo es producido por la rama brasileña de Roche. Esto dificulta aún más su obtención fuera de Brasil.

Los protocolos reportados en las diversas normatividades de los países endémicos son los siguientes: (Norma para prevención y control de la enfermedad de Chagas, El Salvador, 2011).

Nifurtimox (tabletas de 120 mg):

- Niños hasta diez años: 15-20 mg/kg/peso.

- Adolescentes de once a dieciséis años: 12.5 -15 mg/kg/peso.
- Mayor de dieciséis años: 8-10 mg/kg/peso. Dosis máxima 700 mg. En veinticuatro horas.

Benznidazole (tabletas de 100 miligramos):

- Niños: 5-10 mg/kg/peso.
- Adultos: 5-7 mg/kg/peso.

Las dosis en las diferentes edades deben dividirse en dos veces al día, por vía oral preferentemente después del desayuno y cena. La duración total del tratamiento debe ser sesenta días. Hay mejor tolerancia que con el Nifurtimox.

El **benznidazole**, (Radanil, Rochagan, Roche), se introdujo en 1971. Es un derivado del nitroimidazol activo contra las formas trypomastigote y amastigote. Se absorbe rápidamente por vía digestiva. La vida media biológica es de 12 horas y su eliminación es predominantemente renal. El 22% de la excreción es fecal. Los niños tienen menos efectos colaterales que los adultos y toleran dosis más altas. Los efectos adversos dermatológicos ocurren en aproximadamente 30% de los pacientes y consisten en rash debida a fotosensibilización que a veces progresa a dermatitis exfoliativa. La dermatitis es de leve a moderada y manejable con esteroides tópicos o sistémicos a bajas dosis. Sin embargo, el medicamento debe ser discontinuado en caso de reacciones dermatológicas severas o dermatitis asociada a fiebre y linfadenopatía. Aproximadamente el 30% de los pacientes experimentan neuropatía dosis dependiente. Esta ocurre tardíamente en el tratamiento y casi siempre es reversible, pero puede tomar meses para resolverse. La supresión de la médula ósea puede presentarse pero es raro y obliga a suspender el tratamiento. Se han reportado anorexia y pérdida de peso, nausea y/o vómito, insomnio y disgeusia. Deben realizarse pruebas de laboratorio antes de iniciar el tratamiento y monitoreo mensual (Bern, 2007). Otro problema es que se han detectado cepas resistentes de *T. cruzi* (Monteón, 2009).

El **nifurtimox** (Lampit, Bayer) se introdujo en 1965, es un nitrofurano que también tiene actividad contra trypomastigotes y amastigotes. El medicamento se absorbe bien por

vía gastrointestinal y se metaboliza en hígado a través de nitroreducción mediante la citocromo P450 reductasa. La eliminación de sus metabolitos es principalmente renal. En humanos, los niveles plasmáticos alcanzan su máximo a la hora posterior de su ingestión oral y tiene una vida media de 3 horas. Igual que el benznidazol, el nifurtimox es mejor tolerado por niños. Su mecanismo de acción es interferir con el metabolismo de los carbohidratos del *T. cruzi* inhibiendo la síntesis de ácido pirúvico. Los efectos adversos se resuelven cuando se suspende el tratamiento. Hay síntomas gastrointestinales en el 30% al 70% de los pacientes incluyendo pérdida de peso, náuseas y vómitos. Los síntomas de toxicidad del sistema nervioso central incluyen irritabilidad, insomnio, desorientación y temblores. Más serios, pero con menos frecuencia puede haber parestesias, polineuropatía y neuritis periférica. La neuropatía periférica es tardía, dependiente de la dosis y obliga a discontinuar el fármaco. Efectos adversos adicionales incluyen mareos, vértigo, excitación nerviosa, cambios en el humor y mialgias. Se deben realizar exámenes completos de laboratorio (biometría hemática completa, enzimas hepáticas, creatinina y nitrógeno de la urea) antes, a las 4 – 6 semanas y al final del tratamiento. Los pacientes deben ser pesados y monitorear síntomas de neuropatía periférica cada dos semanas, especialmente durante el segundo y tercer mes de tratamiento.

Tanto el benznidazol como el nifurtimox son mutagénicos y hay informes sobre el incremento en la frecuencia de linfomas en animales experimentales. Sin embargo no hay datos definitivos si esto pudiera suceder en el ser humano. (Bern, 2007). Tanto en la forma aguda como en la congénita, ambos medicamentos reducen la severidad de los síntomas, acortan el curso clínico y reducen la duración de la parasitemia. Los primeros ensayos clínicos con estas drogas antitripanosomas fueron conducidas en los pacientes con Chagas agudo en los 60's y 70's usando nifurtimox. La cura serológica se documentó en el 81% de los pacientes a los 12 meses de iniciado el tratamiento (Bern, 2011).

Tratamiento de la infección crónica con *Trypanosoma cruzi*: Hasta recientemente, solo la fase aguda, incluyendo la congénita temprana, era respondedora al tratamiento antiparasitario. Sin embargo, en los años noventas, dos ensayos controlados con placebo en niños con infección crónica por *Trypanosoma cruzi*, demostraron una cura de

60% con seroconversión negativa de 3 a 4 años posterior al final del tratamiento. Los estudios de seguimiento sugieren que entre más corta sea la edad de los niños, más alta será la seroconversión negativa. Cada vez hay mayor evidencia de la utilidad en el tratamiento anti-Chagásico para enfermos crónicos, quizá con la excepción de pacientes mayores de 55 años o con cardiopatía avanzada (Bern, 2011).

Estudios publicados principalmente en Argentina han señalado que el tratamiento con benznidazol claramente reduce la probabilidad de cardiomiopatía hasta en un 75%. Los principales estudios sobre el tratamiento de la enfermedad de Chagas crónica y su efecto sobre la enfermedad cardiaca se suman en tabla 5.

Tabla 5. Estudios clínicos sobre el impacto del tratamiento etiológico utilizando la eficacia clínica en Argentina en el período 1994-2007. (Sosa-Estani, 2009).

Autor	Pacientes Tratados	Pacientes No Tratados	Cambios EKG entre tratados y no tratados (%)	Progresión a enfermedad cardiaca tratados y no tratados (%)
Viotti (1994)	131	70	4/0	2/17
Gallerano (2000)	535	668	14/34	6/18
Viotti (2006b)	283	283	5/16	4/14
Fabbro (2007)	54	57	4/16	-
Total	1003	1078	7/24	4/16

Viotti y colaboradores en su estudio desarrollado en el Hospital Eva Perón en Argentina de 1984 al 2001 y publicado en 2006 concluyen por sus resultados que el tratamiento de pacientes en etapa indeterminada o crónica puede detener la progresión a enfermedad cardiaca e inducir a la seroconversión negativa. Sin embargo el estudio tiene limitantes, principalmente por el hecho de no ser randomizado (Viotti, 2006).

Otros medicamentos se han utilizado para las etapas indeterminada y crónica. De ellos destacan los siguientes:

Amiodarona: El antiarrítmico amiodarona, frecuentemente prescrito para el tratamiento de las arritmias asociadas a la cardiopatía chagásica tiene actividad directa contra el *T. cruzi* tanto in vivo como in vitro y que actúa sinérgicamente con la droga posaconazol. Se ha encontrado que la amiodarona interfiere con la homeostasis del Ca²⁺ parasitario. Benaim y colaboradores en 2006 encontraron que la acción inhibitoria de la amiodarona era dependiente de la concentración. Se encontró que este medicamento induce la liberación del ion Ca²⁺ de la mitocondria gigante que se encuentra en las células del parásito y que esta actividad es específica dado que no se observó en las células de los mamíferos huésped, las cuales crecieron normalmente en presencia de amiodarona. Los autores sugieren una utilización combinada de amiodarona y posaconazol como un posible esquema de tratamiento contra el Chagas crónico. (Benaim et al., 2006).

Alopurinol: Una terapia racional contra el *T. cruzi* debe estar basada en drogas que inhiban la síntesis de proteínas o de purinas. Una de estas drogas es el alopurinol. El parásito *T. cruzi* no puede sintetizar purinas de novo como el humano. El alopurinol es un análogo de las hipoxantinas, el cual disminuye los niveles de ácido úrico y la conversión de hipoxantinas a xantinas. El alopurinol inhibe el crecimiento de epimastigotes en cultivos. El efecto sobre la infección ha sido demostrado en ratones infectados, no así en seres humanos en ninguna de las formas clínicas. Un reporte de 1998 en la Universidad de Chile en Santiago mostró la efectividad del alopurinol en pacientes con Chagas crónico encontrando cura parasitológica en el 44% y normalización electrocardiográfica en el 36.5% de los pacientes del estudio (Apt, 1998).

Inhibidores de la Biosíntesis de Esteroles (IBE): Al estudiar la bioquímica y el metabolismo de *T. cruzi* se ha conocido que este protozooario requiere de esteroles específicos para la viabilidad celular y proliferación en todos sus estadios. Por lo cual sería extremadamente sensible a los IBE. En este grupo se incluyen drogas como: ketoconazol, itraconazol, posaconazol, así como otros antifúngicos. Los estudios de eficacia in vitro y sobretodo in vivo han demostrado resultados controversiales 15.

En un estudio realizado en Chile, el uso de itraconazol (a una dosis de 6 mg/kg/d por 120 días) en pacientes crónicos, redujo el número de xenodiagnósticos positivos y logró

prevenir anomalías en el EKG. Pero, en contraposición, algunos autores han afirmado que estas drogas no son suficientemente potentes para eliminar a *T. cruzi* en animales y humanos en fase crónica o detener la progresión de la enfermedad. En todo caso, es importante mencionar que en la serie estudiada en el país austral, si bien, los pacientes mantuvieron serología positiva para *T. cruzi*, en una evaluación con nueve años de seguimiento, se evidenció una marcada reducción de la carga parasitaria y muy pocos o ningún efecto adverso. Adicionalmente a la efectividad, otro aspecto importante de los IBE, es que son capaces de inducir cura parasitológica radical en modelos murinos, tanto en la fase aguda como en fase crónica de la enfermedad, además se ha demostrado que son capaces de erradicar cepas resistentes a nitrofuranos y a nitroimidazoles en ratones infectados, aún si estos están inmunosuprimidos.

Desde el punto de vista farmacológico, estas drogas (IBE) tienen excelentes propiedades farmacocinéticas: concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) bajas (rango nanomolar a subnanomolar), $T_{1/2}$ larga (25 – 120 horas), un alto volumen de distribución (500 - 1300 L para el posaconazol), y una extensa distribución en tejidos. También su farmacodinamia es excelente: han demostrado buena actividad tripanocida tanto in vitro como in vivo. (Rodríguez-Morales, 2005).

Inhibidores de la Cisteín-Proteasa (ICP): Otro hallazgo en el estudio de la bioquímica de *T. cruzi* es que este parásito contiene un catépsin cisteín-proteasa tipo L llamada cruzipaína (cruzaina o gp51/ 57), responsable de la actividad proteolítica. Así, los inhibidores de estas proteasas bloquean la proliferación tanto de epimastigotes extracelulares como amastigotes intracelulares. Ellos detienen la metacicloogénesis in vitro. Esta proteasa, la cruzipaína, cumple un papel esencial en la supervivencia y crecimiento de *T. cruzi*. Se ha observado que los inhibidores de la cruzipaína pueden inducir cura parasitológica en modelos murinos de enfermedad aguda y crónica, con toxicidad mínima. En este grupo de drogas se encuentran las thio-alquil-semicarbazonas cíclicas, las cuales también inhiben la cruzipaína.

La propiedad en general que caracteriza a este grupo de drogas (ICP) es ser compuestos activos en el rango nanomolar contra cruzipaina pura, teniendo actividad tripanocida contra amastigotes intracelulares en células de mamíferos *in vitro*. Estos hallazgos demuestran entonces que la cruzipaina es un blanco terapéutico atractivo anti *T. cruzi*. Actualmente existe un nuevo inhibidor específico de la cruzipaina en estudio (Laboratorios Celera), el CRA-3316. (Rodríguez-Morales, 2005).

Inhibidores del metabolismo del pirofosfato (IMPP): Los Trypanosomatidae y los Apicomplexa tienen organelos especializados: acidocalcisomas, involucrados en el almacenamiento de polifosfato y cationes; y en la adaptación del microorganismo al estrés ambiental. El ingreso y salida de calcio de la matriz acidocalcisomal es regulado por diversos mecanismos: Ca^{2+} ATPasa, intercambiador $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$, Bomba H^{+} ATPasa, Pirofosfatasas. Las pirofosfatasas son entonces, otro blanco terapéutico de gran potencialidad por existir drogas con actividad contra estas sustancias. Los bifosfonatos (análogos de pirofosfato inorgánico metabólicamente inertes) son drogas usadas en el tratamiento de los trastornos de reabsorción ósea (como la osteoporosis).

En este grupo de drogas se encuentran: Alendronato, Risedronato, Pamidronato, Ibandronato, entre otras. El alendronato es de estas drogas, la única con muy poca actividad tripanocida, las demás han demostrado una potente actividad contra *T. cruzi in vitro* e *in vivo*.

Los bifosfonatos se acumulan selectivamente en el parásito y pueden inhibir enzimas involucradas en las reacciones del pirofosfato orgánico e inorgánico, como el farnesil-pirofosfato sintetasa y la escualeno sintetasa. En dicho grupo, el risedronato es una de las drogas que ha mostrado mejor actividad *in vitro* e *in vivo* contra *T. cruzi* (Rodríguez-Morales, 2005).

Ofloxacina: La ofloxacina es un inhibidor de la topoisomerasa II, una enzima esencial para las bacterias. Este medicamento bloquea la diferenciación de amastigotes en cultivos celulares. La ultramicroscopía muestra alteraciones del kinetoplasto de *T. cruzi*, lo que sugiere que la ofloxacina destruye al parásito. Los experimentos *in vivo* no han confirmado la utilidad de este inhibidor enzimático (Apt, 2010).

CONSIDERACIONES DEL VECTOR:

Características morfológicas de los triatominos.

Cabeza

Es de forma variada. Algunos tienen la cabeza más o menos alargada y otros algo cónica. Se inicia en un ápice simple no dividido, que les permite dar movimientos notablemente libres; además, puede ser relativamente lisa o estar provista de numerosos tubérculos.

La cabeza está dividida en dos regiones: una situada delante de los ojos denominada región anteoocular, y otra posterior llamada postocular; la región anteoocular suele ser más larga que la postocular (figura 6). La región anteoocular presenta lateralmente dos surcos longitudinales: las genas que limitan una región central estrecha y alargada a la cual se le denomina clipeo, y el epistoma; por detrás de los surcos y un poco por encima de las bases antenales se presentan dos pequeñas prominencias denominadas tubérculos o procesos frontales. La región postocular es relativamente corta, se estrecha hacia atrás para formar el cuello, y en ella se encuentran dos pequeños órganos casi redondeados, hialinos y transparentes que están situados lateralmente por detrás de los bordes superiores de los ojos, son los llamados ocelos, que en algunas hembras ápteras pueden ser rudimentarios o estar ausentes. El rostro, también denominado proboscis, es recto, alargado y delgado, formado por tres segmentos desiguales. Puede ser lanzado hacia delante, pero en reposo se encuentra debajo de la cabeza, llegando generalmente hasta el tórax. Su inserción se hace hacia delante de la región anteoocular (figura 7). Las antenas están compuestas por cuatro segmentos, de los cuales el primero es más corto que la cabeza. Se inician a ambos lados de la región anteoocular en los llamados tubérculos anteníferos, por delante y a la mitad de los ojos, casi en la extremidad cefálica. Los ojos compuestos son prominentes y anteceden al par de ojos simples u ocelos que, por lo general, están colocados en protuberancias, excepto en las ninfas, las cuales carecen de ellos.

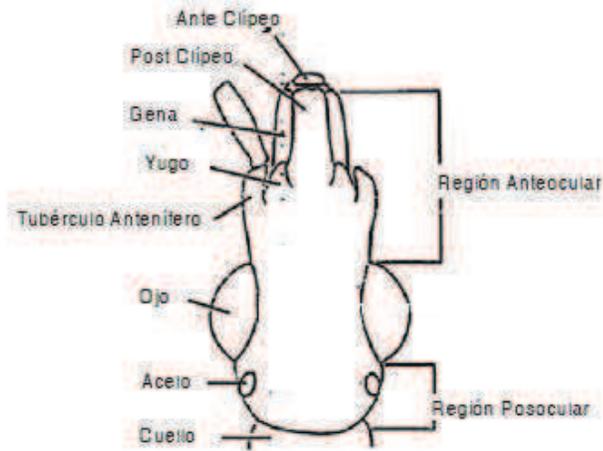


Figura 6. Vista dorsal de la cabeza de triatomo. Tomado de Cáceres, 2005.



Figura 7. Vista lateral de la cabeza de triatomo. Tomado de Cáceres, 2005.

Tórax

En esta sección la parte más visible es el protórax, el cual tiene una forma trapezoidal y su cara dorsal o pronoto se halla dividida en dos porciones: una anterior o lóbulo anterior y otra posterior o lóbulo posterior (figura 8). La línea divisoria entre los lóbulos generalmente se halla situada más próxima al ápice que a la base y, lateralmente, existen unas expansiones más o menos prominentes llamadas ángulos anteriores o posteriores, según su posición. En los ángulos anteriores o porciones laterales del lóbulo anterior, se encuentran

unos pequeños salientes en forma de tubérculos o espinas denominadas tubérculos pronotales anteriores, los cuales se dividen en: a) tubérculo distal y b) tubérculo lateral. Los ángulos posteriores o porciones laterales del lóbulo posterior carecen de salientes, pero su forma puede ser redondeada o aguda. En la parte que se encuentra por detrás del pronoto existe una estructura de forma triangular llamada escutelo, que es corto, cuyo ápice es simple o muchas veces provisto de un proceso elevado agudo o romo (figura 8). Ventralmente se encuentran el pro, meso y metasterno (figura 9). Lateralmente, el tórax presenta las pleuras que están divididas en tres pares: pro, meso y meta pleura (figura 10).

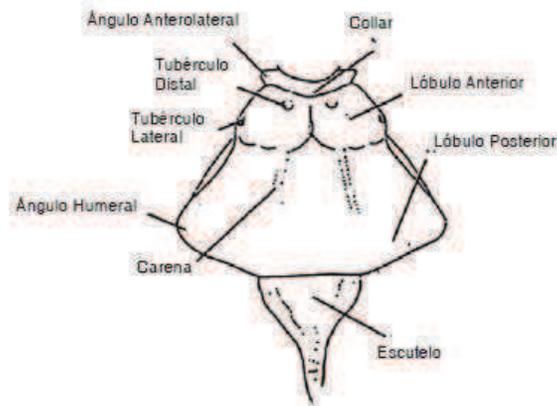


Figura 8. Vista dorsal del protórax y escutelo. Tomado de Cáceres, 2005.

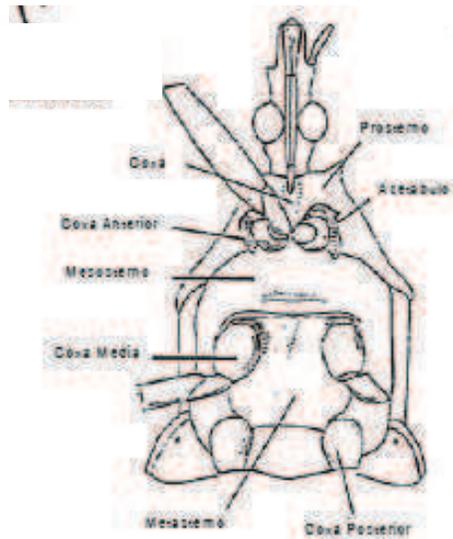


Figura 9. Vista ventral de la cabeza y tórax. Tomado de Cáceres, 2005.

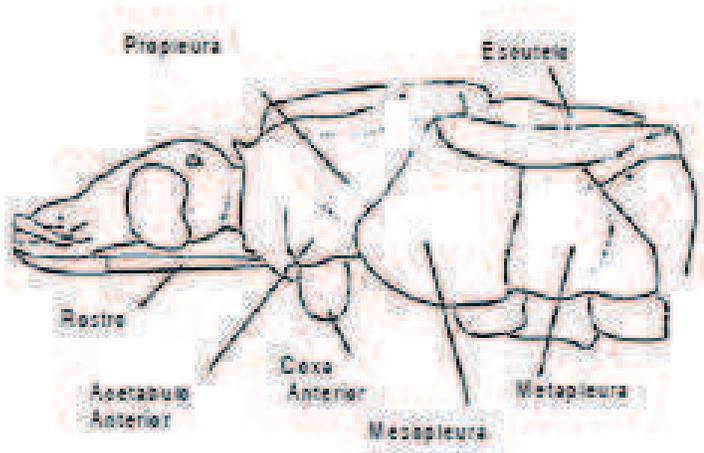


Figura 10. Vista lateral de la cabeza, protórax y escutelo. Tomado de Cáceres, 2005.

Las ninfas carecen de alas, mientras los adultos de ambos sexos generalmente son alados. Los hemiólitros o alas anteriores (figura 11) presentan un aspecto peculiar y cubren parcial o totalmente el abdomen, a la vez que presentan diseños típicos. El corio (mitad

basal) es mucho más grueso y oscuro que la membrana (mitad apical), la cual, por lo general, presenta manchas y está provista de tres venas longitudinales que incluyen cuatro celdas.

Las alas posteriores tienen cinco venas longitudinales, son membranosas y más cortas y finas que las anteriores (figura 11).

Las patas caminadoras son largas y delgadas, con las márgenes internas de los fémures inermes o provistas de espinas. Las tibias anteriores y medias de los machos casi siempre tienen fosas esponjosas y sencillas. Los tarsos están formados por tres segmentos y terminan en dos uñas (figura 12).

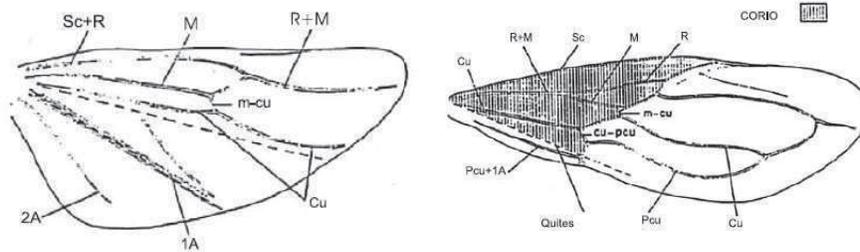


Figura 11. Ala posterior y ala anterior. Tomado de Cáceres, 2005.

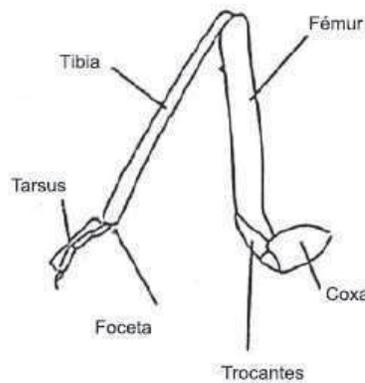


Figura 12. Pata anterior. Tomado de Cáceres, 2005.

Abdomen

Es alargado, más o menos ancho, con o sin marcas en su margen lateral al cual se le denomina conexivo. Consta de nueve segmentos en la hembra y diez en el macho; el primer segmento es muy reducido, carece de cerdas y casi siempre está desprovisto de otros apéndices abdominales. Los machos, en la parte extrema del abdomen, tienen una apariencia suavemente redondeada, cuando se les mira desde arriba (figura 13); mientras que en las hembras, la punta del abdomen tiene una apariencia lobulada o puntiaguda (figura 14). Hacia los lados y ventralmente se encuentran los estigmas o espiráculos respiratorios (Cáceres, 2005).

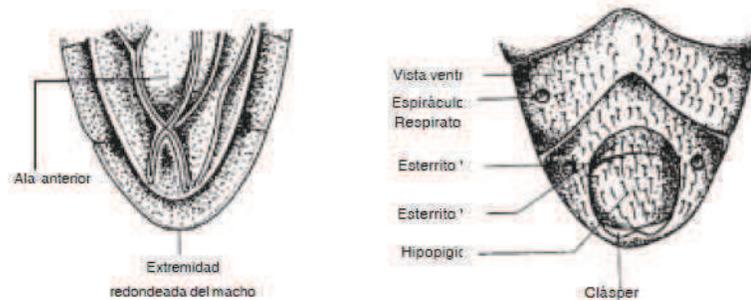


Figura 13. Vista dorsal del extremo posterior del macho. Vista ventral del extremo posterior del macho. Tomado de Cáceres, 2005.

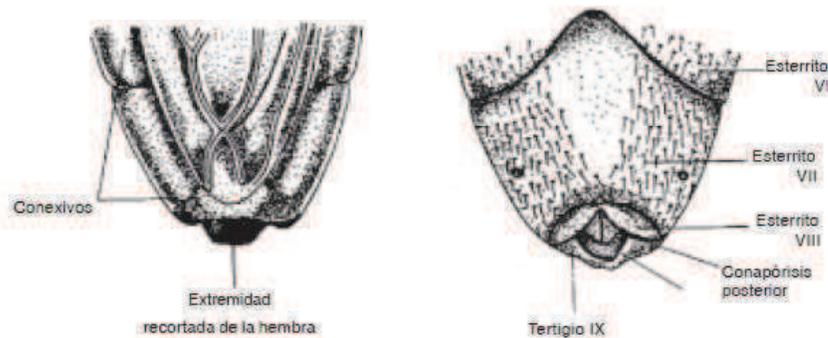


Figura 14. Vista dorsal del extremo posterior de la hembra. Vista ventral del extremo posterior de la hembra. Tomado de Cáceres, 2005.

La pesquisa entomológica es la base para toda la intervención de control sobre la transmisión natural de la enfermedad de Chagas. El vector es el único elemento constituyente de la cadena de transmisión vulnerable al control, o a la tecnología hasta aquí disponible de control. Conocer cuál es el vector, donde está, en que extensión y con qué frecuencia está presente en la habitación humana, es condición absolutamente imprescindible para la programación de las actividades de control (Silveira, 2003).

Los triatominos (subfamilia Triatominae) son una subfamilia de insectos perteneciente a la familia Reduviidae del orden Heteróptera/Hemíptera, conocidos a través de diversos nombres en diferentes regiones: vinchuca (desde Ecuador hasta la Patagonia), chipo (Venezuela), pito (Colombia), barbeiro (Brasil) y chinche (México), entre otros. Las aproximadamente 130 especies que conforman esta subfamilia son todas hematófagas, es decir, se alimentan de sangre de vertebrados. Excepcionalmente, algunas especies de triatominos se alimentan de otros invertebrados. La mayoría están distribuidas a lo largo de América, con algunas pocas especies presentes en Asia, África y Australia. Estos insectos generalmente conviven con vertebrados nidícolas de los cuales chupan sangre.

Los primeros triatominos fueron recolectados por exploradores en los viajes que se realizaron alrededor del mundo en el siglo XVIII. DeGeer, Drury y Fabricius describieron las primeras especies en 1773, seguidas por las descritas por Gmelin y Stoll en 1778. Latreille reconoció dos especies en 1811. Estas tempranas especies fueron ubicadas en los géneros conocidos en ese tiempo como *Cimex* y *Reduvius*. En 1832, Laporte los separó de otros reduviidos conocidos y propuso el nombre de Triatominos para este grupo ya que tenían antenas divididas en tres segmentos (Usinger, 1944).

En el “Informe de Un Grupo de Estudio” sobre la Enfermedad de Chagas publicado por la Organización Mundial de la Salud en 1960 se consideraba entre los vectores más importantes al *Triatoma infestans* por su gran dispersión en extensas áreas de América del Sur, con índices de infección que variaban del 20% al 30%. En la parte norte de América del Sur, el vector principal es el *Rhodnius prolixus*; en Panamá, el *R. pallenscens*; en ciertas

partes del Perú, el *Panstrongylus herreri* y en México algunas especies del grupo *T. phyllosoma*. La importancia de los reservorios silvestres como fuente de infección para el hombre parece ser pequeña sin embargo puede ser para los reservorios domésticos del *T. cruzi*, particularmente el perro o el gato (Biagi, 1960).

Todas las especies de triatomíneos son vectores potenciales de la enfermedad de Chagas pero aquellas especies (como *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*) que se han adaptado a vivir con los seres humanos son consideradas vectores importantes del parásito responsable de esta enfermedad, el *T. cruzi* (Reyes, 2009).

Los triatomíneos desarrollan una metamorfosis incompleta, es decir, son hemimetábolos. Los huevos, generalmente blancos, varían en forma y tamaño según la especie; en *R. prolixus* miden 2 mm de largo y 0.8 mm de ancho y en *T. infestans* son entre 2 y 3 veces más grandes. Una hembra pone aproximadamente 10 huevos por semana y estos eclosionan luego de aproximadamente dos semanas. Una ninfa de primer estadio, que semeja un adulto, sale del huevo y pasa sucesivamente a través de los estadios 2, 3, 4 y 5. Finalmente, el quinto estadio pasa a adulto adquiriendo dos pares de alas. Los estadios ninfales duran varias semanas y hasta meses en función de su alimentación y especie. Los estadios 1, 2 y 3 pueden realizar la muda con una ingesta sanguínea completa, pero los estadios 4 y 5 normalmente requieren comer más de una vez para mudar. Los adultos pueden vivir varios meses e incluso más de un año (Reyes, 2009).

Los triatomíneos transmiten al *T. cruzi*, principalmente en los meses de calor y su dinámica poblacional incluye la temperatura ambiental, su necesidad de alimentarse dependiendo de su estado de desarrollo y la fecundidad. En un modelo estocástico estructurado por etapas del *Triatoma infestans*, el principal vector de la enfermedad de Chagas se mostró que la abundancia de especímenes de *T. infestans* fluctúa estacionalmente con un pico en verano, en tanto que sus huevos muestran dos picos, uno en primavera y otro en otoño como resultado de dos picos correspondientes a la fecundidad femenina. La proporción de insectos adultos recientemente alimentados tiene un máximo en verano y cae a cero en invierno (Castañera, 2003).

Los huevos de triatomíneos poseen un opérculo apical y son perfectamente ovales desde su postura hasta la aparición de una hendidura el día 5 del desarrollo embrionario, presentando a partir de entonces una cara dorsal cóncava y una ventral convexa. Son simétricos, no presentan ni cuello, ni collar y se observa un borde corial en forma de anillo muy delgado, prácticamente contiguo al plano del opérculo y de la cáscara. En todas las zonas del corion se observan predominantemente “células hexagonales” con cierta variabilidad en las distintas partes del huevo. En la zona cefálica (opérculo) se aprecian diversos polígonos dispuestos en mosaico: principalmente hexágonos y pentágonos y en menor proporción, cuadriláteros. En la zona media se encuentran predominantemente células hexagonales y en la zona caudal el patrón geométrico es similar al del opérculo, es decir, con diversidad de formas geométricas (Visciarelli, 2004).

Los huevos son blancos al momento de la ovoposición, luego rosas y van adquiriendo un tono oscuro a medida que maduran. La eclosión ocurre generalmente de 10 a 40 días después.

El ciclo biológico es particularmente corto en *R. prolixus* pues puede completarse, desde el huevo al adulto, en menos de medio año en condiciones de humedad, temperatura, espacio y alimentación óptimas. Esta es una de las razones por la cual *R. prolixus* ha sido tan cotizado como modelo de diversos estudios fisiología y comportamiento. El mantenimiento de otras especies, tales como *P. geniculatus* y *T. dimidiata*, en el laboratorio, requiere de mayores cuidados.

Tanto las especies domésticas (que habitan en el domicilio o peridomicilio humano) como las especies selváticas, pueden transmitir el parásito de la enfermedad de Chagas a los seres humanos y a los mamíferos; las aves son inmunes al parásito. La enfermedad es transmitida principalmente de persona a persona a través de los triatomíneos: el parásito *T. cruzi* es llevado del vertebrado al insecto a través de la sangre, y del insecto al vertebrado a través de las heces del primero, y no a través de la saliva. Los triatomíneos viven principalmente en domicilios de gente pobre, hechos con materiales rústicos y donde hay poca higiene. Se puede reconocer la presencia de triatomíneos en una casa por sus deyecciones fecales, restos de muda, huevos o reconociendo los mismos insectos. Estos

generalmente dejan dos tipos de heces como líneas sobre las paredes de casas infectadas; unas son blancas con ácido úrico, otras son oscuras (negras) conteniendo residuos de sangre. Los huevos blanquecinos o los restos de muda pueden ser conseguidos en las ranuras de las paredes o en el suelo. Luego de chupar sangre estos individuos se mueven con dificultad y se les puede identificar fácilmente (Damborsky, 2001).

La colonización del hábitat humano por especies tales como *P. geniculatus*, que normalmente fueron consideradas "selváticas", evidencia la capacidad de adaptación de estas especies a ambientes poco habituales. La búsqueda del nicho doméstico por parte de las especies selváticas es consecuencia de la perturbación de su nicho selvático (deforestación, caza incontrolada de huéspedes naturales, etc.) que ha llevado a menoscabar sus fuentes de alimentación. Estas especies se han visto forzadas a recurrir a fuentes alimentarias en el domicilio humano, donde generalmente habitan familias de escasos recursos. Estos domicilios presentan condiciones que facilitan la colonización de los triatominos tales como, la cercanía de animales domésticos a las habitaciones y la infraestructura de las viviendas, que presentan grietas en las paredes y techos de palma que proveen refugio a los triatominos (Damborsky, 2001).

Los triatominos se agregan en refugios durante el día y salen en búsqueda de sangre bajo el cobijo de la noche, cuando el huésped duerme y el aire es fresco. Tanto los cinco estadios ninfales como los adultos son hematófagos. La mayor parte de las especies están asociadas con vertebrados nidícolas y son llamadas triatominos silvestres. Estos viven en madrigueras bajo la tierra con roedores o armadillos, o sobre los árboles con murciélagos, perezosos o rabipelados. Algunas pocas especies (5%) viven en habitaciones humanas o en sus alrededores (peridomicilio) con los animales domésticos, a estas se les conoce como especies domésticas. Muchas especies selváticas de triatominos están en proceso de domiciliación ("semidomésticas") (Miles, 2003).

Se han descrito más de 133 especies de triatominos. La gran mayoría se encuentran en el continente americano. Solo 13 especies se han identificado en el Viejo Mundo, 8 de los cuales están relacionados a *Triatoma rubrofasciata*, el cual se ha diseminado por los puertos del mundo con su huésped vertebrado, la rata (*Rattus rattus*). Las otras 5 especies

del Viejo Mundo pertenecen al inusual género *Linshcosteus* (Kelly, citado por Miles, 2003).

La distribución de triatominos en México es muy amplia, se reconoce al vector en prácticamente todo el territorio y de las 31 especies reconocidas de Triatominae, la mayoría se han encontrado infectadas con *T. cruzi*, por lo que el riesgo de infección, en la población rural del país, se estima en 370 000 individuos. Entre los animales domésticos el perro es el reservorio más importante de *T. cruzi* ya que se ha comprobado que los perros infectados incrementan el riesgo de la transmisión doméstica de *T. cruzi*. La infección por transfusión sanguínea es el segundo mecanismo de transmisión después de la vectorial, debido al incremento de la migración de personas de las zonas rurales endémicas a zonas urbanas donde no existen los triatominos, e incluso a zonas rurales no endémicas. De manera que la tripanosomiasis americana es otra de las enfermedades sociales o de la pobreza, y en México se podría considerar como riesgo de salud emergente (Sosa-Jurado, 2004).

A la fecha, se han descrito 133 especies de Triatominae en el mundo, de las cuales se conocen 31 en México. De ellas, 25 pertenecen al género *Triatoma* Laporte, que es el mejor representado y de mayor interés, ya que en él se incluyen la mayoría de las especies que se han encontrado infectadas naturalmente por *T. cruzi*; además de que un buen número presenta algún grado de asociación con la vivienda humana (Martínez et al, 2000). En el estudio presentado por Carmen Martínez se revisaron triatominos enviados de toda la República Mexicana; la muestra total analizada constó de 5 399 ejemplares, de los cuales 2 961 fueron adultos procedentes de los estados de Baja California Sur (9), Chiapas (1), Colima (1), Guanajuato (346), Guerrero (1), Hidalgo (221), Jalisco (1), Michoacán (22), Morelos (4), Nayarit (30), Oaxaca (267), San Luis Potosí (122) y Veracruz (1 936). Todos ellos pertenecieron a 13 especies. En el cuadro II se muestran las especies que fueron encontradas por estado. Los que enviaron más de 100 ejemplares fueron Guanajuato, Hidalgo, Oaxaca, San Luis Potosí y Veracruz. Las especies más abundantes fueron: *T. dimidiata* y *T. mexicana*. De los 2 961 adultos analizados, 327 ejemplares presentaron infección natural con *T. cruzi*, equivalente a 11%. De los 13 estados que enviaron muestras, sólo ocho presentaron chinches con infección natural, y las especies que mostraron los mayores porcentajes de infección fueron: *Triatoma pallidipennis*, *T. picturata*, *Rhodnius*

prolixus y *T. longipennis* (cuadro III). Cabe señalar que de los ejemplares estudiados 2 438 fueron ninfas y, de éstas, 173 se encontraron parasitadas, alcanzando una infección de 7.1% para *Triatoma* sp (Martínez et al. 2000).

Tabla 6. Distribución de las especies de triatominos por estado en México. Tomado de Martínez, C. et al 2000.

ESTADO	ESPECIE	No de Ejemplares
Baja California Sur	<i>Dipetalogaster máxima</i>	6
	<i>Triatoma rubida</i>	3
Chiapas	<i>Panstrongylus rufotuberculatus</i>	1
Colima	<i>Triatoma pallidipennis</i>	1
Guanajuato	<i>T. dimidiata</i>	1
	<i>T. longipennis</i>	3
	<i>T. mexicana</i>	342
Guerrero	<i>T. mazzotti</i>	1
Hidalgo	<i>T. dimidiata</i>	189
	<i>T. gerstaeckeri</i>	5
	<i>T. mexicana</i>	27
Jalisco	<i>T. longipennis</i>	1
Michoacan	<i>T. pallidipennis</i>	22
Morelos	<i>T. pallidipennis</i>	4
Nayarit	<i>T. longipennis</i>	24
	<i>T. picturata</i>	6
Oaxaca	<i>T. barberi</i>	21
	<i>T. dimidiata</i>	195
	<i>T. mazzotti</i>	15
	<i>T. pallidipennis</i>	1
	<i>T. phyllosoma</i>	33
San Luis Potosí	<i>Rhodnius prolixus</i>	2
	<i>T. dimidiata</i>	58
	<i>T. gerstaeckeri</i>	1
Veracruz	<i>T. mexicana</i>	63
	<i>T. dimidiata</i>	1934
Veracruz	<i>T. gerstaeckeri</i>	1
	<i>T. pallidipennis</i>	1

Tabla 7. Porcentaje de infección natural de triatominos con *Trypanosoma cruzi* por estado y por especie. Tomado de Martínez, C. et al, 2000).

ESTADO	ESPECIE	No de Ejemplares	Triatominos positivos a <i>T. cruzi</i>	Porcentaje de infección natural
Baja California Sur	<i>Dipetalogaster máxima</i>	6	0	0
	<i>Triatoma rubida</i>	3	0	0
Chiapas	<i>Panstrongylus rufotuberculatus</i>	1	0	0
Colima	<i>Triatoma pallidipennis</i>	1	0	0
Guanajuato	<i>T. dimidiata</i>	1	0	0
	<i>T. longipennis</i>	3	0	0
	<i>T. mexicana</i>	342	1	0.29
Guerrero	<i>T. mazzotti</i>	1	0	0
Hidalgo	<i>T. dimidiata</i>	189	18	9.52
	<i>T. gerstaeckeri</i>	5	0	0
	<i>T. mexicana</i>	27	1	3.70
Jalisco	<i>T. longipennis</i>	1	0	0
Michoacan	<i>T. pallidipennis</i>	22	8	36.4
Morelos	<i>T. pallidipennis</i>	4	2	50
Nayarit	<i>T. longipennis</i>	24	7	29.2
	<i>T. picturata</i>	6	5	83.3
Oaxaca	<i>T. barberi</i>	21	1	4.8
	<i>T. dimidiata</i>	195	8	4.1
	<i>T. mazzotti</i>	15	1	4.8
	<i>T. pallidipennis</i>	1	1	100
	<i>T. phyllosoma</i>	33	3	9.1
San Luis Potosí	<i>Rhodnius prolixus</i>	2	2	50
	<i>T. dimidiata</i>	58	3	5.2
	<i>T. gerstaeckeri</i>	1	0	0
Veracruz	<i>T. mexicana</i>	63	0	0
	<i>T. dimidiata</i>	1934	269	14
	<i>T. gerstaeckeri</i>	1	0	0
Varios estados	<i>T. pallidipennis</i>	1	0	0
	<i>Triatoma sp</i>	2488	173	7.1%

En el estado de Nuevo León, México se han encontrado triatominos de las especies *Triatoma gerstaeckeri*, *T. neotomae*, *T. lecticularia* y *T. protracta*, de los cuales *T. protracta* y *T. neotomae* se han colectado en hábitats silvestres, mientras que *T. gerstaeckeri* y *T. lecticularia* han sido detectados a nivel peri e intradomiciliarios (Molina-Garza et al. 2007).

En los Estados Unidos de Norteamérica se han descrito 12 especies, aunque el CDC solo describe 11, siendo las más importantes *Triatoma sanguisuga*, en la parte del Este, *Triatoma gerstaeckeri* en las regiones de Texas y Nuevo México, y *Triatoma rubida* y *Triatoma protracta* en Arizona y California (Bear, 2003).

La zoonosis con *T. cruzi* se extiende también a Norteamérica, los triatominos ocasionalmente invaden las áreas alrededor de las casas cuando hay perros o zarigüeyas, pero la enfermedad de Chagas por picadura de vector es muy rara en los Estados Unidos de Norteamérica. La transmisión de *T. cruzi* por transfusión de sangre o transplante de órganos fuera de las áreas endémicas es un hecho conocido y cada vez más frecuente con el aumento de los movimientos migratorios de poblaciones humanas de Latinoamérica (Miles, 2003).

CONSIDERACIONES DEL PARÁSITO

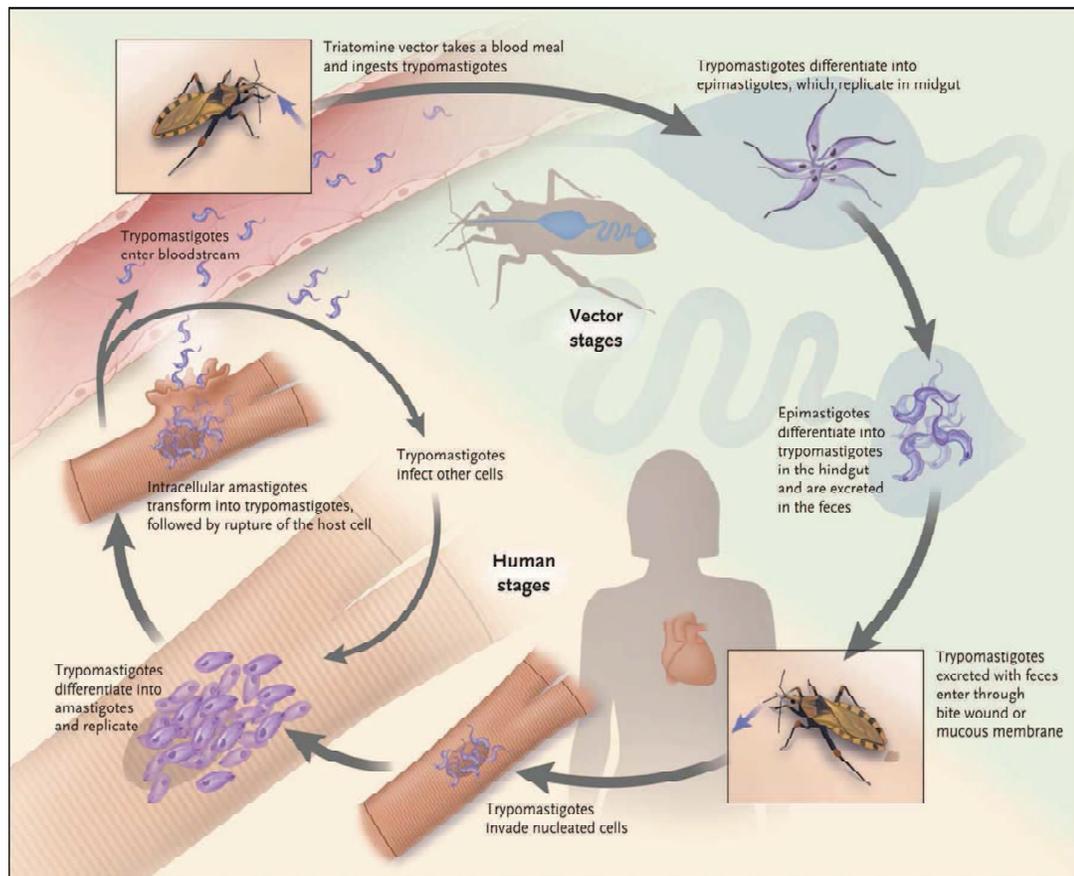


Figura 15. Esquema del ciclo de vida del *Trypanosoma cruzi*. Tomado de Bern C. N Engl J Med 2011;364:2527-2534.

Un insecto vector triatominos infectado se alimenta de sangre y libera la forma tripomastigoto en las heces cerca del sitio de la picadura. El tripomastigoto entra

al huésped a través de la herida producida por el rascado sobre la picadura, aunque también puede entrar a través de las mucosas intactas, como la conjuntiva (1). Las especies de triatomíneos infectadas con *T. cruzi* pertenecen a los géneros *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus*. En el interior del huésped, los tripomastigotos invaden las células cerca del sitio de inoculación donde se diferencian en amastigotes intracelulares (2). Los amastigotes se multiplican por fisión binaria (3) y se convierten en tripomastigotos los cuales son liberados en la sangre como tripomastigotos circulantes (4). Los tripomastigotos infectan células de una variedad de tejidos y se transforman en amastigotes intracelulares en nuevos sitios de infección. Los tripomastigotos circulantes no se dividen. La replicación ocurre solamente cuando el parásito entra en otra célula o es ingerido por otro vector. El triatomíneo se infecta cuando se alimenta de un ser humano o algún otro mamífero que contenga parásitos circulantes (5). El tripomastigoto ingerido por el vector se transforma en epimastigoto en el tubo digestivo del triatomíneo (7), y se ahí convierte en tripomastigoto metacíclico. El *T. cruzi* puede también ser transmitido a través de hemotransfusiones, trasplante de órganos, transplacentario y en accidentes de laboratorio.

En la naturaleza se pueden encontrar, al menos, dos grupos principales de poblaciones de *T. cruzi*. El primero está estrechamente vinculado con el ciclo doméstico y produce infecciones y alta morbilidad en los seres humanos (*T. cruzi* II). El segundo está asociado al ciclo silvestre y provoca infecciones más leves y menor morbilidad en los seres humanos (*T. cruzi* I). Existen algunas pruebas de que la distribución de estas poblaciones de parásitos está relacionada con las especies de insectos vectores y su comportamiento biológico y de que esto tiene importantes consecuencias epidemiológicas en la enfermedad de Chagas humana; el compromiso del tubo digestivo es más frecuente en el Cono Sur, mientras que, en los países andinos y centroamericanos, circula con mayor frecuencia *T. cruzi* I con, aparentemente, una mayor susceptibilidad a los medicamentos.. Se han obtenido aislamientos de *T. cruzi* a partir de reservorios mamíferos, de humanos y de triatomíneos de varias regiones de Bolivia, Brasil y Colombia, y se tipificaron mediante PCR como pertenecientes a los grupos I y II de *T. cruzi*. Se demostró una estrecha relación del grupo *T. cruzi* II con el ciclo doméstico, mientras que el grupo *T. cruzi* I se encontró preferentemente en el medio silvestre. Dado que todos los parásitos aislados a partir de personas seropositivas de regiones endémicas pertenecen al grupo *T. cruzi* II, se supone que este grupo tiene propiedades que favorecen la infección humana y promueven una mayor

parasitemia. En estudios recientes se ha demostrado que *T. cruzi* I circula con una frecuencia mayor en los países del norte del continente y en Centroamérica, donde es menos frecuente detectar casos de mega síndromes y manifestaciones clínicas de la enfermedad un poco más benignas (Guhl, 2005).

El reconocimiento de *T. cruzi* y la activación del sistema inmunológico durante la infección con este protozooario puede tener dos consecuencias principales: primero, controlar la infección en su fase temprana; y segundo, promover un proceso inflamatorio excesivo mediante la inducción de citocinas proinflamatorias y quemocinas, lo que conduce a los síntomas clásicos de la enfermedad de Chagas aguda, por ejemplo fiebre, esplenomegalia y miocarditis. (Campos, 2004).

- **Etapas en el ser humano.** El ciclo se inicia cuando un insecto hematófago infectado pica a un ser humano y defeca. Los *tripomastigotos metacíclicos* se transmiten en las heces. Entran en el huésped a través de la herida o por el cruce de las membranas mucosas. Cuando entran en una célula humana, se convierten en *amastigotos*. Esta es una etapa reproductiva a través de la mitosis. Después de la reproducción, una gran cantidad de amastigotos se encuentran en la célula infectada, formándose pseudoquistes. El amastigoto se convierte de nuevo en *tripomastigoto* y la célula se rompe. El tripomastigoto vuelve a infectar otra célula repitiéndose el ciclo de multiplicación.
- **Etapas en el insecto.** Cuando el insecto pica a un huésped infectado, algunos *tripomastigotos* pasan a él a través de la sangre. En el intestino del insecto, se transforman en *epimastigotos*, los cuales constituyen una segunda etapa reproductiva. Después de la reproducción a través de mitosis, los epimastigotes pasan al recto. Allí se convierten en *tripomastigotos metacíclicos* y se evacúan a través de las heces. Las heces pueden infectar a un nuevo huésped, repitiéndose el ciclo.

METODOLOGÍA

ESTUDIO CLÍNICO:

El trabajo se llevó a cabo con donadores del Banco de Sangre y pacientes del Hospital General de Zona con Medicina Familiar No 24 del Instituto Mexicano del Seguro Social en Nueva Rosita, Coahuila. Este hospital es el principal prestador de servicios médicos en la Región Carbonífera de Coahuila y atiende a una población derechohabiente de 140 mil personas. Cuenta con 82 camas censables y tiene un promedio de 12000 egresos al año.

La Región Carbonífera de Coahuila incluye cinco municipios, Sabinas, San Juan de Sabinas, Múzquiz, Juárez y Progreso. Se encuentra ubicada entre las latitudes $27^{\circ}51'36''$ – $28^{\circ}59'24''$ Norte y longitudes $101^{\circ}07'12''$ – $101^{\circ}14'24''$ Oeste a 320 m sobre el nivel del mar y tiene un clima semidesértico muy caluroso en verano y frío en invierno. (figura No. 16)

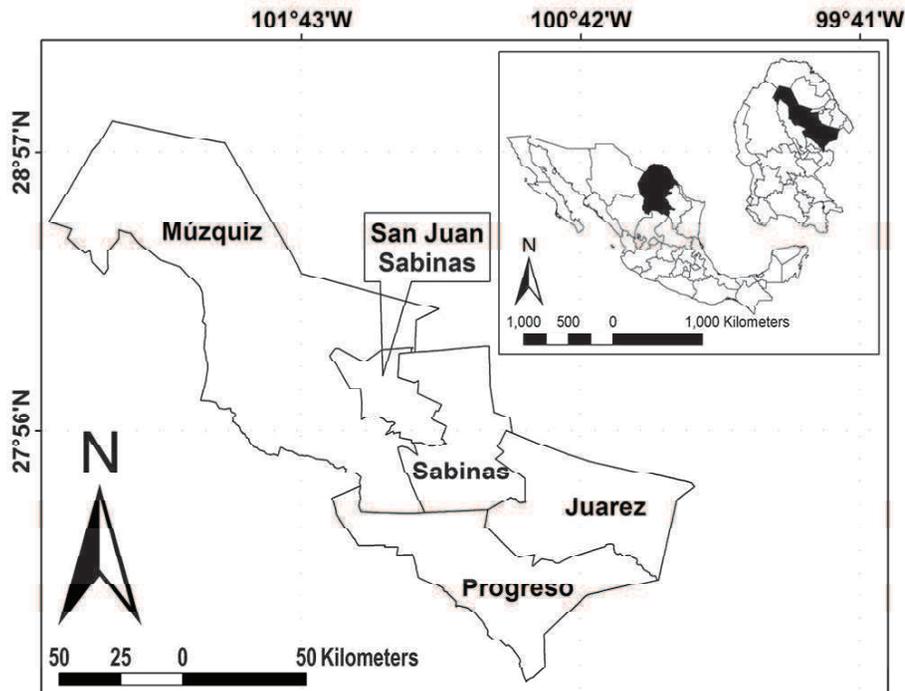


Figura 16. Ubicación de la región carbonífera de Coahuila, México.

De enero a junio del año 2011 se tomaron muestras a tres grupos de pacientes para determinar la presencia de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*: donadores de sangre, pacientes internados al servicio de cardiología y pacientes con diagnóstico de cardiomiopatía dilatada. A los casos positivos se les realizó un estudio epidemiológico que incluyó tomar muestras a los convivientes.

Aunque la invasividad es mínima y a las personas debían de tomárseles muestras de sangre ya sea por su situación de posibles donadores, de pacientes hospitalizados, o bajo vigilancia médica, se solicitó consentimiento informado. El trabajo fue aprobado por el Comité Local de Bioética bajo el folio 2012-506-25.

El grupo de donadores de sangre incluyó a 1615 personas asintomáticas que acudieron en forma voluntaria a donar sangre al Banco de Sangre del mismo hospital y cubrían los criterios de elegibilidad de la Norma Oficial Mexicana correspondiente (NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-003-SSA2-1993, "Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos").

Los pacientes que ingresaron a la sala de cardiología en el mismo período incluyeron a 160 personas con diversas patologías que requirieron tratamiento hospitalario. Se revisaron los expedientes de aquellas personas que tenían diagnóstico de cardiomiopatía dilatada. A través del archivo clínico se encontraron 12 personas con este diagnóstico. Fueron visitadas en su domicilio por el equipo de salud pública para tomar una muestra de sangre.

Las muestras de sangre fueron obtenidas mediante punción en sangre periférica, separado el suero por centrifugación a 1200 x g durante 10 minutos y alicuotado en tubos eppendorf y congelado a -20oC hasta su uso.

Se utilizaron dos pruebas para la determinación de anticuerpos:

1. Inmunoensayo Ligado a Enzima (Biokit – ELISA Chagas) es un método inmunoenzimático en el cual se han recubierto los pocillos de una placa de microtitulación con antígenos recombinantes que representan 4 epítomos inmunodominantes de *T. cruzi*. El procedimiento se llevó a cabo según las especificaciones de Biokit (Werfen, Barcelona, España). El estudio tiene una sensibilidad del 100% y una especificidad de 99.24% según el propio fabricante. (Otani, 2009).

2. Hemaglutinación Indirecta, conocida también como hemaglutinación reversa pasiva con Chagatest R (Wiener Laboratorio, Rosario, Argentina), que se basa en la propiedad de los anticuerpos de producir aglutinación específica en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con los correspondientes antígenos. Los especímenes fueron tratados con 2-mercaptoetanol (2-ME) a una dilución de 1:40, acorde a las instrucciones del fabricante. Los títulos de 1:16 se consideraron positivos. (Vega-Chirinos, 2006, Neal, 1970).

El inmunoensayo ligado a enzima se utilizó como prueba de tamizaje. Aquellos que presentaron resultados positivos se les realizó la prueba de hemaglutinación indirecta.

A los casos positivos se les aplicó un estudio epidemiológico que incluía, historia clínica, antecedentes de hemotransfusión, viajes a zonas endémicas, radiografía de tórax, electrocardiograma, datos sobre la vivienda, actividades de riesgo para tripanosomiasis americana, identificación fotográfica de triatominos y toma de muestra sanguínea a los convivientes.

ESTUDIO DE VECTORES:

Se buscó el vector en el interior de las viviendas, en peri domicilio de los casos positivos y en campo abierto.

Se examinaron los ambientes internos (intradomicilios) y externos (peridomicilios) de las viviendas de los pacientes positivos para enfermedad de Chagas así como los correspondientes a 100 metros alrededor en búsqueda de triatominos. Se preguntó a las

personas que habitan las viviendas si habían visto o encontrado triatominos o si han sido picadas mientras descansaban en el interior de sus viviendas.

La búsqueda de triatominos se realizó con inspección visual y se recolectaron en forma manual ejemplares para su identificación y determinar su estado de madurez e infección con *T. cruzi* de la forma descrita anteriormente. La búsqueda se realizó durante 30 minutos para estandarización de resultados.

BÚSQUEDA DE TRIATOMINOS EN CAMPO ABIERTO-

Se difundió información en escuelas primarias, secundarias y preparatorias así como en los comisariados ejidales de la región carbonífera distribuyendo volantes con imágenes de triatominos.

Los vectores se buscaron en forma directa y manual en donde fue posible en los ambientes intra y peridomiciliarios y se utilizaron trampas diseñadas para tal efecto según las descritas por Noireau et al. (2002) para la búsqueda en ambientes selváticos. Estas trampas consistieron en contenedores de 250 a 500 ml con un ratón vivo en su interior aislado mediante malla de alambre y con cinta adhesiva de doble lado, de tal forma que si un insecto es atraído por la carnada, quedará atrapado con el pegamento



Sistema de trampas con ratón y cinta doble adhesiva

Figura 17. Trampa para triatominos con malla de alambre y tela adhesiva de doble lado.

DETERMINACIÓN DE LA INFECCIÓN CON *T. cruzi*:

Se seleccionaron ejemplares adultos para su estudio parasitológico y así determinar la infección con *T. cruzi*.

Examen en fresco: Al ejemplar seleccionado se le tomó del tórax con una pinza, luego se frotó la parte dorsal y ventral del abdomen con un hisopo humedecido en solución salina con antibiótico y se colocó en posición dorsoventral sobre un portaobjeto, a unos 0,5 cm de la parte final del abdomen, después se dejaron caer dos gotas de solución salina. Luego, con otra pinza limpia se presionó en el octavo y noveno segmento abdominal con la finalidad de que expulse las heces. Con otra pinza limpia, realizando movimientos suaves en un solo sentido, se homogenizaron las heces expulsadas con la solución salina.

Sobre la muestra se colocó un cubre objeto limpio, para ser observado al microscopio con aumento de 10X y 40X. La observación se inició en uno de los extremos de la muestra, luego a seguir en una sola dirección ya longitudinal u horizontal; una vez llegada a la parte final de la muestra se avanzó al campo siguiente y se retrocedió, siguiendo de la misma forma hasta observar toda la muestra.

Examen con tinción de Giemsa: Se dejó secar la muestra y se fijó con unas gotas de alcohol metílico y nuevamente se seca al medio ambiente. Una vez seca, se cubrió toda la muestra con el colorante Giemsa durante 20 minutos. Transcurrido el tiempo se lavó la lámina coloreada, con la finalidad de eliminar el exceso de colorante. Se secó al medio ambiente. Se observó la muestra a 10 X, 40 X y con el objetivo de inmersión a 100. Se examinaron todos los triatomos capturados para determinar el grado de infección.

RESULTADOS

ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA:

La población estudiada tuvo las siguientes características: de un total de 1615 donadores voluntarios cuyas edades estuvieron comprendidas entre los 18 y 65 años. Se encontró que el 88% eran hombres (n= 1421) y el restante 12%, mujeres (n= 194), la edad promedio de la muestra fue 37 años. Los pacientes hospitalizados en el servicio de cardiología eran 56 mujeres (35%) y 104 hombres (65%), con un promedio de edad de 69.4 años. En el grupo de pacientes con diagnóstico de cardiomiopatía dilatada se encontraron 14 casos, de ellos 8 mujeres (54%) y 6 hombres (46%) con una edad promedio de 60.9 años. Solamente uno de los convivientes muestreados se reportó como positivo, la cual fue una niña de cinco años de edad. Todos los casos mostraron reactividad a las diluciones consideradas como positivas tanto para ELISA como para la HAI.

Los resultados de este estudio se resumen en la tabla 8. De un total de 1615 personas asintomáticas que fueron analizadas como posibles donadores en banco de sangre, cinco resultaron positivas. Por otra parte, del total de 160 pacientes hospitalizados al servicio de cardiología se encontraron dos positivos. Finalmente, del tercer grupo de 14 pacientes con diagnóstico de cardiomiopatía dilatada, se encontró que tres de ellos fueron positivos. Hubo una muestra positiva derivada del estudio domiciliario de contactos. Los niveles de seroprevalencia encontrados fueron de 0.31%, 1.25 y 21.14% en individuos asintomáticos, en pacientes cardiológicos y en pacientes con cardiomiopatía dilatada, respectivamente. La tabla 9 muestra las características individuales de los casos positivos. Adicionalmente, la distribución geográfica de los casos en la zona estudiada se muestra en la figura 18.

El estudio epidemiológico de los casos positivos reveló que ninguno era originario o había viajado a zonas endémicas de tripanosomiasis americana. Sus viviendas estaban construidas de block y cemento y no se encontraron triatominos en el interior ni alrededor de ellas. Solo uno de los casos positivos de cardiomiopatía dilatada había sido hemotransfundida dos años previos a este estudio y correspondió a una mujer de 60 años de edad y quien ha radicado en esta región toda su vida y cuya causa de transfusión fue por anemia condicionada a metrorragia.

Dado que todos los casos son derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social, su estado socioeconómico es aproximadamente de clase media a media baja, ninguno se encuentra en niveles de pobreza. Se interrogó acerca de actividades de riesgo tales como ir de campamentos, dormir al aire libre o similares y las respuestas fueron negativas. También se les mostraron fotos de triatomíneos para su identificación y ninguno los reconoció.

Tabla 8. Se analizaron tres grupos de pacientes, voluntarios asintomáticos en el banco de sangre, pacientes hospitalizados en la sala de cardiología y pacientes con diagnóstico de cardiomiopatía dilatada. La tabla muestra los resultados en cada uno de ellos.

Origen	No de Casos	Positivos	Seroprevalencia (%)
B. de Sangre	1615	5	0.31
Hospital	160	2	1.25
Cardiomiopatía	14	3	21.42

Tabla 9. Se muestran aquí las características principales de los casos con resultados serológicos positivos para *T. cruzi*. El diagnóstico, si habían tenido hemotransfusiones previas, viajes a zonas endémicas o si reconocían al vector cuando se les mostraba una imagen de estos.

No Progresivo	Edad	Sexo	Detección	Diagnóstico	Hemotransfusiones Previas	Viajes a Zonas Endémicas	Reconocimiento de Triatominos
1	61	Femenino	Domicilio	Cardiomiopatía Dilatada	Negativo	Negativo	Negativo
2	60	Femenino	Domicilio	Cardiomiopatía Dilatada	Positivo hace 2 años	Negativo	Negativo
3	76	Masculino	Domicilio	Cardiomiopatía Dilatada	Negativo	Negativo	Negativo
4	60	Femenino	Hospital	Insuficiencia Cardíaca	Negativo	Negativo	Negativo
5	76	Masculino	Hospital	Insuficiencia Cardíaca	Negativo	Negativo	Negativo
6	25	Masculino	Banco de Sangre	Asintomático	Negativo	Negativo	Negativo
7	26	Masculino	Banco de Sangre	Asintomático	Negativo	Negativo	Negativo
8	35	Masculino	Banco de Sangre	Asintomático	Negativo	Negativo	Negativo
9	53	Masculino	Banco de Sangre	Asintomático	Negativo	Negativo	Negativo
10	42	Masculino	Banco de Sangre	Asintomático	Negativo	Negativo	Negativo
11	5	Femenino	Domicilio	Asintomático	Negativo	Negativo	Negativo

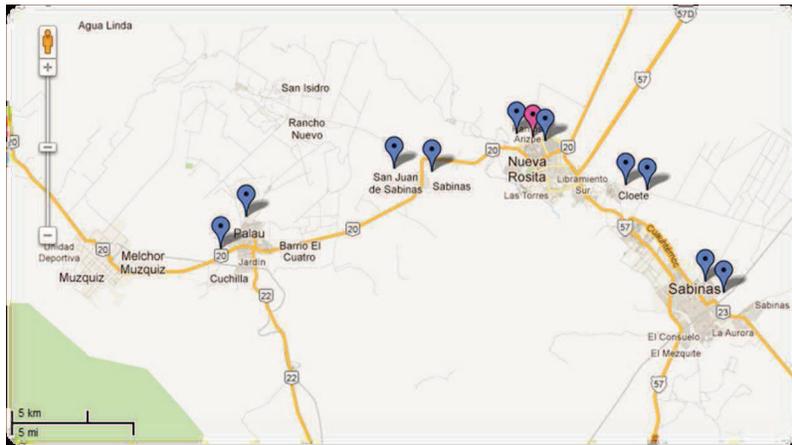


Figura 18 Ubicación geográfica de los casos con enfermedad de Chagas en la región carbonífera de Coahuila en el período de enero a junio de 2011. La imagen fue tomada de Google Earth®. Las marcas en azul corresponden a la ubicación de cada caso. La marca roja representa un caso positivo encontrado durante el estudio epidemiológico.

CARDIOMIOPATÍA CHAGÁSICA:

Los siguientes son dos casos clínicos detectados en nuestro hospital durante la pesquisa de anticuerpos contra la enfermedad de Chagas que realizamos durante el 2011. Presentamos las historias clínicas, radiografías y electrocardiogramas tal y como se encuentran en sus expedientes.

Caso No 1.

Paciente masculino de 76 años de edad con diagnóstico de insuficiencia cardíaca secundaria a cardiomiopatía dilatada.

Nació en el ejido de Santa María en el municipio de San Juan de Sabinas en Coahuila y siempre ha vivido ahí.

De ocupación minero durante 35 años.

Se le diagnosticó cardiopatía mixta hace 4 años y desde hace 2 con marcapasos (aparentemente se detectó enfermedad del nodo sinusal).

Niega hemotransfusiones.

Tiene los siguientes antecedentes de interés.

Tabaquismo iniciado a los 17 años de edad 1 cigarro al día suspendido hace 1 año.

Etilismo a los 17 años 6 cervezas cada 8 días suspendido hace 1 año.

Cirugía de hernias inguinales, la primera hace 3 años, la segunda hace 6 meses.

Hipertensión Arterial Sistólica de 8 años de evolución en tratamiento con nifedipino, enalapril, losartane hidrocloreotiazida. Tiene antecedente de enfermedad cerebro vascular hace 2 años sin secuelas.

Factores Cardiacos de Riesgo: Género, edad, sedentarismo, tabaquismo, alcoholismo e hipertensión arterial.

Su padecimiento actual lo inicia hace tres años antes con cuadros repetitivos de síncope sin acompañantes vagales o adrenérgicos. Se detectó bradicardia extrema con crisis de Stocke Adams al parecer. Se colocó marcapasos temporal sin complicaciones por acceso transyugular derecho. Posteriormente se realiza colocación de marcapaso permanente sin presentar complicaciones. Paciente se egresó clínica y hemodinámicamente estable.

Exploración Física: 130/70 mmHg, pulso de 50 latidos por minuto y una frecuencia respiratoria de 18 por minuto.

Paciente tranquilo, consciente, orientado, con buena coloración e hidratación. No soplos carotídeos, pulsos simétricos, con ingurgitación yugular grado III. Campos pulmonares adecuada entrada y salida de aire, sin agregados patológicos. Precordio rítmico de buena intensidad, no soplos, con frecuencia cardíaca de 54 latidos minuto al momento de examinarlo, abdomen con peristalsis presente, asignológico, no megalias, extremidades sin edema, con pulsos simétricos.

Electrocardiograma:

Fecha 10-07-09 en DII y AVF con imagen de fibrilación auricular que alterna con bradicardia sinusal y extrasístoles ventricular aisladas.

Fecha 20-07-09 Ritmo sinusal con frecuencia cardíaca de 54 latidos por minuto, eje normal, onda P 0.4, PR 0.16, transición en V1 y V2, no datos de lesión o isquemia.

ECOCARDIOGRAMA: Dilatación de cavidades izquierdas y fracción de eyección 35%.

El 22 de marzo de 2011 se detecta ELISA positivo para enfermedad de Chagas. El 12 de septiembre se reporta una hemaglutinación indirecta positiva para *Trypanosoma cruzi*.

Caso No. 2

Paciente de sexo femenino de 60 años de edad con diagnóstico de cardiomiopatía dilatada, insuficiencia mitral severa e hipotiroidismo.

Antecedentes.

Hipotiroidismo de 2 años de diagnóstico controlado con levotiroxina 1 cada día. Refiere hemotransfusión hace dos años por síndrome anémico. Niega cirugías ni alergias.

Historia Cardiovascular:

Refiere cardiopatía dilatada de 2 años de evolución en control por cardiología de su Hospital. Hace 6 meses fue hospitalizada por deterioro de su clase funcional documentándose cardiopatía dilatada. Tratamiento: ácido acetilsalicílico, metoprolol , enalapril, furosemida, espironolactona.

Con cardiopatía dilatada de 2 años en control por cardiología de su hospital refiere que desde hace 6 meses presenta disnea de medianos esfuerzos que ha progresado a ser de pequeños esfuerzos, hasta ser de reposo, y presencia de ortopnea (utiliza para dormir 4 almohadas), con edema de extremidades inferiores. Valorada en la consulta externa de cardiología de este hospital siendo estratificada con gamagrama cardiaco que reporta isquemia severa en varios segmentos así como defecto reverso inferior. Se envía para CTT cardiaco el cual se realiza sin encontrar lesiones angiográficas con FEVI deprimida.

Actualmente sin datos de angor o disnea.

Exploración física: Presión arterial 110/70, frecuencia cardiaca 70 latidos por minuto, frecuencia respiratoria 18 respiraciones por minuto, temperatura 36°C. Consciente, tranquila, regular estado de hidratación, cuello con ingurgitación yugular grado III, pulsos carotídeos sin presencia de soplos, tórax con adecuados murmullo vesicular, precordio rítmico de buena intensidad sin desdoblamientos, soplo sistólico en foco mitral II/VI, campos pulmonares con adecuado murmullo vesicular, sin agregados, abdomen blando, depresible sin datos de irritación peritoneal, extremidades sin datos de edema, pulsos periféricos presentes y normales, adecuado llenado capilar. No presencia de sangrado o hematoma en sitio de punción.

Ecocardiografía transtorácica: Dilatación severa del ventrículo izquierdo, movilidad global disminuida; fracción de eyección del ventrículo izquierdo del 30%, insuficiencia mitral severa área de jet de regurgitación de 13.4 cm², vena contracta de 0.8 cm², válvula aórtica de morfología y funciones conservadas, insuficiencia pulmonar leve, insuficiencia tricuspídea moderada, gradiente reverso de 60 mm de hg, dilatación severa de aurícula izquierda, leve de aurícula derecha, dilatación leve del ventrículo izquierdo, pericardio normal.

GAMAGRAMA: Ventrículo izquierdo con dilatación moderada severa, isquemia severa anterior medial y basal, inferoapical de ápex. Defecto reverso inferior medial y basal.

Cateterismo Cardíaco: Tronco de la coronaria izquierda vaso de 3 mm sin lesiones angiográficas significativas con flujo posterior a trombolisis (TIMI) de 3, arteria circunfleja vaso de 3 mm sin lesiones angiográficas significativas con flujo TIMI de 3, coronaria derecha vaso de 3.5 mm sin lesiones angiográficas significativas con flujo TIMI 3.

Ventriculografía: Movilidad global y segmentaria anormales, hipocinesia generalizada severa con fracción de eyección del ventrículo izquierdo del 10%, Insuficiencia mitral grado III/IV de Seller.

Presiones de cavidades derechas e izquierdas:

Aórtica 135/85 con presión arterial media de 100 mmHg

Presión capilar pulmonar 32 mmHg onda v de 50 mmHg

Ventrículo izquierdo: 120/20 mmHg

Tronco de la arteria pulmonar: 70/32 PAMP 46 mmHg

Ventrículo derecho: 47/25 mmHg

Aurícula derecha: 8 mmHg onda v 25 mmHg

ACS 1.9 m²

Vo₂ 239 ml

Gasto cardíaco 2.6 litros por metro de superficie corporal.

Resistencia vascular sistémica: 2830 d.s.cm⁻⁵

Resistencia vascular pulmonar: 430 d.s.cm⁻⁵

Oximetría arteria pulmonar 13%; aorta 94%

Diagnóstico: Cardiomiopatía dilatada / Insuficiencia mitral severa. Hipotiroidismo.

Plan:

Ranitidina 150 mg VO cada 12 h

Metoprolol 25 mg VO cada 12 hr

Enalapril 5 mg VO c/12 hr.

Furosemida 40 mg VO cada 24 hr por la mañana.

Digoxina 0.25 mg VO c/24 hrs

Espironolactona 25 mg VO c/12 hrs.

Levotiroxina 100mg VO c/24 hrs en ayunas.

Nitroparche de 8 am a 8 pm

Pravastatina 20 mg VO c/24 hrs.

Elisa positivo para enfermedad de Chagas en febrero de 2011. Notificación del INDRE para IFI positiva el 22 de marzo de 2011. El 12 de Septiembre de 2011 se reportaron positivas las pruebas de hemaglutinación indirecta.

Imágenes de los casos clínicos:

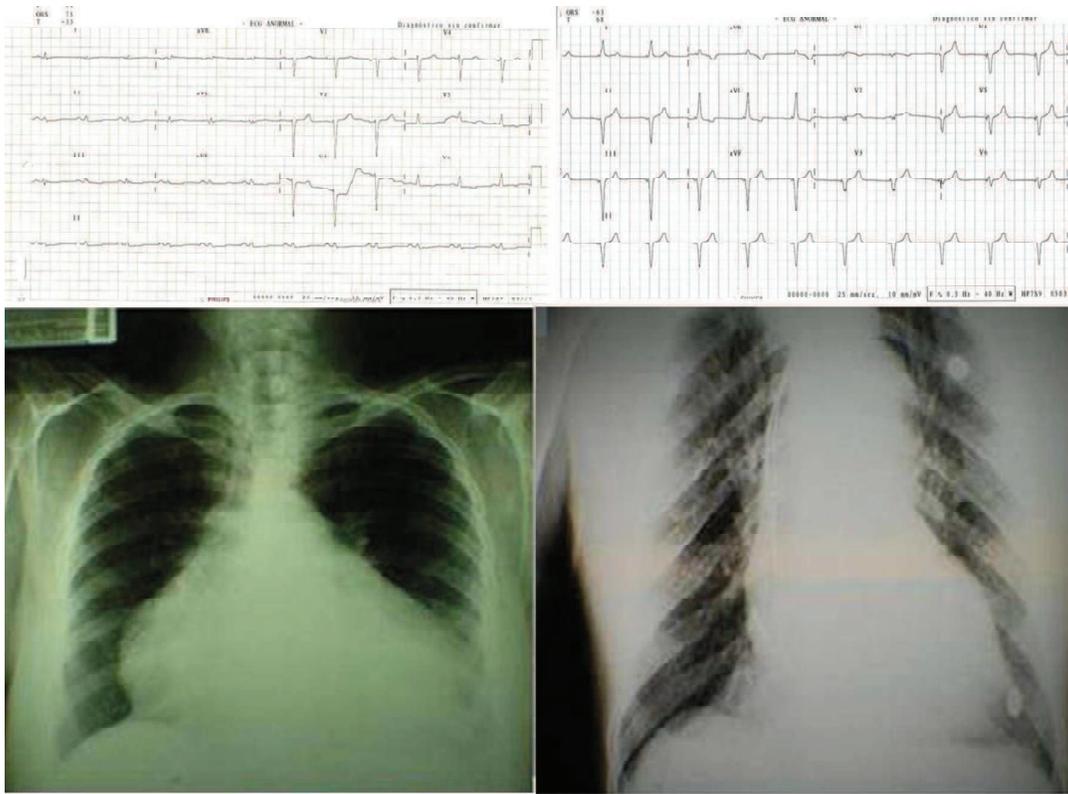


Figura 19: A la izquierda el Caso 2, el electrocardiograma muestra crecimiento de cavidades izquierdas sin evidencia de trastornos de ritmo o conducción. La radiografía postero-anterior con crecimiento cardiaco grado IV a expensas de todas las cavidades. A la derecha el Caso 1, Se observa en la parte el trazo electrocardiográfico con marcapasos implantado y en la radiografía antero-posterior con cardiomegalia grado III y redistribución del flujo sanguíneo pulmonar.

BÚSQUEDA DE TRIATOMINOS:

Las inspecciones de domicilios y peridomicilios no revelaron la presencia del vector por lo que los índices de infestación se reportan como negativos. El estudio en campo abierto mostró la presencia de dos especies de vectores, *Triatoma gestaerckeri* y *Triatoma rubida*.

Se colectó *T. gerstaeckeri* en Coahuila cuyos datos de colecta son: Ocampo [estación biológica en La Sierra del Carmen, (102° 23' 47" N, 27° 18' 50" O, 1182 msnm, fecha: 28/05/2012 al 01/06/2012, 6 ♂ 12 ♀, col. personal de la estación campo de CEMEX en Sierra del Carmen]. Adicionalmente se colectaron cuatro especímenes de *T. gerstaeckeri* en el municipio de Muzquiz, Coahuila con documentación de haber atacado por lo menos a dos personas (imágenes).

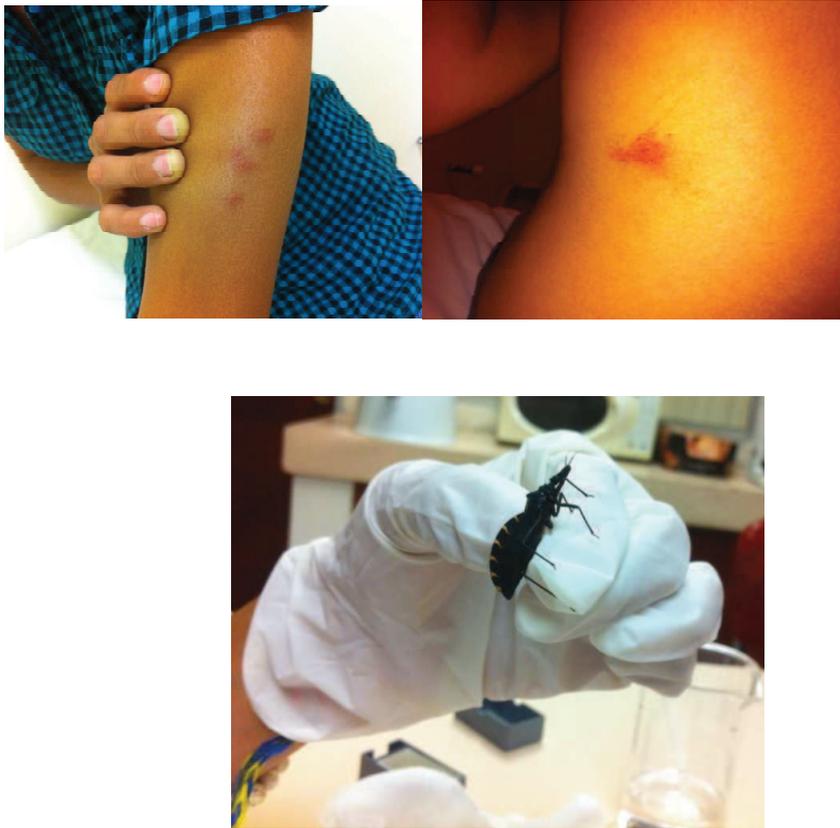


Figura 20: Arriba: Paciente de sexo femenino que muestra dos sitios de picadura de triatominos, en región posterior de codo izquierdo y en región lumbar también izquierda. Muestran las características de eritema, mácula enrojecida y múltiples sitios de punción. Abajo: Ejemplar de *Triatoma gerstaeckeri* al momento de tomar muestra para examen en fresco de heces buscando *T. cruzi*.

Se encontró también en el municipio de Ocampo, Coahuila, presencia de *Triatoma rubida*. Los especímenes examinados de *T. rubida* (Uhler) (fig. 1d-f) en Coahuila tienen los siguientes datos de colecta: Ocampo [estación biológica en La Sierra del Carmen, (102° 23' 47" N, 27° 18' 50" O, 1182 msnm), fecha: 09/05/2012, 1 ♂, 9 ♀. col. H. Sotelo Gallardo. Colecta nocturna al interior de una habitación en la estación. Colecta directa]. El hallazgo de *T. rubida* en Coahuila, representa el primer registro de la especie para el citado estado. El material de *T. rubida* se encuentra preservado en alcohol al 70% en viales de plástico en un congelador a -20°C, dos hembras de *T. rubida* se depositaron como referencia en la colección entomológica de la colección antes mencionada.

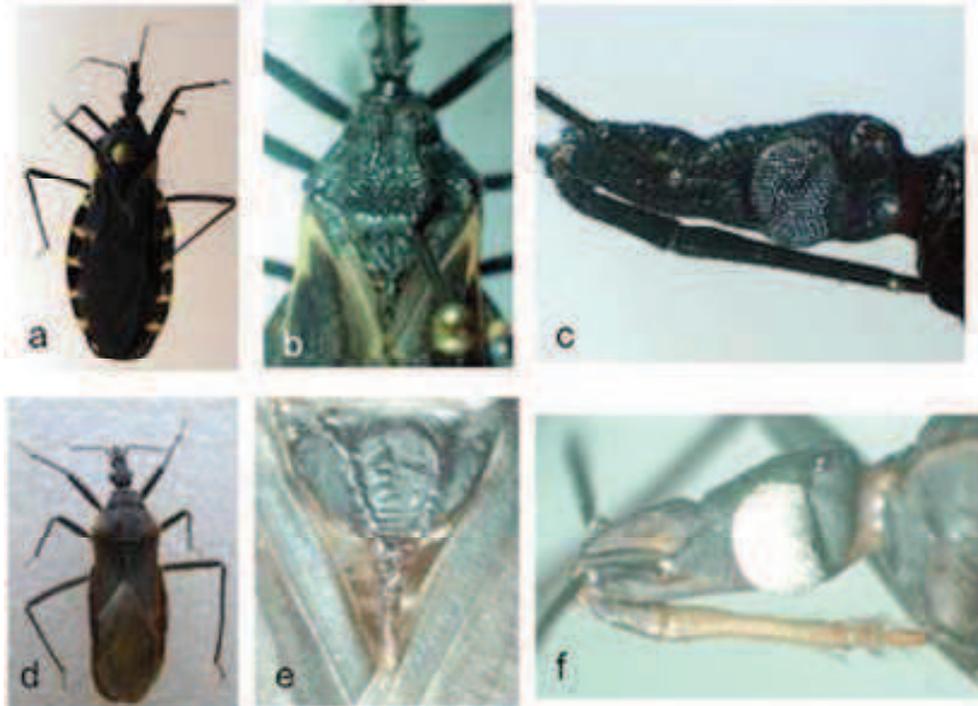


Figura 21. (a) vista dorsal de un adulto macho de *Triatoma gerstaeckeri*, (b) vista dorsal del escudo torácico, (c) vista lateral de la cabeza y segmentos de la probóscide, (d) vista dorsal de un adulto hembra de *Triatoma rubida*, (e) vista dorsal del escudo torácico, (f) vista lateral de la cabeza y segmentos de la probóscide.

Los triatominos encontrados se compararon con las características morfológicas descritas en la literatura para su identificación. Las siguientes son las características clave y fotografías de los triatominos de Nuevo León y de los Estados Unidos que se utilizaron

como modelo de identificación. Estos están publicados en la página del Center of Diseases Control de los EUA, (www.cdc.gov.mx) y en las claves descritas por Lent y Wygodzinsky (1979).

Características de las especies encontradas

***Triatoma gerstaeckeri*:**

- 1) Marcas amarillas que se extienden horizontalmente en los segmentos abdominales.
- 2) Cabeza larga, aplanada en la parte superior.
- 3) Partes de la boca relativamente libres de pelo, solamente con vellosidades largas en la punta.
- 4) Protórax uniformemente negro.
- 5) Punta del escutelo larga y estrecha.
- 6) Patas esbeltas y largas.



Figura 22 . *Triatoma gerstaeckeri*,

***Triatoma rubida*:**

1. Margen pálido alrededor del borde externo del abdomen, el abdomen aplanado longitudinalmente por debajo.
2. El primer segmento de la antena alcanza o sobrepasa la punta de la cabeza.
3. Partes de la boca con pelos largos en la punta.
4. En general su color es rojizo marrón claro a marrón oscuro.
5. El protoxax es oscuro con áreas claras a los lados.

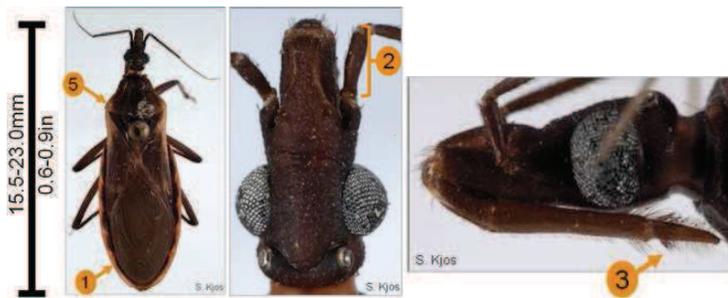


Figura 23. *Triatoma rubida*.

El examen en fresco del contenido intestinal de los triatominos recolectados con vida fue negativo para *T. cruzi* en cuatro ejemplares de *Triatoma gerstaerckeri* y en un ejemplar de *Triatoma rubida*.

En ambiente silvestre a inmediaciones de una cueva de murciélagos con coordenadas de 26° 59' N y 102° 03' O dentro del municipio de Cuatrociénegas, Coahuila se encontró un ejemplar de triatoma en estadio de ninfa V; se lleva cría de este ejemplar para la identificación y examen de microscopía tradicional en búsqueda de *Trypanosoma cruzi*. El triatomino colectado se mantuvo vivo durante ocho meses, de agosto de 2012 a marzo de 2013, con una temperatura promedio de 23° C y una humedad relativa de 25%; la fuente de alimentación fue un ratón albino (*Mus musculus*). Se obtuvieron heces por compresión abdominal y estas se observaron al microscopio óptico (400 X) resultando negativas para *T. cruzi*. El triatomino logra pasar a estadio adulto correspondiendo a una hembra de *Triatoma rubida* (Uhler).

DISCUSION

Seroprevalencia: La región noreste de México (estados de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas) no se considera como parte usualmente como parte del área endémica de la enfermedad de Chagas en México y por esta razón, la enfermedad ha sido ampliamente negada por los diferentes equipos de salud. En un estudio realizado por Galavíz-Silva et al. (2009) se encontró una seroprevalencia de 2.8% de anticuerpos contra *T. cruzi* en donadores de sangre en un hospital en el estado mexicano de Nuevo León. Con respecto al estado de Coahuila, virtualmente no ha habido reportes de diagnóstico de la enfermedad de Chagas en los últimos 20 años. El estudio nacional llevado a cabo por Velasco-Castrejón y colaboradores en 1992 encontró en una muestra de 1976 personas una prevalencia de 0.1 a una dilución de 1:32 utilizando hemaglutinación indirecta e inmunofluorescencia indirecta (Velasco-Castrejón, 1992). Hasta donde se sabe, ningún otro estudio se ha realizado en el estado de Coahuila y por ello se debe considerar que estos resultados representan la primera evidencia de circulación del *T. cruzi* en población humana.

En el trabajo de Novelo-Garza (2010) que revisa la reactividad de anticuerpos contra *T. cruzi* utilizando la prueba de ELISA llevado a cabo con donadores de sangre asintomáticos en el Instituto Mexicano del Seguro Social, reportó que de una población de 230,074 encontraron una seroprevalencia de 0.406%. Para el estado de Coahuila, el mencionado estudio incluyó 4611 personas de las cuales 10 resultaron positivas para dar una frecuencia global de 0.217%. Si dividiéramos el estado en regiones norte y sur, dejando los municipios de Monclova, Nueva Rosita y Piedras Negras como Coahuila norte, la

seroprevalencia se elevaría un poco resultando en 0.37%, el cual es un estimador muy similar al encontrado por nosotros en el presente estudio.

En la ciudad Nueva Rosita, la cual es el centro geográfico de la región carbonífera, el estudio de Novelo-Garza reporta una seroprevalencia de 0.77%. Esto tiene un valor estadístico muy cuestionable porque el resultado corresponde a un solo caso en una muestra de solamente 129 personas (Novelo-Garza, 2010).

El diagnóstico por laboratorio de la enfermedad de Chagas depende del estadio clínico. Es posible identificar al agente etiológico únicamente en los casos agudos, en tanto que en los casos indeterminados y crónicos, el diagnóstico se basa en la presencia de anticuerpos contra el protozooario parásito *T. cruzi* en el suero de las individuos infectados. Estos anticuerpos son detectados principalmente utilizando diferentes pruebas serológicas siendo las más ampliamente usadas la hemaglutinación indirecta (HAI) y el inmunoensayo ligado a enzima (ELISA), y la inmunofluorescencia indirecta (IFI) debido a su fácil implementación, bajo costo y buenos resultados en términos de sensibilidad y especificidad. Basados en diferentes protocolos, un caso probable de enfermedad de Chagas se considera comprobado cuando las muestras serológicas de un individuo dan resultados positivos en al menos dos pruebas serológicas diferentes (Lopez-Antuaño, 2000; Ramos-Ligonio, 2006; Sosa-Jurado, 2004).

Más recientemente se ha utilizado la reacción en cadena de polimerasa (PCR) para detectar ADN del *T. cruzi* en muestras de tejidos obtenidos de pacientes y necropsias y adicionalmente, con esta técnica ha sido posible determinar el número de copias como una manera de determinar la carga parasitaria en estos pacientes (Marcon, 2011). El uso de técnicas moleculares para confirmar el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en la

práctica clínica cotidiana está fuera del alcance de la mayoría de las instituciones de salud en México y Latinoamérica (Brasil , 2010). En nuestro estudio, la confirmación de muestras positivas con técnicas moleculares no fue considerada en esta etapa debido a que el principal objetivo era determinar la seroprevalencia en poblaciones específicas utilizando los recursos disponibles en el Instituto Mexicano del Seguro Social, lo que representa la práctica clínica diaria real.

En el presente estudio encontramos una seroprevalencia de 0.31%, 1.25% y 21.14% para donadores de sangre asintomáticos, pacientes internados en el servicio de cardiología y pacientes con cardiomiopatía dilatada respectivamente. Esto muestra que en la region carbonífera de Coahuila hay circulación de *T. cruzi* aunque sea una zona considerada tradicionalmente como no endémica o de baja endemicidad. Estos datos también sugieren que la enfermedad de Chagas representa una causa frecuente de cardiomiopatía. Es probable que muchos casos no estén siendo diagnosticados por las instituciones de salud. No obstante, en estas pesquisas entomológicas fueron limitadas; se encontró que en las comunidades de donde provienen los casos positivos el conocimiento de los vectores y los mecanismos de transmisión de la tripanosomiasis americana son prácticamente nulos. La falta de conocimiento de vectores y mecanismos de transmisión representan inconvenientes para la implementación de cualquier programa preventivo. Como ya mencionamos en el capítulo de resultados, ninguno de los casos positivos fue capaz de identificar al insecto vector y no encontramos triatominos al interior de sus viviendas ni alrededor de estas. El hecho de no encontrar triatominos en domicilios o peridomicilios no necesariamente indica su ausencia. Es posible que los insectos no hayan sido apropiadamente detectados durante las búsquedas o que tal vez no se hayan realizado en una temporada del año en la que los

insectos predominen. Es también posible considerar que exista un ciclo de transmisión fuera de las casas el cual pudiera ser condicionado por la migración de vectores entre ambientes suburbanos y silvestres (Martínez-Ibarra, 2008). Los resultados del presente estudio sugieren que se requieren estudios entomológicos sistemáticos y durante más tiempo para evaluar la transmisión y el riesgo potencial de la enfermedad de Chagas en la región.

Un ciclo de vida extradomiciliario de *T. cruzi* puede existir y ser mantenido por otros vertebrados además del ser humano incluyendo animales domésticos y mascotas (Bear, 2003). En los Estados Unidos de Norteamérica (USA), y en particular en el estado de Texas, varias especies de vertebrados (armadillos, coyotes, mapaches, zarigüeyas y ratas del género *Neotoma*) han sido documentadas como positivas para la infección con *T. cruzi* (Sarkar, 2010). Hasta recientemente, en EUA solo se habían reportado siete casos autóctomos de enfermedad de Chagas (cuatro en Texas, uno en Tennessee, uno en California y uno más en Louisiana) (Bern, 2009; Dorn, 2007). Además de los siete casos mencionados, Cantley *et al.*, (2012) reportaron en su estudio "The United States *Trypanosoma cruzi* Infection Study" (USTC), en el que se realizó un tamizaje para probable infección con *T. cruzi* de 29 millones de donadores de sangre encontrando que 1084 fueron positivos, y posterior a realizar los criterios de exclusión para un estudio de seguimiento, determinaron 15 casos positivos confirmados por el Center for Disease Control (CDC). En el estudio mencionado se demostraron 15 casos autóctonos nuevos de la enfermedad de Chagas en EUA. Estos nuevos casos ciertamente indican que la prevalencia de infección con *T. cruzi* en USA puede de hecho estar subestimada y sugiere que algo similar pudiera estar ocurriendo en México, en donde la enfermedad de Chagas sigue

siendo considerada como de baja importancia o relevancia por las autoridades de salud. De hecho no existe un programa específico para el control del vector triatomino o para la detección de la tripanosomiasis Americana.

Debemos hacer notar que la región de la frontera de México con EUA comparte algunos aspectos socioeconómicos, grandes movimientos migratorios y la presencia de algunas enfermedades parasitarias, incluyendo la enfermedad de Chagas (Hotez, 2012). Asimismo se han reportado en el estado fronterizo norteamericano de Texas la presencia de siete especies de triatominos (Kjos, 2009) de los cuales *Triatoma gerstaeckeri*, *Triatoma lecticularia* y *Triatoma sanguisuga* son considerados bastante comunes y con extensa distribución geográfica incluyendo estados del norte y noreste de México (Sarkar, 2010). Muchos condados de Texas que tienen frontera con México han reportado la presencia de insectos vectores infectados con *T. cruzi* (Kjos, 2009). Falta determinar cuáles otras especies de triatominos existen en el estado de Coahuila así como la abundancia de poblaciones, estacionalidad, grado de infección y capacidad vectorial. Existen estudios realizados en el estado mexicano de Nuevo León colindante con Coahuila, que reportan infección con *T. cruzi* en *Triatoma gerstaeckeri* doméstico y Silvestre en el municipio de General Terán (Martínez-Ibarra, 1992; Molina-Garza et al., 2007).

En este estudio hemos reportado la presencia de triatominos nativos *T. gerstaeckeri* y *T. rubida* en el norte de Coahuila muy próximos a la región carbonífera lo cual representa otro factor de riesgo para infección local de la enfermedad de Chagas. Con respecto a la enfermedad de Chagas, hasta donde se ha podido demostrar, existen varios elementos que indican la presencia de casos autóctonos para Coahuila. En primer lugar tenemos la confirmación de once muestras positivas mediante dos pruebas serológicas

diferentes y sus historias clínicas. En segundo lugar, el hecho de que ninguno de los individuos encontrados positivos había viajado a zonas de alta endemicidad, reduciendo la probabilidad de haber adquirido la enfermedad en otro sitio fuera de la región carbonífera. En tercer lugar, encontramos dos especies de triatomíneos en Coahuila (*T. gerstaeckeri* and *T. rubida*), los cuales están reconocidos como especies de importancia médica en EUA. Cuarto, hay algunos reportes paleoparasitológicos (Araujo, 2009; Reinhard, 2003) que demuestran infección con *T. cruzi* en restos humanos momificados de 1000 años de antigüedad encontrados en el Río Grande (Río Bravo) en la frontera de Coahuila y Texas. Toda esta evidencia mencionada nos conduce a afirmar que existe un ciclo de transmisión de *T. cruzi* aún no estudiado en su totalidad en la región carbonífera y muy probablemente en todo Coahuila que requiere ser estudiado con mayor alcance y profundidad para especificar los detalles de este y establecer el impacto y magnitud del riesgo para la población humana.

El reconocimiento del problema de la enfermedad de Chagas por parte de las autoridades de salud y los habitantes de esta región carbonífera en particular es una meta importante para iniciar los programas conducentes a la prevención primaria, detección y tratamiento de los casos. Esto último representa un problema por sí mismo ya que no hay un consenso sobre el tratamiento óptimo de los casos en estadios indeterminado y crónico. Hasta el momento actual, no hay un tratamiento efectivo para estos pacientes.. Aunque hay estudios que muestran cierta efectividad en el desarrollo de terapéuticas alternativas con células madre autólogas y medicamentos experimentales, el manejo de estos casos ha estado limitado al tratamiento del cuadro clínico por ejemplo de insuficiencia cardíaca o arritmias (Murator, 2010). Es importante al tiempo de la detección de los casos

indeterminados decidir el tratamiento para prevenir su evolución a condiciones crónicas con sus respectivos altos costos en salud, incapacidad y elevada mortalidad (Viotti, 2006).

Vectores: La especie *T. gerstaeckeri* ha sido hasta el presente la más comúnmente colectada además que se ha encontrado naturalmente infectada en Nuevo León (Galavíz, 1991; Martínez-Ibarra, 1992; Molina-Garza, 2007). Además, en la localidad de San Benito, del municipio de Cameron (=country of) en Texas, EE.UU., *T. gerstaeckeri* se encontró en una casa donde se habían reportado tres perros infectados por *T. cruzi* e interesantemente de las 31 chinches colectadas el 77.4% (n=24) contenían parásitos similares a *T. cruzi* (Bear, 2003). Datos por Kjos et al. (2009) en Texas, reportan que *T. gerstaeckeri* tuvo una prevalencia de infección del 55.1 % (86 positivos/156 chinches totales) y consideran a la especie más en asociación con las viviendas humanas, lo cual también coincide con el reporte de Bear et al. (2003) quienes indican que ninfas del último estadio de *T. gerstaeckeri* se encontraron en el patio adyacente al domicilio, lo cual significaría un proceso de domiciliación. En cuanto a la distribución geográfica de *T. gerstaeckeri*, Kjos et al. (2009) consideran que la especie tiene un amplio rango de distribución que puede traslapar con la distribución de otras especies como *T. sanguisuga* (Leconte), *T. indictiva* Usinger, *T. lecticularia* y *T. protracta*. Ibarra-Cerdeña et al. (2009) incluyeron a *T. gerstaeckeri* dentro del complejo *phyllosoma* representado por 11 especies y mediante modelado de nicho ecológico con el algoritmo GARP, estos autores señalaron que existe una correspondencia en un 74% entre las áreas de seropositividad a *T. cruzi* y la ocurrencia de las especies del complejo *phyllosoma* que incluye a *T. gerstaeckeri*. Por otra parte, usando modelos que predicen distribución geográfica, Sarkar et al. (2010) mencionan que los modelos construidos reflejan que *T. gerstaeckeri* tiene una vasta distribución en todo el

sureste de EUA y el norte de México. Por su parte, Sandoval-Ruiz *et al.* (2012) mencionan que *T. gerstaeckeri* se ha reportado en los estados de Chihuahua, Coahuila, Hidalgo, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz y Zacatecas. Específicamente para el estado de Nuevo León, hasta ahora se han reportado las especies *T. gerstaeckeri*, *T. lecticularia*, *T. neotomae* y *T. protracta* (Zárate & Zárate 1985, Cruz-Reyes & Pickering 2006).

El hallazgo de *T. rubida* en Coahuila, representa el primer registro de la especie para el citado estado. Lent & Wygodzinsky (1979, p. 312) mencionan que *T. rubida* varía considerablemente en tamaño e intensidad de los patrones ornamentales y reconoce varias formas como *rubida*, *sonoriana*, *jaegeri* y *uhleri*. Mientras que Zárate & Zarate (1985) consideran las subespecies *T. rubida cochimiensis* (Ryckman), *T. rubida jaegeri* (Ryckman), *T. rubida rubida* (Uhler), *T. rubida sonoriana* (Del Ponte) y *T. rubida uhleri* (Neiva). A pesar de que se han realizado análisis moleculares usando genes del citocromo b para *T. rubida*, la taxonomía de *T. rubida* representa en la actualidad una situación aún no resuelta en cuanto a que si es una sola especie, un conjunto de subespecies o bien un complejo de especies (Pfeiler *et al.*, 2006) (com. per. Dr. César A. Sandoval Ruiz). Los especímenes reportados en esta nota, se refieren como *T. rubida* en un sentido más amplio (*sensu lato*) y se considera que más estudios detallados sobre distribución geográfica, morfología y biología molecular son requeridos para abordar y elucidar el estatus del taxón *T. rubida*. Por su parte, Kjos *et al.* (2009) consideran que la especie *T. rubida* tiene un hábitat de distribución muy restringido y que por lo tanto solo está presente en ciertas eco-regiones. En contraste, Ibarra-Cerdeña *et al.* (2009) mencionan que sus análisis de nicho ecológico revelaron que las subespecies del complejo *T. rubida* son consideradas

generalistas en términos de asociación con la cobertura del suelo y que pueden encontrarse en 5-6 diferentes tipos (*e.g.* matorrales abiertos, cerrados, tierras de cultivo, áreas urbanas, pastizales y bosques). Recientemente, se reportaron datos biológicos de *T. rubida* en la zona metropolitana de Tucson, Arizona, EUA., por Reisenman et al. (2010) quienes encontraron que *T. rubida* fue la especie más común (96.3%) y con una mayor abundancia en el periodo de mediados de mayo al fines del mes de agosto y con una prevalencia de infección de 41% en las chinches que se colectaron al interior o alrededor de los domicilios. Este reporte de Reisenman et al. (2010) representa un punto a considerar sobre la potencialidad de infestación domiciliaria por parte de *T. rubida*. Para las poblaciones de Coahuila no se tienen datos al respecto, pero es interesante observar que las chinches fueron colectadas al interior de una edificación localizada en la sierra. Otro aspecto sobre el potencial vectorial de *T. rubida* es su capacidad de defecación durante y posterior a la ingesta sanguínea sobre un hospedero. Klotz *et al.* (2009) estudiaron algunos aspectos relacionados y encontraron que la especie es vívidamente atraída para iniciar una alimentación cuando se le ofrecía exposición hacia un ratón y se reportó un índice de defecación de 0.35 para machos y 0.75 para hembras. Klotz *et al.* (2009) también mencionan que los adultos de *T. rubida* son posiblemente atraídos por la luz al interior de las viviendas y que una vez ahí, pueden alimentarse de la sangre de humanos. La forma en que se colectaron los especímenes de *T. rubida* en Coahuila coincide con esta descripción, ya que al parecer los adultos fueron atraídos hacia el interior de la edificación y una vez ahí las chinches intentaron alimentarse de la sangre de los humanos que pernoctaban en el lugar. Para el estado de Coahuila, Zárate & Zárate (1985) y Cruz-Reyes & Pickering (2006) enlistaron solo a dos especies: *T. gerstaeckeri* y *T. protracta*, por lo que ahora puede

añadirse la ocurrencia de *T. rubida*. Es importante señalar que los estudios sobre triatomíneos en el noreste de México son muy escasos y que aún se desconoce el riesgo de infección vectorial a humanos considerando que en años recientes se han venido documentando más casos autóctonos de la enfermedad de Chagas en EUA. (Bern & Montgomery, 2009) y que se considera que la frontera entre México y los estados como Texas y Arizona en EUA., comparte ciertos aspectos culturales y un gran movimiento demográfico (Hotez et al. 2012).

Incluso, solo hasta recientemente se le ha dado importancia a la enfermedad de Chagas en los EUA, en particular por la frecuencia de reportes en el estado norteamericano de Texas. El primer caso reportado de transmisión vertical transplacentaria en ese estado fue en julio 6 del año 2012 por el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés). Se estima que solo en Texas podría haber hasta 300 mil casos de Chagas. Hay una amplia distribución texana de especies vectores de los cuales un porcentaje significativo ha dado positivo para *T. cruzi* en las pruebas de reacción en cadena de polimerasa (Andrus, 2013).

Se ha calculado que más de un millón de hispanos en los EUA tienen enfermedad de Chagas (con casi 270 mil únicamente en Texas) y que al menos 150 mil migrantes nacidos en Latino América desarrollarán alguna forma crónica. La forma congénita ya se ha reportado. De particular interés es que la posibilidad de la transmisión de *T. cruzi* a seres humanos sea ya una realidad a lo largo de la frontera de los EUA con México. En esta frontera, en particular la parte que corresponde a Texas, se ha demostrado seropositividad en coyotes y perros así como un ciclo doméstico canino. Además, roedores del género *Neotoma* son reservorios comunes al igual que en ganado doméstico, caballos y ovejas. Se

han encontrado vectores infectados en 64 de los 254 condados en Texas. Por ello se considera que sus habitantes están en alto riesgo de transmisión (Hotez et al, 2008).

Las consideraciones sobre el elevado riesgo de transmisión pueden aplicarse también al estado de Coahuila. En este estudio encontramos seropositividad, casos clínicos y vectores asociados a elevada transmisión, mismas condiciones encontradas en Texas recientemente. Por ello los equipos de salud deben estar alerta al surgimiento de la tripanosomiasis americana en estas regiones que tradicionalmente se han considerado libres de la enfermedad. El tamizaje que apenas empieza en los bancos de sangre, debería extenderse a los grupos de pacientes embarazadas, pacientes con enfermedades cardiovasculares y a grupos centinela como estudiantes sanos, esto es, desarrollar una práctica efectiva de vigilancia epidemiológica. Esto daría la oportunidad de ofrecer un tratamiento oportuno que cambiaría radicalmente el pronóstico de vida de estos pacientes.

CONCLUSIONES

Son muy escasos los estudios sobre la enfermedad de Chagas en el noreste de México. Los resultados mostrados aquí tanto en lo que respecta a vectores triatominos como los casos clínicos representan los primeros en su clase para el estado mexicano de Coahuila. Es fundamentalmente importante que se amplíen y profundicen los estudios sobre los vectores potenciales y el riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas en el noreste del país. En este estudio, reportamos la presencia de casos autóctonos de la tripanosomiasis americana en la región carbonífera de Coahuila, lo que destaca la importancia de realizar estudios de tamizaje más amplios y con mayor alcance geográfico. Es muy importante difundir la información sobre esta enfermedad tanto a la población general como a los diferentes equipos de salud. Aspectos sobre el parásito, el vector y las presentaciones clínicas deben ser conocidos con profundidad dado que existe el riesgo de la enfermedad en las áreas estudiadas. Con las medidas apropiadas el costo epidemiológico podría disminuirse y las expectativas de tratamiento a los pacientes serían mejores. Este trabajo destaca la necesidad urgente de continuar más estudios para determinar la extensión del problema de la enfermedad de Chagas en el resto del estado de Coahuila y en el noreste de México.

BIBLIOGRAFÍA

Andrus, J., Bottazzi, M.E., Chow, J., Goraleski, K.A., Fisher-Hoch, S.P., Lambuth, J.K., Lee, B.Y., Margolis, H.S., McCormick, J.B., Melby, P., Murray, K.O., Rico-Hesse, R., Valenzuela, J.G., Hotez, 2013. P.J. Eras of the Armadillo: Global Health Research and Neglected Diseases in Texas. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 7(6): 1-6.

Anthony, R.L., Johnson, C.M., Sousa, O.E.. 1979. Use of micro-ELISA for quantitating antibody to *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 28(6): 969-973.

Apt, W. 1998. Treatment of chronic Chagas' disease with itraconazole and allopurinol. *Am J Trop Med Hyg.* 1998 Jul;59(1):133-8.

Araujo, A., Jansen, A.M., Reinhard, K., Ferreira, L.F. 2009. Paleoparasitology of Chagas disease – A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104(Suppl I):9-16.

Arrieta, R., Daquino, B., Rosso, N., Ferreras, M.G., Juarez, N. 2004. Evaluación de una metodología de tamizaje en la enfermedad de Chagas en San Luis, Argentina. *Salud Publica Mex* 46:430-437.

Bear C, Pye G, Steurer F, Rodríguez R, Campman T, Peterson AT, Ramsey J, Wirtz R, Robinson L. 2003. Chagas disease in a domestic transmission cycle in Southern Texas, USA. *Emerging Infectious Diseases.* 9(1):103-105.

Benaim, G. et al. 2006. Amiodarone has intrinsic anti-*Trypanosoma cruzi* activity and acts synergistically with posaconazole. *J Med Chem.* Feb 9;49(3):892-9.

Bern, C. 2007. Evaluation and treatment of Chagas disease in the United States. *JAMA* 298 (18): 2171-2181.

Bern, C., Montgomery, S.P. An estimate of the burden of Chagas disease in the United States. *Clin Infect Dis*. 2009; 49(5):e52-4.

Biagi, F, Editor 1960. *Enfermedad de Chagas. Informe de un grupo de estudio*. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza.

Brandenburg. R.O. 1981. Report of the WHO/ISFC Task Force on Definition and Classification of Cardiomyopathies, *Circulation*. 64(2):437A-438A.

Brasil, P.E.A.A., De Castro, L., Hasslocher-Moreno, A.M., Sangenis, L.H.C., Braga, J.U. 2010. ELISA versus PCR for diagnosis of chronic Chagas disease: systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*. 10:337.

Britto, C., Cardoso, A., Sikveira, C., Macedo, V., Fernandes, O. 1999. Polymerase chain reaction (PCR) as a laboratory tool for the evaluation of the parasitological cure in Chagas disease after specific treatment. 1999. *Medicina (Buenos Aires)*. 59 (Suppl. II):176-178,

Cáceres, L.A. 2005. *Manual de procedimientos de identificación de triatominos (Hemíptera: Reduviidae) del Perú*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Pp 19-23.

Carabarin-Lima, A., González-Vázquez, M.C., Rodríguez-Morales, O., Baylón-Pacheco, L., Rosales-Encina, J.L., Reyes-López, P.A., Arce-Fonseca, M.. Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: an update. 2013. *Acta Trop*. 127(2):126-35. doi: 10.1016/j.actatropica.2013.04.007. Epub 2013 Apr 30.

Campos de Carvalho, A.C., Regina, C.S., Jelckis, L.A., Milena, B.P., Tanowitz, H.B., 2009. Cell therapy in Chagas disease. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. Volume 2009. Article ID 484358, doi:10.1155/2009/484358. On line. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/ipid/2009/484358.html>

Campos, M.A, Gazzinelli, R.T. 2004. *Trypanosoma cruzi* and its components as exogenous mediators of inflammation recognized through toll-like receptors. *Mediators of Inflammation* 13(3):139-143.

Cantley, P.T., Stramer, S.L., Townsend, R.L., Kamel, H., Ofafa, K., Todd, C.W. 2012. The United States *Trypanosoma cruzi* infection study: evidence for vector-borne transmission of the parasite that causes Chagas disease among United States blood donors. *Transfusion*. 52(9):1922-30. doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03581.x. Epub 2012 Mar 8.

Castañera, M.B., Aparicio, J.P., Gürtler R.E. 2003. A stage structured stochastic model of the population dynamics of *Triatoma infestans*, the main vector of Chagas disease. *Ecological Modelling* 162:33-53.

Contreras, S., Fernandez, M.R., Agüero, F., Desse, J.D., Orduna, T., Martino, O. 1999. Enfermedad de Chagas Mazza congénita en Salta. *Revista da Sociedade de Brasileira de Medicina Tropical* 32(6):633-636.

Cooper, L.T. 2009. Myocarditis. *NEJM* 360:1526-1538.

Coura, J.R. 2002. Control de la enfermedad de Chagas. Segundo informe del Comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud. Ginebra Suiza.

Cruz-Reyes, A. & Pickering-López, J. M. 2006. Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years – A review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101:345-354.

Czernik, G.E., Cuenca, E.N., Dabski, M.F., Marder, G. 2006. Seroprevalencia chagásica en hemodonantes del banco de sangre central de Corrientes. *Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina – No 160:5-8.*

- Damborsky, M.P., Bar, M.A., Oscherow, E.B. 2001. Detección de triatominos (Hemiptera:Reduviidae) en ambientes domésticos y extradomésticos. Corrientes, Argentina. Cad-Saúde Pública, Río de Janeiro 17(4):843-849.
- Diaz, J.H., 2008. Recognizing and reducing the risks of Chagas disease (American Trypanosomiasis) in travelers. Journal of Travel Medicine 15(3):184-195.
- Dorn, P. Perniciario, L., Yabsley, M.J., Roelling, D.M., Balsamo, G., Diaz, J., Wesson, D. 2007 Autochthonous transmission of *Trypanosoma cruzi*, Louisiana. Emerging Infectious Diseases. 13(4):605-607.
- Dumonteil, E. 1999. Update on Chagas' disease in Mexico. Salud Publica Mex 41:322-327.
- Feilij, H., Muller, L., Gonzalez-Cappa, S.M. 1983. Direct micromethod for diagnosis of acute and congenital Chagas' disease. J. Clin. Microbiol. 18(2):327.
- Ferreira, A.W., 1995. Laboratory diagnosis of Chagas' Heart disease. São Paulo Medical Journal. 113(2):767-771.
- Ferreira, C.S., Amato-Neto, V., Gakiya, E., Bezerra, R.T., Rodriguez-Alarcon, R.S. 2003 Microwave treatment of human milk to prevent transmission of Chagas disease. Rev Inst Med Trop S Paulo. 45(1):41-2.
- Galavíz, L., Arredondo, J. M. & Vielma, H. 1991. Triatomínos domiciliarios en el ejido San Juan de Vaquerías, N. L. México. Salud Fronteriza/BorderHealth. 7: 20-28.
- Galavíz-Silva L, Molina-Garza DP, Gonzalez-Santos MA, Mercado-Hernández R, González-Galaviz JR, Rosales-Encina JL, Molina-Garza Z. 2009. Update on seroprevalence of Anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies among blood donors in northeast Mexico. Am J Trop Med Hyg. 81(3):404-6.

Grupta, S. Wen, J.J., Garg, N.J. 2009. Oxidative stress in Chagas disease. Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases. Article ID 190354, doi:10.1155/2009/190354. On line. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/ipid/2009/190354.html>

Guhl, F., Lazdins-Helds, J. 2005. Reporte del grupo de trabajo científico sobre la enfermedad de Chagas. Organización Mundial de la Salud, Buenos Aires, Argentina.

Guzmán-Bracho, C., García-García, L., Verdugo, J.F., Guerrero-Martínez, S., Torres-Cosme, M., Ramirez-Melgar, C., Velasco-Castrejón, O.1998. Riesgo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre en México. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health 4(2):94-99.

Hagar, J.M., Rahikotoola, S.H. 1991. Chagas' heart disease in the United States. NEJM 325:763-768.

Hanford, E.J., Zhan F.B., Lui Y., Giordano A. 2007. Chagas disease in Texas: recognizing the significance and implications of evidence on the literature. Soc Sci and Med.; 65:60-79.

Herwaldt, B.L. 2001. Laboratory acquired parasitic infection from accidental exposures. Clin Microbiology Reviews. 14(4):659-88.

Herwaldt, B. L., Grijalba, M.J., Newsome, A.L., McGhee, C.R., Powell, M.R., Nemeč, D.G., Steurer, F.J., Eberhard, M.L. 2000. Use of PCR to diagnose the fifth reported US case of autochthonous transmission of *Trypanosoma cruzi*, in Tennessee, 1998. J. Infect. Dis. 181:395–399.

Higuchi, M.L. 2003. Pathophysiology of the heart in Chagas' disease: current status and new developments. Cardiovascular Research. 60 : 96–107.

Hoffmann, C. 1928. Nota acerca de un probable transmisor de la trypanosomiasis humana en el estado de Veracruz. Rev Mex Biol. 8:12-18.

Hotez, P.J. 2008. Neglected Infections of Poverty in the United States of America. PLOS Negl Trop Dis. 2(6):1-11.

Hotez P., Bottazzi, M.E., Dumonteil, E., Valenzuela, J.G., Kamhawi, S., Ortega, J. 2012. Texas and Mexico: sharing a legacy of poverty and neglected tropical diseases. PLOS Negl Trop Dis. 6(3):e1497. doi:10.1371/journal.pntd.0001497

Ibarra-Cerdeña, C. N., Sánchez-Cordero, V., Peterson, A. T. & Ramsey, J. 2009. Ecology of North American Triatominae. ActaTropica, 110: 178-186.

Kinoshita-Yanaga, A.T., de Ornelas-Toledo, M.J., Marques de Araujo, S., Pelizza-Vier, B., Gomes, M.L. 2009. Accidental infection by *Trypanosoma cruzi* follow up by the polymerase chain reaction: case report. Rev Inst Med Trop S Paulo. 51(5):295-8.

Jackson, Y., Angheben, A., Carrilero Fernandez, B., Jansa, I., Lopez del Vallado, J.M., Jannin, J.G., Albajar-Viñas, P. 2009. Management of Chagas disease in Europe. Experiences and challenges in Spain, Switzerland and Italy. Bull Soc Pathol Exot. 102:326-9.

Kirchhoff, L.V., 1993. American trypanosomiasis (Chagas' disease) – A tropical disease now in the United States. NEJM. Vol 329. No.9:639-644.

Kjos, S.A., Snowden, K.F., Olson, J.G. Biogeography and *Trypanosoma cruzi* infection prevalence of Chagas disease vectors in Texas, USA. 2009. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 9(1):41-49. doi:10.1089/vbz.2008.0026.

Klotz, S. A., Dorn, P. L., Klotz, J. H., Pinna, J. L., Weirauch, C., Kurtz, J. R. & Schmidt, J. 2009. Feeding behavior of triatomines from the southwestern United States: An update on potential risk for transmission of Chagas disease. Acta Tropica, 111: 114-118.

Kun, H., Moore, A., Mascola, L., Stevrer, F., Lawrence, G., Kubak, B. 2009. Transmission of *Trypanosoma cruzi* by heart transplantation. Clin Infect Dis. 48:1534-1540.

Lacunza, D.L., Sanchez-Negrete, O., Mora, M.C., N., Garayzabal, M.I., Uncos, A., Segura, M.A., Del Castillo, N., Basombrio, M.A. 2006. Use of polymerase chain reaction (PCR) for early evaluation of etiological treatment in young adults, chronically infected with *Trypanosoma cruzi*. Revista de Patología Tropical. 35(3):227-232.

Lana, M., Lopez, L.A., Martins, H.R., Bahia, M.T., Machado.de.Assis, G.F., Wendling, A.P., Martins.Filho, O.A., Montoya, R.A., Dias, J.C., Albajar-Viñas, P., Coura, J.R.. 2009. Clinical and laboratory status of patients with chronic Chagas disease living in a vector-controlled area in Minas Gerais, Brazil, before an nine years after aetiological treatment. Mem Inst Oswaldo Cruz, 104(B): 1139-1147.

Leiby, D.A., Wendel, S., Takaoka, D.T., Fachini, R.M., Oliveira, L.C., Tibbals, M.A. 2000. Serologic testing for *Trypanosoma cruzi*: Comparison of radioimmunoprecipitation assay with commercially available indirect immunofluorescence assay, indirect hemagglutination assay, and enzyme-linked immunosorbent assay kits. Journal of Clinical Microbiology, 38, No 2:639-642.

Lent, H. & Wygodzinsky, P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. Bulletin of the American Natural History, 163: 127-520.

Lopez-Antuaño, J.F., Rangel-Flores, H., Ramos, C. 2000. Diagnosis of Chagas' disease. Revista Latinoamericana de Microbiología. ; 42:121-129.

Lozano-Kasten, F. 2008. Conocimiento epidemiológico y situación actual de la enfermedad de Chagas en el estado de Jalisco, México. Salud Publica Mex 50:508-515.

- Maguire, J.M. 2006. Chagas' disease – Can we stop the deaths? *NEJM* 355(8):760-761.
- Marcon, G.E.B., Albuquerque, D.M., Martins-Batista, A., Durante-Andrade, P., Almeida, E.A., Guariento, M.E., Teixeira, M., Botelho-Costa, S.C. 2011. *Trypanosoma cruzi*: parasite persistence in tissues in chronic chagasic Brazilian patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz.*; 106(1):85-91.
- Martínez, C. 2000. Infección natural de chinches Triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud Pública de México.*; 42, no.6, 496-503.
- Martínez-Ibarra, J.A., Galaviz-Silva, L., Lara-Campos, C., Trujillo-García, C. 1992. Distribución de los triatomíneos asociados al domicilio humano en el municipio de General Terán, Nuevo León, México. *Southwestern Entomologist.* ; 17(3):261-265.
- Martínez-Ibarra, J.A., Salazar P.M., Solorio, M., Cabrera, M., Novelo, M., Vences, M., Montes & B. Noguera. J. 2008. Influence of temperature and humidity on the biology of *Triatoma mexicana* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103: 719-723.
- Mazzotti, L. 1936. Investigación sobre la existencia de la enfermedad de Chagas en el país. Demostración de los tripanosomas en los reduvídeos transmisores. *Med Mex* 282(16):584-585.
- Mazzotti, L. 1940. Dos casos de enfermedad de Chagas en el Estado de Oaxaca. *Gac Med Mex* 70:417-420.
- Mendez-Galvan, J. 2006. Enfermedad de Chagas en México. Disponible en http://www.mex.ops-oms.org/documentos/chagas/mex_chagas_mendez-galvan.pdf.

Kelly, J.M., Molecular mechanisms of pathogenesis in Chagas disease. 2003. En Miles, M.A. Genetic diversity of *Trypanosoma cruzi* and the epidemiology of Chagas disease. Landes bioscience. ISBN: 0-306-47849-8.

Molina-Garza, Z.J., Rosales-Encina, J.L., Galaviz-Silva, M., Molina-Garza, D. 2007. Prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos silvestres de Nuevo León, México. Salud Pública Mex 49:37-44.

Monteón, V. 2009. Caracterización biológica de aislados mexicanos de *Trypanosoma cruzi*: metaciclologénesis, parasitemia y resistencia contra benznidazol. Rev Biomed ; 20:206-214.

Moreno López, R.M. 2000. Cardiopatía chagásica en Tehuantepec. Archivos de Cardiología de México. 71 1: 43-49.

Muñoz, J., Portús, M., Cortachan, M., Fumadó, V., Gascon, J. 2007 Congenital *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic área. Trans R Soc Trop Med Hyg. 101:1161-2

Murator, C., Baranchuk, A. 2010. Current and emerging therapeutic options for the treatment of chronic chagasic cardiomyopathy. Vascular Health and Risk Management. 6:593-601.

Neal, R.A. 1970. Indirect haemagglutination test for Chagas' disease, with a simple method for survey work. Rev. Inst. Med. Trop Sao Paulo. 12(5):325-332,

Noireau, F. 2002. Trapping triatomíneos in sylvatic habitats. Mem Inst Oswaldo Cruz 97(1):61-63.

Norma Técnica para la Prevención y Control de la Enfermedad de Chagas. 2011. Ministerio de Salud. El Salvador.

Novelo-Garza, B., Benitez-Arvizu, G., Pena-Benitez, A., Galvan-Cervantes, J., Morales Rojas, A. 2010. Detección de *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. ; 48(2):139-144.

Ochs, D. E., V. S. Hnilica, D. R. Moser, J. H. Smith, and L. V. Kirchhoff. 1996. Postmortem diagnosis of autochthonous acute chagasic myocarditis by PCR amplification of a species-specific DNA sequence of *Trypanosoma cruzi*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 54:526–529.

OMS. 2002. Enfermedad de Chagas, Informe de un grupo de estudio. OMS, Serie de Informes Técnicos No 905.

Otani, M.M., Vinelli, E., Kirchhoff, L.V., Del Pozo, A., Sands, A., Veracauteren, G., Sabino, E.C. 2009. WHO comparative evaluation of serologic assays for Chagas disease. Transfusion. ;49:1076-82.

Pfeiler, E., Bitler, B. G., Ramsey, J. M., Palacios-Cardiel, C. & Maekow, T. A. 2006. Genetic variation, population structure, and phylogenetic relationships of *Triatoma rubida* and *T. recurva* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from the Sonoran desert, insect vectors of the Chagas' disease parasite *Trypanosoma cruzi*. Molecular Phylogenetics and Evolution, 41: 209-221.

Ponce, C. 1999. Transfusion transmission of Chagas disease in Honduras and other Central American countries. Medicina (B Aires). ; 59 Suppl 2:135-137.

Ramos-Ligonio, A., Ramirez-Sánchez, M.E., Rosales-Encina, J.L., Lopez-Monteon, A. 2006. Prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre del IMSS, Orizaba, Veracruz, México. Salud Pública de México. ; 48(1):13-21.

Rassi, A. 2006. Development and validation of a risk score for predicting death in Chagas' heart disease in the United States. NEJM 325;763-768.

Reinhard, K., Fink, T.M., Skiles, J. 2003. A case of megacolon in Rio Grande Valley as a possible case of Chagas Disease. Mem Inst Oswaldo Cruz. ; 98 Suppl 1:165-72.

Reisenman, C. E., Lawrence, G., Guerenstein, P. G., Gregory, T., Dotson, E. & Hildebrand, J. G. 2010. Infection of kissing bugs with *Trypanosoma cruzi*, Tucson, Arizona, USA. Emerging Infectious Diseases, 16: 400-405.

Reyes, M, Angulo, V. M. 2009. Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera, Reduviidae) en condiciones de laboratorio: producción de ninfas para ensayos biológicos. Biomédica 29:119-126.

Riarte, A., Luna, C., Sabatiello, R., Sinagra, A., Schiavelli, R., De Rissio, A., Garcia, M.M., Jacob, M. Lauricella, M., Segura, E.L., Vazquez, M. 1999. Chagas' disease in patients with kidney transplants: 7 years of experience, 1989-1996. Clin Infect Dis. ; 29:561-7.

Rodríguez-Morales, A. J. 2005. Nuevas perspectivas en el manejo terapéutico de la enfermedad de chagas. Rev. peru. med. exp. salud publica [online]. 22(2): 123-133

Salazar, P.M., Rojas, G., Bucio, M., Cabrera, M., Garcia, G., Ruiz, A., Guevara, Y., Tapia, R. 2007. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* y su asociación con factores de riesgo en menores de 18 años de Veracruz, México. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health 22(2):75-82.

Sandoval-Ruiz, C. A., Cervantes-Peredo, L., Mendoza-Palmero, F. S. & Ibáñez-Bernal, S. 2012. The Triatominae (Hemiptera: Heteroptera: Reduviidae) of Veracruz, Mexico: geographical distribution, taxonomic redescrptions, and a key. Zootaxa, 3487: 1-23.

Sarkar, S., Strutz, S.E., Frank, D.M., Rivaldi, C.L., Sissel, B., Sanchez-Cordero, V. 2010. Chagas disease in Texas. *PLoS Negl Trop Dis.*; 4(10):e836. doi:10.1371/journal.pntd.0000836.

Segura, E.L., Escobar-Mesa, A. 2005. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz. *Salud Publica Mex* 47:201:208.

Schiffler, R. J., Mansur, G.P., Navin, T.R., Limpakarnjanarat, K. 1984. Indigenous Chagas' disease (American trypanosomiasis) in California. *JAMA* 251:2983–2984.

Silveira, A.C., Sánchez, O. 2003. Guía para el muestreo en actividades de vigilancia y control vectorial de la enfermedad de Chagas. Organización Mundial de la Salud.

Sosa-Estani, S., Viotti, R., Segura, E.L. 2009. Therapy, diagnosis and prognosis of chronic Chagas disease: insight gained in Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* Jul;104 Suppl 1:167-80.

Sosa-Jurado, F., Zumaquero-Rios, J.L., Reyes, P.A., Cruz-Garcia, A., Guzmán-Bracho, C., Monteón, V.C. 2004. Factores bióticos y abióticos que determinan la seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en el municipio de Palmar de Bravo, Puebla, México. *Salud Pública Mex* 46:39-48.

Souza, R.M., Amato-Neto, V. 2012. Discrepancies and consequences of indirect hemagglutination, indirect immunofluorescence and ELISA tests for the diagnosis of Chagas disease. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 54(3):141-143,

Toso, A.M., Vial, F.U., Galanti, N. 2011. Transmisión de la enfermedad de Chagas por vía oral. *Rev Med Chile.* ; 139: 258-266.

Usinger, R. 1944. The triatominae of North and Central America and the West Indies and their public health significance. United States Government Printing Office.

Velasco-Castrejón, O., Valdespino, J.L., Tapia-Conyer, R., Salvatierra, M.C., Guzmán-Bracho, C., Magos, C., Llausas, A., Gutierrez, G., Sepulveda, J. 1992. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. *Salud Publica Mex* 34(2):186-196.

Vega-Chirinos, S. Editor. 2006. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas). Instituto Nacional de Salud, Perú. ISSN 1607-4904.

Viotti, R., Vigliano, C., Lococo, B., Bertocchi, G., Petti, M., Alvarez, M.G., Postan, M., Armenti, A. 2006. Long-term cardiac outcomes of treating chronic Chagas disease with Benznidazole versus No Treatment. *Ann Intern Med.*; 144:724-734.

Visciarelli, E. 2004. Aspectos excoriales de huevos de *Triatoma patagonica* del ponte, 1929 por microscopia electrónica de barrido. *Entomol. Vect* 11(4): 653-668.

Voller, A. 1975. Microplate enzyme-linked immunosorbent assay for Chagas' disease. *The Lancet*. 305(7904): 426-428.

Woody, N.C., Woody, H.B.. 1955. American trypanosomiasis (Chagas' disease); first indigenous case in the United States. *JAMA* 159:676-677.

Zárate, L. G., Zárate, R. J. 1985. A checklist of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) of Mexico. *International Journal of Entomology*, 27: 102-127.

Zavala-Velázquez, J.E. 2003. La enfermedad de Chagas en el estado de Yucatán, México (1940 – 2002). *Rev. Biomed* 14: 35-43.

ANEXOS

Anexo 1 -----	Carta de Consentimiento Informado
Anexo 2 -----	Artículo de Acta Zoológica Mexicana.
Anexo 3 -----	Artículo de la Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo.
Anexo 4	Correo electrónico y manuscrito aceptado en IJCRI

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN
PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

Lugar y Fecha-----

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado:

FRECUENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN PACIENTES HOSPITALIZADOS Y DE CONSULTA EXTERNA EN EL NORTE DE COAHUILA Y SU RELACIÓN CON VIVIENDAS INFECTADAS DE TRIATOMINOS.

Registrado ante el comité local de investigación o la CNIC con el número-----506-----el objetivo del estudio es: Determinar la frecuencia de la Enfermedad de Chagas en la Región Carbonífera del Norte de Coahuila utilizando una población de pacientes con alteraciones clínicas.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en: -----Proporcionar muestra de sangre necesarias -----declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes; -----Punción venosa con aguja hipodérmica, y extracción de 2 ml. De sangre, en caso de resultado positivo, se tomara una segunda muestra como prueba confirmatoria, en caso de resultado dispar, se realizara una tercera muestra...-- -El investigador responsable se ha comprometido en darme información oportuna sobre cualquier asunto relacionado con la investigación.

El Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificara en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y que los datos relacionados con mi privacidad serán conservados.

Nombre y firma del paciente
DR. JOSÉ GERARDO MARTÍNEZ TOVAR

Nombre, firma, matrícula del investigador principal

Números telefónicos a los cuales puede comunicarse en caso de emergencia, dudas o preguntas relacionados con el estudio:

Testigos

Testigo 1

Testigo 2

**NUEVOS REGISTROS GEOGRÁFICOS Y NOTAS DE INFECCIÓN DE *TRITOMA*
GERSTAECKERI (STÅL) Y *TRITOMA RUBIDA* (UHLER) (HEMIPTERA: REDUVIDAE:
TRITOMINAE) EN NUEVO LEÓN Y COAHUILA, MÉXICO**

Nota Científica
(Short Communication)

**NUEVOS REGISTROS GEOGRÁFICOS Y NOTAS DE
INFECCIÓN DE *TRITOMA GERSTAECKERI* (STÅL) Y
TRITOMA RUBIDA (UHLER) (HEMIPTERA: REDUVIIDAE:
TRITOMINAE) EN NUEVO LEÓN Y COAHUILA, MÉXICO**

Martínez-Tovar, J. G., J. J. Rodríguez-Rojas, W. Arque-Chunga, L. A. Ibarra-Juárez, J. A. Dávila-Barboza, I. Fernández-Salas & E. A. Rebollar-Téllez. 2013. New geographical records and infection notes of *Triatoma gerstaeckeri* (Stål) and *Triatoma rubida* (Uhler) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Nuevo Leon and Coahuila, Mexico. *Acta Zoológica Mexicana (n. s.)*, 29(1): 227-233.

ABSTRACT. The present paper reports new distribution records of *Triatoma gerstaeckeri* (Stål) in the municipalities of China, General Bravo, Santiago and Villaldama of the state of Nuevo Leon; whereas *Triatoma rubida* (Uhler) is reported for the first time in the municipality of Ocampo of the state of Coahuila, México.

Los insectos de la subfamilia Triatominae son reconocidos por ser los vectores del parásito hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (Chagas), el cual es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana. Se estima que en el continente americano la enfermedad está presente en 21 países con una población en riesgo de 100 millones y unas 16-18 millones de personas infectadas (Dias & Schofield 1999, WHO, 2002). En México, se estima que la prevalencia de infección es de 2 millones de personas con una tasa de incidencia anual de 70,000 personas (Ramsey & Schofield 2003, Ramsey *et al.* 2003). Aunque existen diferentes vías de infección de *T. cruzi* a humanos (*e.g.*, hemotransfusiones, congénita y accidental), la transmisión vectorial es la más frecuente y en el país se cree que unas 27 especies de triatóminos están involucradas (Ramsey *et al.* 2003). Particularmente los estados del noreste de México como Nuevo León y Coahuila, no son reconocidos como zonas importantes en la transmisión de *T. cruzi* a humanos y es por ello que existen muy pocos estudios a la fecha. El Dr. Eduardo Aguirre-Pequeño (1947) fue el primero en reportar chin-

ches *Triatoma gerstaeckeri* (Stål) infectadas por *T. cruzi* en los estados de Nuevo León, Coahuila y Tamaulipas, aunque no se señalaron las localidades exactas. En los municipios de Doctor Coss y en General Bravo, Fernández-Salas (1983) reportó a las especies *T. gerstaeckeri*, *T. lecticularia* (Stål), *T. neotomae* Neiva y *T. protracta* (Uhler). Por su parte, Galavíz *et al.* (1991) y Martínez-Ibarra *et al.* (1992) reportaron la presencia de *T. gerstaeckeri* y *Triatoma lecticularia* en diversas localidades del municipio de General Terán, Nuevo León. Años más tarde en el ejido San Juan de Vaquerías en General Terán, N. L., Molina-Garza *et al.* (2007) encontraron 31 chinches *T. gerstaeckeri* infectadas con *T. cruzi*, las cuales se colectaron en nidos de ratas *Neotoma micropus* Baird. Los nuevos registros de distribución geográfica reportadas en la presente comunicación provienen de colectas realizadas de forma esporádica, pero que constituyen parte de un proyecto más amplio para estudiar vectores de leishmaniasis y de la enfermedad de Chagas en el noreste de México. Las colectas de *T. gerstaeckeri* (fig. 1a-c) en el estado de Nuevo León, se realizaron en diversas localidades de los municipios de China (25°42'31" N, 98° 55'36" O, 101 msnm), General Bravo (25°48' N, 99°10' O, 170 msnm), Santiago (25°22'39" N, 100° 14'31" O, 1304 msnm) y Villaldama (26°25'33" N, 100°24'39" O, 500 msnm). Los datos de colecta del material examinado en Nuevo León son: **China** [fecha: 07/04/2012; 1 ♂ 1 ♀, col.

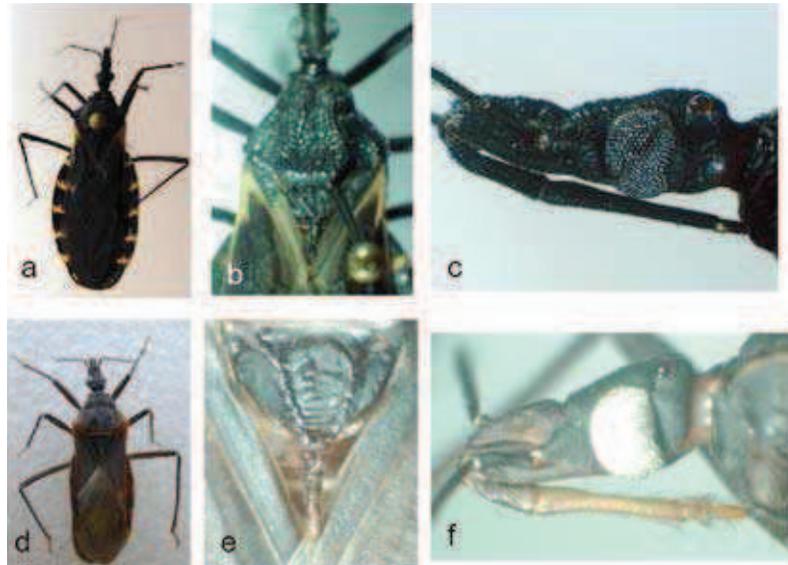


Figura 1. (a) vista dorsal de un adulto macho de *Triatoma gerstaeckeri*, (b) vista dorsal del escudo torácico, (c) vista lateral de la cabeza y segmentos de la probóscide, (d) vista dorsal de un adulto hembra de *Triatoma rubida*, (e) vista dorsal del escudo torácico, (f) vista lateral de la cabeza y segmentos de la probóscide.

O. Flores. Colecta nocturna en ambiente domiciliar. Colonia “Agrícola Doctor Ignacio Morones Prieto. Colecta directa], **General Bravo** [fecha: 21/04/2012, 9 ♀, col. L. A. Ibarra-Juárez & W. Arque-Chunga. Colecta nocturna en ambiente peri-domiciliar con vegetación de tipo xerófito-mezquital. Colecta directa], **Santiago** [Ciénega de González, fecha: 22/06/2010, 1 ♂, col. E. A. Rebollar-Téllez, E. A. Zárate-Nahón & J. J. Rodríguez-Rojas. Colecta nocturna en ambiente de bosque con vegetación de pino-encino. Manta iluminada con luz tipo LED], **Villaldama** [fecha: 28/04/2012, 18 ♂, 6 ♀, col. W. Arque-Chunga & J. J. Rodríguez-Rojas. Colecta nocturna en ambiente peri-domiciliar con vegetación de tipo xerófito-mezquital. Manta iluminada con luz tipo LED]. Adicionalmente se colectó *T. gerstaeckeri* en Coahuila cuyos datos de colecta son: **Ocampo** [estación biológica en La Sierra del Carmen, (102° 23' 47" N, 27° 18' 50" O, 1182 msnm, fecha: 28/05/2012 al 01/06/2012, 6 ♂ 12 ♀, col. personal de la estación campo de CEMEX en Sierra del Carmen]. Todas los especímenes colectados en Nuevo León se encuentran depositados en la colección entomológica del laboratorio de entomología médica (FCB/UANL), con excepción del material colectado en Santiago, N.L., el cual se mantiene en un vial con alcohol al 70% en una refrigerador a -20°C. Así mismo del material de *T. gerstaeckeri* colectado en Coahuila 2 ♂ 5 ♀ se encuentran depositados en la colección entomológica antes mencionada y el resto se preserva en alcohol al 70% en una refrigerador a -20°C. Las heces de las chinches colectadas en China, General Bravo y Villaldama se examinaron por microscopía tradicional para buscar parásitos *Trypanosoma* spp., y se encontraron flagelados parecidos a *T. cruzi* en 2/2 (= 100%) (1 ♂, 1 ♀) de los insectos en China, en 5/9 (= 55.6%)(5 ♀) en General Bravo y en 10/24 (=41.7%)(9 ♂, 1 ♀) en Villaldama. Todas estas colectas de *T. gerstaeckeri* en los municipios antes señalados representan nuevos registros para el estado de Nuevo León con lo cual se amplía la zona de distribución geográfica conocida para la especie. La especie *T. gerstaeckeri* ha sido hasta el presente la más comúnmente colectada además que se ha encontrado naturalmente infectada en Nuevo León (Galavíz *et al.* 1991, Martínez-Ibarra *et al.* 1992, Molina-Garza *et al.* 2007). Además, en la localidad de San Benito, del municipio de Cameron (=country of) en Texas, EE.UU., *T. gerstaeckeri* se encontró en una casa donde se habían reportado tres perros infectados por *T. cruzi* e interesantemente de las 31 chinches colectadas el 77.4% (n=24) contenían parásitos similares a *T. cruzi* (Beard *et al.* 2003). Datos por Kjols *et al.* (2009) en Texas, reportan que *T. gerstaeckeri* tuvo una prevalencia de infección del 55.1 % (86 positivos/156 chinches totales) y consideran a la especie más en asociación con las viviendas humanas, lo cual también coincide con el reporte de Beard *et al.* (2003) quienes indican que ninfas del último estadio de *T. gerstaeckeri* se encontraron en el patio adyacente al domicilio, lo cual significaría un proceso de domiciliación. En cuanto a la distribución geográfica de *T. gerstaeckeri*, Kjols *et al.* (2009) consideran que la especie tiene un amplio rango de distribución que puede traslapar con la distribución de otras especies como *T. sanguisuga* (Leconte), *T. in-*

dictiva Usinger, *T. lecticularia* y *T. protracta*. Ibarra-Cerdeña *et al.* (2009) incluyeron a *T. gerstaeckeri* dentro del complejo *phyllosoma* representado por 11 especies y mediante modelado de nicho ecológico con el algoritmo GARP, estos autores señalaron que existe una correspondencia en un 74% entre las áreas de seropositividad a *T. cruzi* y la ocurrencia de las especies del complejo *phyllosoma*- que incluye a *T. gerstaeckeri*. Por otra parte, usando modelos que predicen distribución geográfica, Sakar *et al.* (2010) mencionan que los modelos construidos reflejan que *T. gerstaeckeri* tiene una vasta distribución en todo el sureste de EE.UU y el norte de México. Por su parte, Sandoval-Ruiz *et al.* (2012) mencionan que *T. gerstaeckeri* se ha reportado en los estados de Chihuahua, Coahuila, Hidalgo, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz y Zacatecas. Específicamente para el estado de Nuevo León, hasta ahora se han reportado las especies *T. gerstaeckeri*, *T. lecticularia*, *T. neotomae* y *T. protracta* (Zárate & Zárate 1985, Cruz-Reyes & Pickering 2006).

Los especímenes examinados de *T. rubida* (Uhler) (fig. 1d-f) en Coahuila tienen los siguientes datos de colecta: **Ocampo** [estación biológica en La Sierra del Carmen, (102° 23' 47" N, 27° 18' 50" O, 1182 msnm), fecha: 09/05/2012, 1 ♂, 9 ♀. col. H. Sotelo Gallardo. Colecta nocturna al interior de una habitación en la estación. Colecta directa]. El hallazgo de *T. rubida* en Coahuila, representa el primer registro de la especie para el citado estado. El material de *T. rubida* se encuentra preservado en alcohol al 70% en viales de plástico en un congelador a -20°C, dos hembras de *T. rubida* se depositaron como referencia en la colección entomológica de la colección antes mencionada. Lent & Wygodzinsky (1979, p. 312) mencionan que *T. rubida* varía considerablemente en tamaño e intensidad de los patrones ornamentales y reconoce varias formas como *rubida*, *sonoriana*, *jaegeri* y *uhleri*. Mientras que Zárate & Zarate (1985) consideran las subespecies *T. rubida cochimiensis* Ryckman, *T. rubida jaegeri* Ryckman, *T. rubidarubida* (Uhler), *T. rubida sonoriana* (Del Ponte) y *T. rubida uhleri* (Neiva). A pesar de que se han realizado análisis moleculares usando genes del citocromo b para *T. rubida*, la taxonomía de *T. rubida* representa en la actualidad una situación aún no resuelta en cuanto a que si es una sola especie, un conjunto de subespecies o bien un complejo de especies (Pfeiler *et al.*, 2006) (*com. per.* Dr. César A. Sandoval Ruiz). Los especímenes reportados en esta nota, se refieren como *T. rubida* en un sentido más amplio (*sensu lato*) y se considera que más estudios detallados sobre distribución geográfica, morfología y biología molecular son requeridos para abordar y elucidar el estatus del taxón *T. rubida*. Por su parte, Kjols *et al.* (2009) consideran que la especie *T. rubida* tiene un hábitat de distribución muy restringido y que por lo tanto solo está presente en ciertas eco-regiones. En contraste, Ibarra-Cerdeña *et al.* (2009) mencionan que sus análisis de nicho ecológico revelaron que las subespecies del complejo *T. rubida* son consideradas generalistas en términos de asociación con la cobertura del suelo y que pueden encontrarse en 5-6 diferentes tipos (*e.g.* matorrales abiertos, cerrados, tierras de cultivo, áreas urbanas, pastizales y

bosques). Recientemente, se reportaron datos biológicos de *T. rubida* en la zona metropolitana de Tucson, Arizona, EE.UU., por Reisenman *et al.* (2010) quienes encontraron que *T. rubida* fue la especie más común (96.3%) y con una mayor abundancia en el periodo de mediados de mayo al fines del mes de agosto y con una prevalencia de infección de 41% en las chinches que se colectaron al interior o alrededor de los domicilios. Este reporte de Reisenman *et al.* (2010) representa un punto a considerar sobre la potencialidad de infestación domiciliar por parte de *T. rubida*. Para las poblaciones de Coahuila no se tienen datos al respecto, pero es interesante observar que las chinches fueron colectadas al interior de una edificación localizada en la sierra. Otro aspecto sobre el potencial vectorial de *T. rubida* es su capacidad de defecación durante y posterior a la ingesta sanguínea sobre un hospedero. Klotz *et al.* (2009) estudiaron algunos aspectos relacionados y encontraron que la especie es vívidamente atraída para iniciar una alimentación cuando se le ofrecía exposición hacia un ratón y se reportó un índice de defecación de 0.35 para machos y 0.75 para hembras. Klotz *et al.* (2009) también mencionan que los adultos de *T. rubida* son posiblemente atraídos por la luz al interior de las viviendas y que una vez ahí, pueden alimentarse de la sangre de humanos. La forma en que se colectaron los especímenes de *T. rubida* en Coahuila coincide con esta descripción, ya que al parecer los adultos fueron atraídos hacia el interior de la edificación y una vez ahí las chinches intentaron alimentarse de la sangre de los humanos que pernoctaban en el lugar. Para el estado de Coahuila, Zárate & Zárate (1985) y Cruz-Reyes & Pickering (2006) enlistaron solo a dos especies: *T. gerstaeckeri* y *T. protracta*, por lo que ahora puede añadirse la ocurrencia de *T. rubida*.

Es importante señalar que los estudios sobre triatomínos en el noreste de México son muy escasos y que aún se desconoce el riesgo de infección vectorial a humanos considerando que en años recientes se han venido documentando más casos autóctonos de la enfermedad de Chagas en EE.UU. (Bern & Montgomery, 2009) y que se considera que la frontera entre México y los estados como Texas y Arizona en EE.UU., comparte ciertos aspectos culturales y un gran movimiento demográfico (Hotez *et al.* 2012). En conclusión, proponemos que se amplíen y profundicen los estudios sobre los vectores potenciales y el riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas en el noreste del país.

AGRADECIMIENTOS. Se reconoce el financiamiento de PAICYT SA341-10 Universidad Autónoma de Nuevo León en el proyecto “Análisis Ecológico y de Distribución de los Insectos Vectores de las Enfermedades de Chagas y Leishmaniasis en el Noreste de México” (Responsable Dr. Eduardo Alfonso Rebollar-Téllez). Parte de este trabajo corresponde a la tesis doctoral de José Gerardo Martínez Tovar. Se agradece al Dr. César A. Sandoval Ruiz de la Escuela de Biología-BUAP, por la corroboración taxonómica de los especímenes de *T. rubida* y por sus valiosos comentarios al respecto. Al personal de CEMEX y en especial al Al Ing. Hugo Sotelo Gallardo se le reconoce por la colecta de los especímenes de *T. rubida* en Ocampo, Coahuila.

LITERATURA CITADA

- Aguirre-Pequeño, E.** 1947. Una nueva localidad en la distribución geográfica de los triatomas naturalmente infectados por *Trypanosoma cruzi* en la República Mexicana. *Archivos Médicos Mexicanos*, 5: 1-11.
- Beard, C. B., Pye, G., Steurer, F. J., Rodríguez, R., Campman, R., Peterson, A. T., Ramsey, J., Wirtz, R. A. & Robinson, L. E.** 2003. Chagas disease in a domestic transmission cycle in southern Texas, USA. *Emerging Infectious Diseases*, 9: 103-105.
- Bern, C. & Montgomery, S. P.** 2009. An estimate of the burden of Chagas Disease in the United States. *Clinical Infection Diseases* 49:e 52-54.
- Cruz-Reyes, A. & Pickering-López, J. M.** 2006. Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years – A review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101: 345-354.
- Dias, J. & Schofield, C.** 1999. The evolution of Chagas disease (American tripanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas discovery. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94 (Suppl. 1.): 103-121.
- Fernández-Salas, I.** 1983. Datos ecológicos del vector de *Trypanosoma cruzi* (*Triatoma*: Hemiptera), asociado a los nidos del roedor *Neotoma micropus* en el noreste de Nuevo León. *Tesis QBP, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León (inédita)*. 36 pp.
- Galavíz, L., Arredondo, J. M. & Vielma, H.** 1991. Triatomíneos domiciliarios en el ejido San Juan de Vaquerías, N. L. México. *Salud Fronteriza/BorderHealth* 7: 20-28.
- Hotez, P. J., Bottazi, M. E., Dumonteil, E., Valenzuela, J. G., Kamhawi, S., Ortega, J., Ponce de León Rosales, S., Betancourt-Cravioto, M., Tapia-Conyer, R.** 2012. Texas and Mexico: Sharing a legacy of poverty and neglected tropical diseases. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6: e1497. Doi:10.1371/journal.pntd.0001497.
- Ibarra-Cerdeña, C. N., Sánchez-Cordero, V., Peterson, A. T. & Ramsey, J.** 2009. Ecology of North American Triatominae. *Acta Tropica*, 110: 178-186.
- Kjols, A. A., Snowden, K. F. & Olson, J. K.** 2009. Biogeography and *Trypanosoma cruzi* infection prevalence of Chagas disease vectors in Texas, USA. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 9: 41-49.
- Klotz, S. A., Dorn, P. L., Klotz, J. H., Pinna, J. L., Weirauch, C., Kurtz, J. R. & Schmidt, J.** 2009. Feeding behavior of triatomines from the southwestern United States: An update on potential risk for transmission of Chagas disease. *Acta Tropica*, 111: 114-118.
- Lent, H. & Wygodzinsky, P.** 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bulletin of the American Natural History*, 163: 127-520.
- Martínez-Ibarra, J. A., Galavíz-Silva, L., Lara-Campos, C. & Trujillo-García, J. C.** 1992. Distribución de los triatomíneos asociados al domicilio humano en el municipio de General Terán, Nuevo León, México. *Southwestern Entomologist*, 17: 261-265.
- Molina-Garza, Z. J., Rosales-Encina, J. L., Galavíz-Silva, L. & Molina-Garza, D.** 2007. Prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos silvestres de Nuevo León, México. *Salud Pública de México*, 49: 37-44.
- Pfeiler, E., Bitler, B. G., Ramsey, J. M., Palacios-Cardiel, C. & Maekow, T. A.** 2006. Genetic variation, population structure, and phylogenetic relationships of *Triatomarubida* and *T. recurva* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from the Sonoran desert, insect vectors of the Chagas' disease parasite *Trypanosoma cruzi*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41: 209-221.
- Ramsey, J. M. & Schofield, C. J.** 2003. Control of Chagas disease vectors. *Salud Pública de México*, 45: 123-128.
- Ramsey, J. M., Ordoñez, R., Tello-López, A., Pohls, J. L., Sánchez, V. & Peterson, A. T.** 2003. Actualidades sobre la epidemiología de la enfermedad de Chagas en México, pp. 85-103. *In*: Ramsey, J.

- M., Tello-López, A. & Pohls, J. L. (Eds.). *Iniciativa para la Vigilancia y el Control de la Enfermedad de Chagas en la República Mexicana*. Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, México.
- Reisenman, C. E., Lawrence, G., Guerenstein, P. G., Gregory, T., Dotson, E. & Hildebrand, J. G.** 2010. Infection of kissing bugs with *Trypanosoma cruzi*, Tucson, Arizona, USA. *Emerging Infectious Diseases*, 16: 400-405.
- Sandoval-Ruiz, C. A., Cervantes-Peredo, L., Mendoza-Palmero, F. S. & Ibáñez-Bernal, S.** 2012. The Triatominae (Hemiptera: Heteroptera: Reduviidae) of Veracruz, Mexico: geographical distribution, taxonomic redescrptions, and a key. *Zootaxa*, 3487: 1-23.
- Sarkar, S., Strutz, S. E., Frank, D. M., Rivaldi, C-L., Sissel, B. & Sánchez-Cordero, V.** 2010. Chagas disease risk in Texas. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4: e836doi:10.1371/journal.pntd.0000836.
- Villagrán, M. E., Marín, C., Hurtado, A., Sánchez-Moreno, M. & de Diego, J. A.** 2008. Natural infection and distribution of triatomines (Hemiptera: Reduviidae) in the state of Querétaro, Mexico. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102: 833-838.
- WHO (World Health Organization).** 2002. *Control of Chagas Disease*. Second report of the WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series No. 905. 109 pp. Geneva.
- Zárate, L. G. & Zárate, R. J.** 1985. A checklist of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) of Mexico. *International Journal of Entomology*, 27: 102-127.

JOSÉ GERARDO MARTÍNEZ-TOVAR¹, JORGE JESÚS RODRÍGUEZ-ROJAS², WILFREDO ARQUE-CHUNGA², JORGE A. LOZANO-RENDÓN³, LUIS A. IBARRA-JUÁREZ², JESÚS ANTONIO DÁVILA-BARBOZA², ILDEFONSO FERNÁNDEZ-SALAS² & EDUARDO A. REBOLLAR-TÉLLEZ²

¹ Hospital General de Zona con Medicina Familiar No 24. Instituto Mexicano del Seguro Social, Nueva Rosita, Coahuila. <webmaster@martineztovar.org>

² Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Zoología de Invertebrados, Laboratorio de Entomología Médica. Av. Universidad s/n, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N. L. C. P. 66451. Tel. y fax (81) 8332 1453. <jorge.rdz3288@hotmail.com>; <wilfrach@gmail.com>; <mvzibarra60@hotmail.com>; <jesusdavilaqbp@gmail.com>; <ildefonso.fernandezsl@uanl.edu.mx>

³ Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Francisco Villa S/N Col. Ex Hacienda el Canadá Escobedo Nuevo León Mexico C.P. 66050. <mvz_lozano65@hotmail.com>

Autor para correspondencia: <eduardo.rebollartl@uanl.edu.mx>

**SEROPREVALENCE OF *T. cruzi* INFECTION IN BLOOD DONORS AND CHAGAS
CARDIOMYOPATHY IN PATIENTS FROM THE COAL MINING REGION OF COAHUILA,
MEXICO**

BRIEF COMMUNICATION

SEROPREVALENCE OF *T. cruzi* INFECTION IN BLOOD DONORS AND CHAGAS CARDIOMYOPATHY IN PATIENTS FROM THE COAL MINING REGION OF COAHUILA, MEXICO

José Gerardo MARTÍNEZ-TOVAR(1), Eduardo A. REBOLLAR-TÉLLEZ(2) & Ildefonso FERNÁNDEZ SALAS(3)

SUMMARY

Context and Objective: Chagas disease is considered a worldwide emerging disease; it is endemic in Mexico and the state of Coahuila and is considered of little relevance. The objective of this study was to determine the seroprevalence of *T. cruzi* infection in blood donors and Chagas cardiomyopathy in patients from the coal mining region of Coahuila, Mexico. **Design and Setting:** Epidemiological, exploratory and prospective study in a general hospital during the period January to June 2011. **Methods:** We performed laboratory tests ELISA and indirect hemagglutination in three groups of individuals: 1) asymptomatic voluntary blood donors, 2) patients hospitalized in the cardiology department and 3) patients with dilated cardiomyopathy. **Results:** There were three levels of seroprevalence: 0.31% in asymptomatic individuals, 1.25% in cardiac patients and in patients with dilated cardiomyopathy in 21.14%. **Conclusions:** In spite of having detected autochthonous cases of Chagas disease, its importance to local public health remains to be established as well as the details of the dynamics of transmission so that the study is still in progress.

KEYWORDS: Chagas disease; American trypanosomiasis; *Trypanosoma cruzi*; Chagasic cardiomyopathy; Coal mining region; Serology; Seroprevalence, ELISA.

INTRODUCTION

Chagas disease or American trypanosomiasis is a neglected public health problem in Latin America³³. The causative agent of the disease is the protozoan *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909) (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), which is a flagellate haemoparasite. The life cycle of the pathogen involves two hosts corresponding to an insect and to a vertebrate. Parasites are transmitted by haematophagous bugs. The vector is an insect of the family Reduviidae, and the subfamily Triatominae. The main route of infection of *T. cruzi* to humans is during defecation after blood-feeding. Nevertheless, other mechanisms for transmission have been documented e.g. blood transfusions from *T. cruzi*-infected individuals³⁷, transplacental route^{5,27}, organ transplantation^{20,40}, breast feeding^{11,12}, laboratory accidents^{15,18}, skinning wild animals¹⁴ and eating undercooked parasitized meat or consuming drink contaminated with triatomine feces⁴⁴.

The importance of Chagas disease in Mexico was highlighted in the national seroprevalence studies reported by VELASCO-CASTREJON in 1992⁴⁶ and more recently by NOVELO-GARZA in 2010³². In both studies it was shown that central and southern Mexico had the highest prevalence rates for the presence of positive antibodies against *T. cruzi*. The states with the highest frequencies were Chiapas and Oaxaca with

5.0% to 4.5% respectively, whereas the mean national seroprevalence was estimated in 1.6%.

For the state of Coahuila, the seroprevalence rate, was found to range from 0.1% to 0.6%⁴⁶. Knowledge of Chagas Disease in Coahuila is virtually nonexistent and data on prevalence, incidence, transmission or vector species in the region have been rarely been referenced.⁸

Because very little is known about Chagas disease in the north of Mexico and especially in the state of Coahuila, in January 2011 we established a research protocol. Its main aim was to provide evidence about the prevalence of infection, and to determine the population and potential risk factors, as well as to conduct entomological investigations to identify potential vectors. During the first phase of this research protocol, we established a primary objective which was to determine the prevalence of antibodies against *Trypanosoma cruzi* that occurs in the coal mining region of Coahuila. The studied population was divided into three groups: (1) asymptomatic blood donors, (2) patients admitted to the cardiology department and (3) patients with dilated cardiomyopathy.

METHODS

The work was carried out with blood donors and patients of the

(1) Doctoral Student. Hospital General de Zona No 24, Instituto Mexicano del Seguro Social, Nueva Rosita, Coahuila, México.

(2) Medical Entomologist. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Laboratorio de Entomología Médica.

(3) Medical Entomologist. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Laboratorio de Entomología Médica.

This work was conducted at Hospital General de Zona No 24 del Instituto Mexicano del Seguro Social in Nueva Rosita, Coahuila, México.

Correspondence to: Eduardo A. Rebollar Téllez. Ph.D. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Laboratorio de Entomología Médica. Av. Universidad s/n, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza Nuevo León. CP 66400. Tel.: +52 81 8332 4714. E-mail: eduardo.rebollartl@uanl.eud.mx

Hospital General de Zona No. 24 of the Mexican Institute of Social Security in Nueva Rosita, Coahuila. This hospital is the main centre of medical services in the coal mining region of Coahuila and serves a population of 140,000 inhabitants. Medical facilities possess 82 hospital beds and an average of 6,000 discharges per year.

The coal mining region of Coahuila is made up of five municipalities which are: Sabinas, San Juan de Sabinas, Múzquiz, Juárez and Progreso. The coal mining region is located between latitude 27°51'36" - 28°59'24" N and longitude 101°07'12" - 101°14'24" W and 380 meters above the sea. It has a semi-arid climate which means that it is very hot in summer and cold in winter¹⁷.

From January through June of 2011 samples were taken in three groups of individuals to determine the presence of antibodies to *Trypanosoma cruzi*: (1) blood donors, (2) patients admitted to the cardiology department and (3) patients with dilated cardiomyopathy. We included all persons who attended as volunteer blood donors, those who were admitted to the cardiology hospital department and those reported in the clinical diagnosis as dilated cardiomyopathy patients (I42.0 key of the International Classification of Diseases tenth edition)³⁴ in the period indicated. The only exclusion criterion was refusal to participate in the study. The samples of each individual of these groups were analyzed to determine the presence of antibodies to *T. cruzi*. The positive cases underwent an epidemiological study that included blood samples taken from house cohabitants. Informed consent was requested. The study was approved by the Local Bioethics Committee under the registration number 2012- 506-25.

The blood donor group included 1615 asymptomatic individuals who came voluntarily to donate blood to the blood bank of the same hospital and covered eligibility criteria according to the corresponding Mexican Official Standard (Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993, "Provision of human blood and blood components for therapeutic purposes").³⁰

The second group was composed of patients admitted to the cardiology hospital department in the same period, these included a total of 160 people with various diseases requiring hospital treatment.

The third group was made up of patients with a diagnosis of dilated cardiomyopathy. Through the clinical file we found 14 patients with this diagnosis. These patients were visited at their homes, and in coordination and support of a public health team, blood samples were taken from those individuals.

Blood samples were obtained from these patients by a puncture in peripheral blood, serum separated by centrifugation at 1200 xg for 10 minutes, aliquoted in Eppendorf tubes and frozen at -20°C until analysis.

Two tests were used for the determination of antibodies:

1. Enzyme linked immunoassay (Biokit - ELISA ChagasWerfen, Barcelona, Spain) is an immunoassay method in which microtiter wells are coated with four recombinant antigens representing immunodominant epitopes of *T. cruzi*. This test is based on the detection of antibody responses to four complementary immunodominant epitopes that were discovered by serologic expression cloning, by using sera from infected patients. These

epitopes are expressed as a single recombinant protein, called Therapeutic, consisting of 101 amino acids, including the amino acid hexahistidine tag used for purification. This protein is expressed in an *E. coli* expression vector and is purified to a single band on SDS page gels³⁶. This procedure was carried out according to Biokit's specifications. The study has a sensitivity of 100% and a specificity of 99.24% according to the manufacturer.^{13, 35}

2. Indirect haemagglutination (HI), also known as reverse passive hemagglutination with Chagatest R (Wiener Laboratory, Rosario, Argentina), based on the property of producing antibodies specific agglutination in the presence of red blood cells sensitized with the corresponding antigens. The procedure was carried out according to the manufacturer's specifications. Titers of 1:16 were considered positive^{29,45}.

The enzyme-linked immunoassay was used as a screening test. Those samples that were positive in the first instance were subsequently analyzed by indirect hemagglutination as a confirmatory test. In accordance with the actual guidelines³¹, the confirmation of the diagnosis of Chagas disease is established by at least two different positive serologic tests. No other tests were carried out.

In the cases that were found positive samples with both tests, we requested them to answer a questionnaire to elaborate on an epidemiological study that included medical history, history of blood transfusion, travel to endemic areas, chest radiographs, electrocardiogram, housing data, risk activities, photographic identification of triatomines and blood sampling from cohabitants. The medical history included questions on alimentary habits.

In positive cases, a search of triatomines at their home premises was conducted. Triatomine bugs were sought within and around the houses.

RESULTS

The study population had the following characteristics: a total of 1615 volunteer donors whose ages ranged between 18 and 65 years old. It was found that 88% were men (n = 1421) and the remaining 12% were women (n = 194), the average age of the sample was 37 years. Patients hospitalized in the cardiology department were 56 women (35%) and 104 men (65%), with a mean age of 69.4 years old. In the group of patients with dilated cardiomyopathy there were 14 cases, including eight women (54%) and six men (46%) with a mean age of 60.9 years old. Only one of the sampled cohabitants was found as positive, a five year old girl. All positive cases were reactive for both ELISA and HAI.

The results of this study are summarized in Table 1. A total of 1615 asymptomatic individuals were analyzed as potential blood donors, five were positive. Out of 160 patients admitted to the cardiology department we found two positive cases. Finally, in the third group of 14 patients with dilated cardiomyopathy, we found that three of them were positive. There was a positive sample derived from the study of co-inhabitants. Seroprevalence levels were found to be 0.31%, 1.25% and 21.14% in asymptomatic individuals, cardiac patients and in patients with dilated cardiomyopathy, respectively. Table 2 shows the individual characteristics of positive cases. Additionally, the geographic distribution of cases in the study area is shown in Figure 1.

Table 1

Seroprevalence results found in the coal mining region of Coahuila in relation with the different groups analyzed.

Origin	Samples	Positive samples	Seroprevalence (%)
Blood tranfusion center	1615	5	0.31
Cardiology Hospital Service	160	2	1.25
Cardiomyopathy	14	3	21.14

The epidemiological survey of positive cases revealed that none had been born outside the studied area nor had any traveled to an endemic area of American trypanosomiasis. The houses of individuals who tested positive were built of block and cement. The questionnaire that included a question on alimentary habits did not reveal any answers that may indicate oral contamination. At the time of our entomological survey, no triatomines were found inside or around the home premises. Only one of the positive cases of dilated cardiomyopathy had had a blood transfusion two years before this study and corresponded to a 60-year-old female who has lived in this area all her life. The transfusion was conditioned by anemia secondary to metrorrhagia.

Socioeconomic status is about average lower middle class, none were considered to be living in a state of poverty. Positive cases were questioned about risk activities such as going to camps, sleeping outdoors, as well as the consumption of wild animals and so forth and the responses were all negative. People were also shown actual-size pictures of triatomines for identification and we recorded that none of them were able to recognize the vector correctly.

DISCUSSION

The northeast region of Mexico (states of Coahuila, Nuevo León and Tamaulipas) is usually not considered as part of the endemic area of Chagas disease in Mexico and for these reasons the disease has largely been neglected by the health sector. In a study carried out by GALAVÍZ-SILVA *et al.* (2009)¹³ a seroprevalence of 2.8 % antibodies against *T. cruzi* was found in blood donors in a hospital of the state of Nuevo León. Regarding

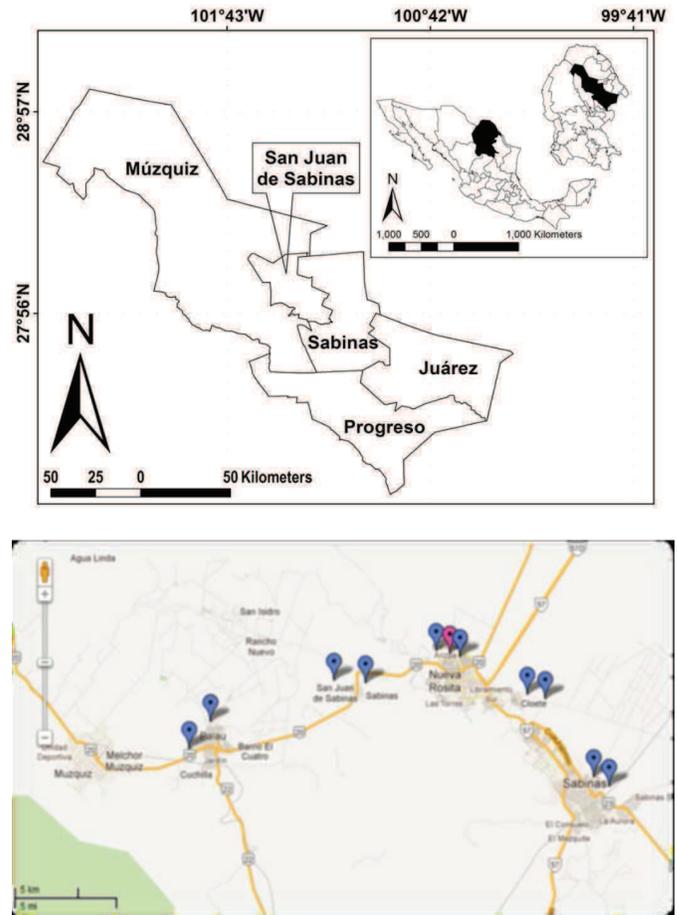


Fig. 1 - Above, a map showing the five municipalities that comprised the coal mining regions in the state of Coahuila. The insert in the upper right corner, represents (black filled shapes) the location of the state of Coahuila in Mexico, as well as the proportion of the coal mining regions in the state of Coahuila. Below, geographical location of Chagas disease cases in the coal mining region of Coahuila in the period January to June 2011. The image was taken from Google Earth®. The blue balloons correspond to the location of the cases. The red balloon represents a positive case found during the epidemiological study.

Table 2

Main epidemiological characteristics of positive cases with *T. cruzi* positive serological results Coahuila coal mining region.

Progressive number	Age	Sex	Detection	Diagnosis	Previous blood transfusions	Travel to endemic zones	Recognition of triatomines
1	42	M	Transfusion center	Asymptomatic	Negative	Negativo	Negativo
2	53	M	Transfusion center	Asymptomatic	Negative	Negative	Negative
3	35	M	Transfusion center	Asymptomatic	Negative	Negative	Negative
4	26	M	Transfusion center	Asymptomatic	Negative	Negative	Negative
5	25	M	Transfusion center	Asymptomatic	Negative	Negative	Negative
6	76	M	Hospital	Cardiac Failure	Negative	Negative	Negative
7	60	F	Hospital	Cardiac Failure	Negative	Negative	Negative
8	76	M	Home	Dilated Cardiomyopathy	Negative	Negative	Negative
9	60	F	Home	Dilated Cardiomyopathy	Positive 2 years ago	Negative	Negative
10	61	F	Home	Dilated Cardiomyopathy	Negative	Negative	Negative
11	5	F	Home	Asymptomatic	Negative	Negative	Negative

the state of Coahuila, there has been virtually no diagnosis in Chagas for the past 20 years. The national study of VELASCO-CASTREJON *et al.* in 1992 in a sample of 1976 people, found a prevalence of 0.1 to 1:32 dilution using hemagglutination and indirect immunofluorescence⁴⁶. To the best of our knowledge, no other study has been carried out in the state of Coahuila, and therefore this paper represents the first evidence that there is a suggested risk of infection of *T. cruzi* among the human population. The work of NOVELO-GARZA, in 2010 revised the responses to antibodies against *T. cruzi* using the ELISA test carried out among blood donors in the Mexican Social Security Institute and reported that in a population of 230,074 they found a seroprevalence of 0.406 %. For the state of Coahuila that National survey included 4611 persons of which 10 were positive for an overall rate of 0.217 in the state. If the state is divided into north and south regions, leaving the towns of Monclova, Nueva Rosita and Piedras Negras as north, then it can be seen that this estimate increases to 0.37 %, which would be a similar estimate to that found in this study. In the city Nueva Rosita which is the center of the coal mining region, the seroprevalence was found to be 0.77 %, and this corresponds to a single case in a sample of only 129 people.³²

The laboratory diagnosis of Chagas disease depends on the clinical stage. It is known that in acute cases it is only possible to identify the etiologic agent, whereas an indeterminate and chronic diagnosis is based on the presence of antibodies against the parasite protozoon *T. cruzi* in sera of infected individuals. These antibodies are mostly detected using different serological tests, the most widely used are the indirect hemagglutination (IHA), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect immunofluorescence (IIF), due to the easy implementation, low cost and good results in terms of specificity and sensitivity. Based on several protocols, it is considered to be a case of Chagas disease when the blood samples of an individual give positive results from at least two different serological tests^{21,38,43}.

Most recently the polymerase chain reaction has been used to detect *T. cruzi* DNA in tissues samples from necropsies and additionally, with this technique it has been possible to determine the number of copies as a way to establish the parasite load in these patients²². The use of molecular techniques to confirm the diagnosis of Chagas disease in a daily clinical practice is still out of reach of most health institutions in Mexico⁶. In our study, confirmation of positive samples by molecular techniques was not considered at this stage because the main objective was to detect seroprevalences in a particular population using the resources provided by the hospital of Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

In the present study we found a seroprevalence of 0.31%, 1.25% and 21.14% for the blood donor (asymptomatic) group, hospitalized cardiac patients and patients with dilated cardiomyopathy respectively. These figures show that the coal mining region of Coahuila is an area in which there is circulation of *T. cruzi* although traditionally it was considered non-endemic region. This data also suggests that Chagas disease may represent a cause for cardiomyopathy. It is likely that many cases are not recognized by the health institutions. Nonetheless, our entomological surveys were limited; we found that in those communities there is basically no knowledge about the vectors and/or transmission mechanisms. Lack of knowledge on vectors or transmission mechanisms represents a shortcoming in the implementation of any prevention program. As was previously mentioned in the results, none of the positive cases were able to identify the insect vector and we did not found triatomine bugs

during the search inside and around their houses. The failure to find triatomines in the houses does not necessarily indicate their absence. It is possible that insects might not have been properly detected during searches or that perhaps they have been conducted at a time of the year when their presence is scarce. It is also possible to consider that there is a transmission cycle well outside houses, which may be conditioned by the migration of vectors between suburban and wild environments²⁴. We suggest that more systematic and thorough entomological studies are required to evaluate the transmission and risk potential of triatomine vectors occurring in the region.

An extradomiciliary cycle of *T. cruzi* can be carried out and maintained in vertebrates other than man, including domestic animals such as pet dogs³. In the United States of America (USA), and particularly in the state of Texas, several vertebrate species (armadillos, coyotes, raccoons, opossums and rats of the genus *Neotoma*) have been documented as having tested positive for the infection with *T. cruzi*⁴². Until recently, in the USA only seven indigenous cases of Chagas disease have been reported (four in Texas, one in Tennessee, one in California and one in Louisiana)^{4,10}. In addition to the above cases, CANTLEY *et al.*, cited a study "The United States *Trypanosoma cruzi* Infection Study" (USTC), which made possible infection screening of blood donors and found that an initial sample of 29 million, 1084 tested positive for antibodies *T. cruzi* and after performing exclusion criteria for a follow-up study, it was determined that 15 indigenous cases were confirmed by tests conducted by the Center for Disease Control (CDC) and also added a case from the state of Mississippi. In the above-mentioned study there were 15 new autochthonous Chagas cases⁷. These new cases certainly indicate that the prevalence of infection with *T. cruzi* in the USA may in fact be an underestimation of the actual disease prevalence and we suggest that something similar may well be happening in northern Mexico, where Chagas disease is still considered unimportant by national health programs.

It should be noted that the U.S.-Mexico border region, shares some socio-cultural aspects, such as significant migratory movement and the presence of some common parasitic diseases, including Chagas disease¹⁶. Furthermore, it has been reported that in Texas there have been seven major species of triatomine¹⁹ of which *Triatoma gerstaeckeri*, *Triatoma lecticularia* and *Triatoma sanguisuga* are considered fairly common and have extensive geographic distributions including many northern states in northeastern Mexico⁴². Many Texas counties that are bordering Mexico have records of the presence of bugs infected with *T. cruzi*¹⁹. It remains to be seen which other triatomine species exist in the state of Coahuila and what the population abundance, seasonality, infection rate and vectorial capacity are. Studies conducted in Nuevo Leon, a Mexican state next to Coahuila, reported *T. cruzi* infection in collected domestic and wild *Triatoma gerstaeckeri* made in municipality of General Teran^{23,26}. A recent study carried out by our research group, reported the presence of native triatomines *T. gerstaeckeri* and *T. rubida* in the north of Coahuila near to the coal region, which may represent another risk factor for local Chagas disease infection²⁵.

Regarding the disease, at this stage it can be said that there are several elements that indicate the presence of autochthonous cases of Chagas. First of all, we have the confirmation of eleven positive samples by two different serological tests and their clinical histories. Secondly, the fact that none of the individuals who tested positive had travelled to high endemicity areas, restricts the possibility of acquiring the infection

elsewhere. Thirdly, we have shown in another publication the presence of two triatomine bugs in Coahuila (i.e. *T. gerstaeckeri* and *T. rubida*), which have been recognized as species of medical importance in the USA. Fourthly, there are some paleoparasitological reports^{2,39} that demonstrate that ancient mummies (aged *circa* 1,000 years) found by the Rio Grande (Rio Bravo) border between Coahuila and Texas were indeed infected with *T. cruzi*. All the above evidence led us to believe that there is an as yet unraveled transmission cycle of *T. cruzi* in the region and that therefore, more detailed studies are required to fully assess the impact and magnitude of risk to the human population.

A very important aim that needs to be achieved is the recognition of the problem caused by Chagas disease by health authorities and inhabitants of this particular region is because at the moment much work has still needs to be carried out in these areas. There is also the problem of treatment since there is no consensus about the correct or optimal management of indeterminate and chronic cases¹. Until now there has been no effective treatment for the indeterminate and chronic cases. Although there are studies developing alternative autologous stem cell treatment and experimental drugs, its management has been limited to the treatment of clinical presentation, e.g. heart failure or arrhythmias²⁸. At the time of detection of indeterminate cases it is important to decide the correct type of treatment in order to prevent the chronic condition from leading to high costs and a deterioration of health⁴⁷.

CONCLUSION

In this study, we report the presence of autochthonous cases of Chagas disease in the coal zone of Coahuila, which highlights the importance of screening studies and finding cases more frequently and with greater geographic coverage. It is very important to disseminate information about the disease, the parasite and its insect vector between inhabitants living in risk areas. With extensive preventative actions the epidemiological costs will be lower and patient expectations about treatment will be better. Therefore we stress the urgent need to continue with more studies to determine the extent of the Chagas problem in the state and in the northeastern region of the country.

RESUMO

Soroprevalência da infecção pelo *T. cruzi* em doadores de sangue e cardiomiopatia chagásica em pacientes da região carbonífera de Coahuila, México

Contexto e Objetivo: A doença de Chagas é mundialmente considerada uma doença emergente, é endêmica no México e no estado de Coahuila e considerada de pouca relevância. O objetivo do estudo foi determinar a soroprevalência da infecção pelo *T. cruzi* em doadores de sangue e cardiomiopatia chagásica em pacientes da região carbonífera de Coahuila, México. **Desenho e Local:** Estudo epidemiológico, exploratório e prospectivo em um hospital geral no período de janeiro a junho de 2011. **Métodos:** Foram realizados testes de laboratório ELISA e hemaglutinação indireta em três grupos de indivíduos: 1) doadores de sangue voluntários assintomáticos, 2) pacientes internados na área de cardiologia e 3) pacientes com cardiomiopatia dilatada. **Resultados:** Foram achados três níveis de soroprevalência: 0,31% em indivíduos doadores de sangue assintomáticos, 1,25% em pacientes cardiopatas e, em pacientes com cardiomiopatia dilatada 21,14%. **Conclusão:** Detectamos

casos autóctones de doença de Chagas em área considerada não endêmica. Deve ser determinada sua importância na saúde pública regional e local, para estabelecer os detalhes do mecanismo de transmissão. O estudo ainda está em desenvolvimento.

ACKNOWLEDGEMENTS

The first author is grateful for the support given to CONACyT through a scholarship for doctoral studies # 392195. We would also like to thank the staff of the General Hospital No. 24 of the Mexican Social Security Institute in Nueva Rosita, Coahuila for the facilities granted.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Amunárriz M, Quito S, Tandazo V, Lopez M. Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en el cantón Aguarico, Amazonia ecuatoriana. *Rev Panam Salud Pública*. 2010;28:25-2.
2. Araujo A, Jansen AM, Reinhard K, Ferreira LF. Paleoparasitology of Chagas disease: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104(Suppl I):9-16.
3. Bear CB, Pye G, Steurer JF, Rodríguez R, Campman R, Peterson AT, et al. Chagas disease in a domestic transmission cycle in Southern Texas, USA. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:103-5.
4. Bern C, Montgomery SP. An estimate of the burden of Chagas disease in the United States. *Clin Infect Dis*. 2009; 49(5):e52-4.
5. Bern C, Verastegui M, Gilman RH, Lafuente C, Galdos-Cardenas G, Calderon M, et al. Congenital *Trypanosoma cruzi* transmission in Santa Cruz Bolivia. *Clin Infect Dis*. 2009;49:1167-74.
6. Brasil PE, De Castro L, Hasslocher-Moreno AM, Sangenis LHC, Braga JU, ELISA versus PCR for diagnosis of chronic Chagas disease: systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2010;10:337.
7. Cantley PT, Stramer SL, Townsend RL, Kamel H, Ofafa K, Todd CW, et al. The United States *Trypanosoma cruzi* infection study: evidence for vector-borne transmission of the parasite that causes Chagas disease among United States blood donors. *Transfusion*. 2012;52:1922-30.
8. Cruz-Reyes A, Pickering-López JM. Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006;101:345-54.
9. Diaz JH. Recognizing and reducing the risks of Chagas disease (American Trypanosomiasis) in travelers. *J Travel Med*. 2008;15:184-95.
10. Dorn P, Perniciario L, Yabsley MJ, Roelling DM, Balsamo G, Diaz J, et al. Autochthonous transmission of *Trypanosoma cruzi*, Louisiana. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:605-7.
11. Ferreira CS, Martinho PC, Amato-Neto V, Cruz RR. Pasteurization of human milk to prevent transmission of Chagas disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2001;43:161-2.
12. Ferreira CS, Amato-Neto V, Gakiya E, Bezerra RC, Rodriguez-Alarcon RS. Microwave treatment of human milk to prevent transmission of Chagas disease. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2003;45:41-2.
13. Galavíz-Silva L, Molina-Garza DP, Gonzalez-Santos MA, Mercado-Hernandez R, González-Galaviz JR, Rosales-Encina JL, et al. Update on seroprevalence of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies among blood donors in northeast Mexico. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;81:404-6.

14. Hanford EJ, Zhan FB, Lui Y, Giordano A. Chagas disease in Texas: recognizing the significance and implications of evidence on the literature. *Soc Sci Med*. 2007; 65:60-79.
15. Herwaldt, BL. Laboratory acquired parasitic infection from accidental exposures. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14:659-88.
16. Hotez P, Bottazzi ME, Dumonteil E, Valenzuela JG, Kamhawi S, Ortega J, et al. Texas and Mexico: sharing a legacy of poverty and neglected tropical diseases. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(3):e1497. doi:10.1371/journal.pntd.0001497.
17. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Mexico en cifras. Available from: <http://www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx>
18. Kinoshita-Yanaga AT, Toledo MJO, Araujo SM, Vier BP, Gomes ML. Accidental infection by *Trypanosoma cruzi* follow up by the polymerase chain reaction: case report. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2009;51:295-8.
19. Kjos SA, Snowden KF, Olson JG. Biogeography and *Trypanosoma cruzi* infection prevalence of Chagas disease vectors in Texas, USA. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2009;9:41-9. doi:10.1089/vbz.2008.0026.
20. Kun H, Moore A, Mascola L, Stevner F, Lawrence G, Kubak B, et al. Transmission of *Trypanosoma cruzi* by heart transplantation. *Clin Infect Dis*. 2009;48:1534-40.
21. López-Antuñano JF, Rangel-Flores H, Ramos C. Diagnosis of Chagas' disease. *Rev Latinoam Microbiol*. 2000;42:121-9.
22. Marcon GEB, Albuquerque DM, Batista AM, Andrade PD, Almeida EA, Guariento ME, et al. *Trypanosoma cruzi*: parasite persistence in tissues in chronic chagasic Brazilian patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2011;106:85-91.
23. Martínez-Ibarra JA, Galaviz-Silva L, Lara-Campos C, Trujillo-García C. Distribución de los triatomíneos asociados al domicilio humano en el municipio de General Terán, Nuevo León, Mexico. *Southwest Entomol*. 1992;17:261-5.
24. Martínez-Ibarra JA, Grant-Guillen Y, Morales-Corona ZY, Haro-Rodríguez S, Ventura-Rodríguez LV, Noguera-Torres B, et al. Importance of species of Triatominae (Heteroptera: Reduviidae) in risk of transmission of *Trypanosoma cruzi* in Western Mexico. *J Med Entomol*. 2008;45:476-82.
25. Martínez-Tovar JG, Rodríguez-Rojas JJ, Arque-Chunga W, Lozano-Rendon JA, Ibarra-Juárez LA, Dávila-Barboza A, et al. Nuevos registros geográficos y notas de infección de *Triatoma gerstaeckeri* (Stål) y *Triatoma rubida* (Uhler) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) en Nuevo Leon y Coahuila, México. *Acta Zool Mex*. 2013;29:227-33.
26. Molina-Garza ZJ, Rosales-Encina JL, Galaviz-Silva L, Molina-Garza D. Prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos silvestres de Nuevo León. *Salud Pública Mex*. 2007;49:37-44.
27. Muñoz J, Portús M, Cortachan M, Fumadó V, Gascon J. Congenital *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic area. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2007;101:1161-2.
28. Murator C, Baranchuk A. Current and emerging therapeutic options for the treatment of chronic chagasic cardiomyopathy. *Vasc Health Risk Manag*. 2010;6:593-601.
29. Neal RA, Miles RA. Indirect haemagglutination test for Chagas' disease, with a simple method for survey work. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1970;12:325-32.
30. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-003-SSA2-1993, "Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos". Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/003ssa23.html>
31. NORMA Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2010, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vector. Available from: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/032ssa202.html>
32. Novelo-Garza B, Benitez-Arvizu G, Pena-Benitez A, Galvan-Cervantes J, Morales Rojas A. Detección de *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2010;48:139-44.
33. Organización Mundial de la Salud. 2005. Reporte del grupo de trabajo científico sobre la enfermedad de Chagas. Copyright © World Health Organization on behalf of the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Actualización 2007. Available from: http://whqlibdoc.who.int/hq/2007/TDR_SWG_09_spa.pdf
34. Organización Panamericana de la Salud. Clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas relacionados con la salud. 10ª rev. Washington: OPS; 1995.
35. Otani MM, Vinelli E, Kirchhoff LV, del Pozo A, Sands A, Veracauteren G, et al. WHO comparative evaluation of serologic assays for Chagas disease. *Transfusion*. 2009;49:1076-82.
36. Persing D. Update on testing for Chagas disease. In: 74th Meeting Blood Products Advisory Committee. At Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research. Silver Spring, Maryland. 2002; September 12:262-265. Available from: <http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/ac/02/transcripts/389211.doc>.
37. Ponce C. Transfusion transmission of Chagas disease in Honduras and other Central American countries. *Medicina (B Aires)*. 1999;59(Suppl 2):135-7.
38. Ramos-Ligonio A, Ramirez-Sánchez ME, Gonzalez-Hernandez JC, Rosales-Encina JL, Lopez-Monteon A. Prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre del IMSS, Orizaba, Veracruz, México. *Salud Pública Méx*. 2006;48:13-21.
39. Reinhard K, Fink TM, Skiles J. A case of megacolon in Rio Grande Valley as a possible case of Chagas Disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003;98(Suppl 1):165-72.
40. Riarte A, Luna C, Sabatiello R, Sinagra A, Schiavelli R, De Rissio A, et al. Chagas' disease in patients with kidney transplants: 7 years of experience, 1989-1996. *Clin Infect Dis*. 1999;29:561-7.
41. Sanchez-Guillen MC, Bernabe C, Guegan JF, Tibayrenc M, Velazquez-Rojas M, Martínez-Munguía J, Salgado-Rosas H, Torres-Rasgado E, Rosas-Ramírez MI, Pérez-Fuentes R. High prevalence anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies, among blood donors in the state of Puebla, a Non-endemic area of Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97:947-52.
42. Sarkar S, Strutz SE, Frank DM, Rivaldi CL, Sissel B, Sanchez-Cordero V. Chagas disease risk in Texas. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4(10):e836. doi:10.1371/journal.pntd.0000836.
43. Sosa-Jurado F, Zumaquero-Ríos JL, Reyes PA, Cruz-García A, Guzman-Bracho C, Monteon VM. Factores bióticos y abióticos que determinan la seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en el municipio de Palmar de Bravo, Puebla, México. *Salud Pública Mex*. 2004;46:39-48.
44. Toso AM, Vial FU, Galanti N. Transmisión de la enfermedad de Chagas por vía oral. *Rev Med Chil*. 2011;139:258-66.
45. Vega-Chirinos S, Naquira-Velarde C. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas). Lima: Instituto Nacional de Salud; 2006. (Serie de Normas Técnicas 26). ISBN 9972-857-30-1.
46. Velasco-Castrejon O, Valdespino JL, Tapia-Conyer R, Salvatierra B, Guzman-Bracho C, Magos C, et al. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. *Salud Pública Mex*. 1992;34:186-96.
47. Viotti R, Vigliano C, Lococo B, Bertocchi G, Petti M, Alvarez MG, et al. Long-term cardiac outcomes of treating chronic Chagas disease with Benznidazole versus No Treatment. *Ann Intern Med*. 2006;144:724-34.

Received: 20 May 2013

Accepted: 10 September 2013

**CHAGAS CHRONIC CARDIOMYOPATHY: REPORT OF TWO CASES IN COAHUILA,
MEXICO.**

Chagas chronic cardiomyopathy: Report of two cases in Coahuila, Mexico

José Gerardo Martínez-Tovar, Ildefonso Fernández-Salas, Eduardo A. Rebollar-Téllez

ABSTRACT

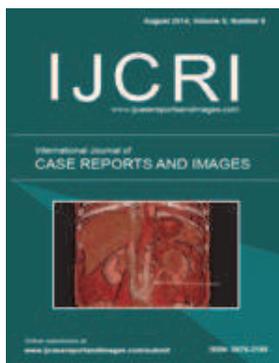
Introduction: Chronic cardiomyopathy is a fatal form of the Chagas disease without specific treatment. It is a frequent type of dilated cardiomyopathy usually not recognized by the health team in non-endemic areas. The cases presented here represent the first autochthonous cases of the disease in Coahuila, Mexico.

Case Series: Two cases of dilated cardiomyopathy with positive antibodies to *Trypanosoma cruzi* are presented, one of them with progressive heart failure and another with conduction disorders.

Conclusion: Even in areas of low endemicity, all cases of dilated cardiomyopathy, Chagas disease should be rule out as one of the etiologies.

 All Articles Open Access

International Journal of Case Reports and Images (IJCRI)



International Journal of Case Reports and Images (IJCRI) is an international, peer reviewed, monthly, open access, online journal, publishing high-quality, articles in all areas of basic medical sciences and clinical specialties.

Aim of IJCRI is to encourage the publication of new information by providing a platform for reporting of unique, unusual and rare cases which enhance understanding of disease process, its diagnosis, management and clinico-pathologic correlations.

IJCRI publishes Review Articles, Case Series, Case Reports, Case in Images, Clinical Images and Letters to Editor.

Website: www.ijcasereportsandimages.com

CASE SERIES

OPEN ACCESS

Chagas chronic cardiomyopathy: Report of two cases in Coahuila, Mexico

José Gerardo Martínez-Tovar, Ildefonso Fernández-Salas,
Eduardo A. Rebollar-Téllez

ABSTRACT

Introduction: Chronic cardiomyopathy is a fatal form of the Chagas disease without specific treatment. It is a frequent type of dilated cardiomyopathy usually not recognized by the health team in non-endemic areas. The cases presented here represent the first autochthonous cases of the disease in Coahuila, Mexico. **Case Series:** Two cases of dilated cardiomyopathy with positive antibodies to *Trypanosoma cruzi* are presented, one of them with progressive heart failure and another with conduction disorders. **Conclusion:** Even in areas of low endemicity, all cases of dilated cardiomyopathy, Chagas disease should be rule out as one of the etiologies.

Keywords: Dilated cardiomyopathy, Chronic cardiomyopathy, Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*

José Gerardo Martínez-Tovar¹, Ildefonso Fernández-Salas²,
Eduardo A. Rebollar-Téllez²

Affiliations: ¹MD, Doctoral Student. Hospital General de Zona No 24, Instituto Mexicano del Seguro Social, Nueva Rosita, Coahuila, México; ²PhD, Medical Entomologist. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Laboratorio de Entomología Médica, Centro Regional de Investigación en Salud Pública (CRISP). Tapachula, Chiapas.

Corresponding Author: José Gerardo Martínez-Tovar, MD, Doctoral Student, Hospital General de Zona No 24 Instituto Mexicano del Seguro Social, Nueva Rosita. Coahuila, México. 26880; Ph: +52 (861)6142405, Fax: +52(861)6145979; Email: webmaster@martineztovar.org

Received: 28 April 2014
Accepted: 03 June 2014
Published: 01 August 2014

How to cite this article

Martínez-Tovar JG, Fernández-Salas I, Rebollar-Téllez EA. Chagas chronic cardiomyopathy: Report of two cases in Coahuila, Mexico. Int J Case Rep Images 2014;5(8):533–537.

doi:10.5348/ijcri-201459-CS-10045

INTRODUCTION

Chagas disease is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. It affects about 10 million people worldwide, while it is estimated that 90 million are at risk of infection [1]. Parasites are transmitted by hematophagous bugs of the family reduviidae, and the subfamily triatominae. The main route of infection of *T. cruzi* to humans is during defecation after blood-feeding. Although, other mechanisms of transmission have been documented, e.g., blood transfusions and organ transplantation from *T. cruzi* infected individuals [2], meat eating undercooked parasitized or drink contaminated with Triatomine feces [3], transplacental route and breast feeding [4], laboratory accidents [5], and skinning of wild animals [6]. The natural history of Chagas disease has three stages, acute illness, indeterminate and chronic state. The chronic disease mainly affects the nervous system, digestive system and the heart. Chagas cardiomyopathy has a prevalence rate of 17.9/100,000 in the general population with an annual mortality rate ranging from 69–95% being the most common chronic form [6]. An estimated 20–30% of the people who initially progressed with the indeterminate form of the disease will progress over a period of a few years or decades to cardiac or gastrointestinal form [7]. Chronic Chagas cardiomyopathy is characterized by a chronic inflammatory process involving all cardiac chambers, damaging the conduction system, and sometimes producing an apical aneurysm. It is thought, that in its pathogenesis there are parasite persistence in

the myocardial tissue and additional immunologic injury [8]. Clinical manifestations include thromboembolic phenomena, chest pain, heart blocks, malignant ventricular arrhythmias, sudden cardiac death and chronic systolic heart failure [6]. Early signs are usually conduction abnormalities and the most frequent are right bundle branch block and left anterior hemiblock as well as abnormal motility of the left ventricle [9]. These abnormalities may lead to palpitations, syncope and to a high risk of sudden death [10]. Chronic Chagasic cardiomyopathy is a fatal form of the disease, for which there is no specific treatment. It is characterized by scattered or focal inflammatory infiltrates, myocytolysis, myonecrosis and progressive deposits of fibrous tissue. The mechanisms responsible for cardiomyopathy are not yet clearly understood, but the presence of chronic myocardial injury in the absence of parasitemia suggesting involvement of autoimmunity [11]. From July 2008, the blood banks of the Mexican Institute of Social Security (IMSS) began the screening of antibodies to *T. cruzi* to volunteer donors [12]. In the General Hospital Family Medicine No 24 “Dr. Felix Oyervides Pinales” since 2011 we extended the study to patients with cardiomyopathies. The cases reported herein are part of these clinical inspections.

CASE SERIES

Case 1: A sixty-year-old female from Sabinas Coahuila, Mexico who had not visited areas of high endemicity for American trypanosomiasis. She was found to have primary hypothyroidism treated for four years with levothyroxine. Two years before the present admission, she received a blood transfusion due to uterine bleeding. She had been asymptomatic until three years ago when she began to experience progressive dyspnea and edema of lower limbs. The electrocardiogram showed left atrial enlargement and generalized low voltage. The chest X-ray showed grade IV cardiomegaly with a cardiothoracic index 0.7. Basic laboratory tests were within normal limits. Cardiac ultrasound showed severe atrial and moderated ventricular dilatation with an ejection fraction of 35%. Gammagram cardiac showed scattered perfusion defects so that cardiac catheterization was performed which was reported as normal. The ventriculography revealed abnormal global and segmental abnormal mobility also severe generalized hypokinesis. Dilated cardiomyopathy was diagnosed initiating treatment with digoxin, furosemide, spironolactone, isosorbide and pravastatin. The patient was admitted into a program for heart transplant protocol. Serological tests performed in our hospital four years later, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), indirect hemagglutination and immunofluorescence were reported positive for Chagas disease.

Case 2: A seventy-six-year old male from Múzquiz Coahuila, Mexico. He reported that he had always lived

there and had never traveled to endemic areas nor had received blood transfusion. He began his present illness about five years ago when presenting paroxysmal episodes of syncope interpreted as Stock-Adams syndrome secondary to sinus node disease producing symptomatic bradycardia alternating with ventricular premature beats. A permanent pacemaker was placed three years ago. He had been asymptomatic until two years ago began with dyspnea and edema of lower limbs. An evaluation at that time revealed on chest radiography grade III cardiomegaly with a cardiothoracic index 0.57.

The ultrasonography showed cardiac dilatation and left heart ejection fraction of 40%. General laboratory tests were within normal limits. Diagnosis of dilated cardiomyopathy was made and management began with digoxin, furosemide, captopril, isosorbide and acetylsalicylic acid and pravastatin. He had been stable with a functional class II, until March 2011 when he came to our hospital with decompensated heart failure manifested mainly by dyspnea at rest. He was admitted to the intensive care unit to his improvement. At that time, an ELISA test was reported positive for antibodies to *T. cruzi*. An indirect hemagglutination test was also positive. The patient was discharged with management support for heart failure and diagnosed with chronic Chagas cardiomyopathy. Table 1 gives summary and comparison of clinical and laboratory test results of the two studied cases and Figure 1 shows the corresponding electrocardiograms and chest radiographs.

Table 1: Summary and comparison of clinical and laboratory test results of the two studied cases from the state of Coahuila, Mexico.

	Case 1	Case 2
Gender	Female	Male
Age	60	76
Clinical Picture	Cardiac failure	Stock-Adams
Time of evolution	3 years	5 years
Functional class NYHA *	III	II
Chest X-ray	Cardiothoracic index 0.7	Cardiothoracic index 0.57
Electrocardiogram	Left atrial enlargement and generalized low voltage	Pacemaker
Ejection fraction	35%	40%
ELISA **	Positive	Positive
IHA ***	Positive	Positive
IIF ****	Positive	Not done

* New York Heart Association

** Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

*** Indirect Hemagglutination

**** Indirect Immunofluorescence

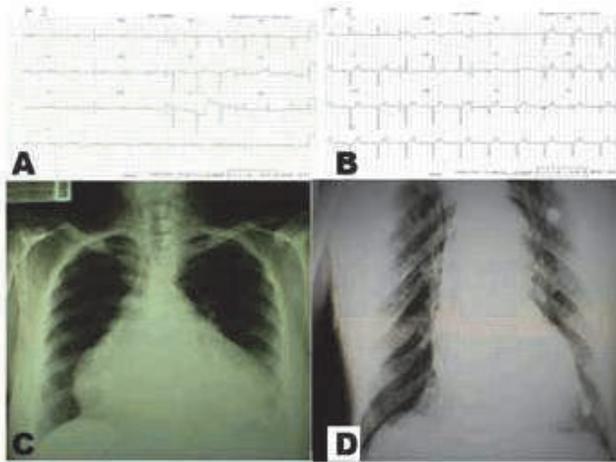


Figure 1: Electrocardiogram and chest X-ray. (A) Electrocardiogram with left atrial enlargement and generalized low voltage of Case 1. (C) chest X-rays with grade IV cardiomegaly and cardiothoracic index 0.7. (B) electrocardiogram with a pacemaker spikes, (D) chest X-ray with grade III cardiomegaly and cardiothoracic index 0.57 of Case 2.

DISCUSSION

To the best of our knowledge, these patients are the first two cases of chronic Chagas, cardiomyopathy reported in the state of Coahuila, Mexico. We suggest that they represent autochthonous cases because there is no history of travel or residence in endemic areas and that all their life has been in Coahuila, and based on the clinical histories of patients. We are aware that conclusive evidence is lacking to fully demonstrate the presence of endemic foci of Chagas disease in northern Mexico. Nonetheless, we can put forward several facts that strongly support our suggestion. Firstly, a previous study conducted by our research team showed a seroprevalence of antibodies to *T. cruzi* in patients with dilated cardiomyopathy to be as high as 21.14% even in areas of low endemicity [13] and these estimates were obtained and confirmed by two different tests [14]. Seroprevalence as such is an estimator at community level and represents some degree of contact with the parasite. Since, only one of the two cases gave a history of recent blood transfusion, and as the disease occurs ten to twenty years after the initial infection, a vectorial transmission is more likely to have occurred. Secondly, in the context of this investigation, we have also shown that two Triatomine species—*Triatoma gerstaeckeri* and *Triatoma rubida*—are present in the region. These two species have been reported to harbor *T. cruzi* parasites [15]. Thirdly, there are reports suggesting that Chagas disease may actually be present in the state of Coahuila since ancient times [14]. Finally, it is important to highlight the urging need to trained health teams in non-endemic areas, because they are not accustomed to

the presence of Chagas disease. As this disease represents a potentially emerging treat, it is very important to continue the detection antibodies against *T. cruzi* in all blood banks, organ as well as the screening in pregnant women and patients with heart diseases. If a systematic surveillance program is established, it would be possible to diagnose acute positive cases in order to undertake specific antiparasitic treatment. In addition, vector ecology and surveillance studies are needed to evaluate the transmission potential of *T. cruzi* to inhabitants of the region.

CONCLUSION

The diagnosis of Chagas chronic cardiomyopathy is based on the presence of antibodies to *Trypanosoma cruzi* by serological techniques as Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), indirect hemagglutination and immunofluorescence in a patient with dilated cardiomyopathy. It is very important to continue to detection of antibodies to *T. cruzi* in all blood banks and organ donors in general, as well as the screening in pregnant women and patients with heart diseases. The finding of acute positive cases represents an opportunity to undertake specific antiparasitic treatment.

Acknowledgements

The first author is grateful to the support given by Conacyt through a scholarship for doctoral studies # 392195. He also wishes to thank the staff of the General Hospital No. 24 of the Mexican Social Security Institute in Nueva Rosita, Coahuila for the facilities granted.

Author Contributions

José Gerardo Martínez-Tovar – Substantial contributions to conception and design, Acquisition of data, Analysis and interpretation of data, Drafting the article, Revising it critically for important intellectual content, Final approval of the version to be published

Ildefonso Fernández-Salas – Substantial contributions to conception and design, Acquisition of data, Analysis and interpretation of data, Drafting the article, Revising it critically for important intellectual content, Final approval of the version to be published

Eduardo A. Rebollar-Télez – Substantial contributions to conception and design, Acquisition of data, Analysis and interpretation of data, Drafting the article, Revising it critically for important intellectual content, Final approval of the version to be published

Guarantor

The corresponding author is the guarantor of submission.

Conflict of Interest

Authors declare no conflict of interest.

Copyright

© 2014 José Gerardo Martínez-Tovar et al. This article is distributed under the terms of Creative Commons Attribution License which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium provided the original author(s) and original publisher are properly credited. Please see the copyright policy on the journal website for more information.

REFERENCES

1. WHO. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. First WHO report on neglected tropical diseases 2010 (online). http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564090_eng.pdf.
2. Ponce C. Transfusion transmission of Chagas disease in Honduras and other Central American countries. *Medicina (B. Aires)* 1999;59(Suppl 2):135–7. [Article in Spanish].
3. Toso AM, Vial FU, Galanti N. Oral transmission of Chagas' disease. *Rev Med Chile* 2011;139:258–66. [Article in Spanish].
4. Muñoz J, Portús M, Cortachan M, Fumadó V, Gascon J. Congenital *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic área. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007;101(11):1161–2.
5. Herwaldt BL. Laboratory acquired parasitic infection from accidental exposures. *Clin Microbiology Reviews* 2001;14(4):659–88.
6. Hanford EJ, Zhan FB, Lui Y, Giordano A. Chagas disease in Texas: Recognizing the significance and implications of evidence on the literature. *Soc Sci Med* 2007;65(1):60–79.
7. Barbosa AP, Cardinali Neto A, Otaviano AP, Rocha BF, Bestetti RB. Comparison of outcome between Chagas' heart disease and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Arq Bras Cardiol* 2011;97:517–25. [Article in English, Portuguese].
8. Rassi A Jr, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet* 2010;375(9723):1388–402.
9. Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simões MV. Pathogenesis of Chronic Chagas Heart Disease. *Circulation* 2007;115(9):1109–23.
10. Maguire JH, Hoff R, Sherlock I, et al. Cardiac morbidity and mortality due to Chagas' disease: Prospective electrocardiographic study of a Brazilian community. *Circulation* 1987;75(6):1140–5.
11. Rassi A Jr, Rassi A, Little WC. Chagas' Heart Disease. *Clin Cardiol* 2000;23(12):883–9.
12. Garcia S, Ramos CO, Senra JF, et al. Treatment with benznidazole during the chronic phase of experimental Chagas' disease decreases cardiac alterations. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(4):1521–8.
13. Novelo-Garza BA, Benítez-Arvizu G, Peña-Benítez A, Galván-Cervantes J, Morales-Rojas A. Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood donors. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2010;48(2):139–44. [Article in Spanish].
14. Martínez-Tovar JG, Rebollar-Téllez EA, Fernández Salas I. Seroprevalence of *T. cruzi* infection in blood donors and Chagas cardiomyopathy in patients from

- the coal mining region of Coahuila, Mexico. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2014;56(2):169–74.
15. Martínez-Tovar JG, Rodríguez-Rojas JJ, Arque-Chunga W, et al. New geographic records and notes of infection of *Triatoma gerstaeckeri* (Stal) and *Triatoma rubida* (Uhler) in Nuevo Leon and Coahuila, Mexico. *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)* 2013;29(1):227–33.

ABOUT THE AUTHORS

Article citation: Martínez-Tovar JG, Fernández Salas I, Rebollar-Téllez EA. Chagas chronic cardiomyopathy: Report of two cases in Coahuila, Mexico Int J Case Rep Images 2014;5(8):533–537.



Jose Gerardo Martinez-Tovar is Head of Internal Medicine Department at Hospital General de Zona No 24 “Dr. Jesus Felix Oyervides Pinales” of the Instituto Mexicano del Seguro Social in Nueva Rosita, Coahuila México. He earned the Medical Degree from Universidad Autónoma de Nuevo León and Internal Medicine Speciality from Secretaria de Salud in Monterrey, México. He is a doctoral student at Medical Entomology Laboratory in the Biology School of Universidad Autónoma de Nuevo León. He has published three research papers in national and international academic journals. His research interests include Chagas disease, leishmaniasis, dengue fever and insects of medical importance. He intends to pursue a postdoc in new treatments and diagnosis tools of Chagas disease in future.



Ildefonso Fernández-Salas is Director of Regional Center for Public Health at National Institute of Public Health in Tapachula, Chiapas, Southern Mexico. He earned the doctoral degree (Medical Entomology, PhD) from The Uniformed Services University of the Health Sciences/Bethesda, Maryland-USA. He has published 78 research papers in national and international academic journals and authored 2. His research interests include Epidemiology and control on dengue fever, malaria, and West Nile Virus mosquito vectors.



Eduardo A. Rebollar-Téllez is Lecturer/Researcher at Medical Entomology Lab, Department of Invertebrate Zoology, Biological Sciences Faculty/ Autonomous University of Nuevo Leon/ Monterrey / Mexico). He earned the undergraduate degree (BSc Biology) from the Biological Sciences Faculty/ Autonomous University of Nuevo Leon, a Master degree in Medical Entomology (Biological Sciences Faculty/Autonomous University of Nuevo Leon) and a PhD from the Centre for Applied Entomology and Parasitology, School of Biological Sciences, Keele University, Staffordshire, United Kingdom). He has been granted several scholarships from Conacyt (Mexico), The Wellcome Trust (UK), WHO/TDR (Switzerland), John D. & Catherine T. MacArthur Foundation (USA), EULEISH/ International Centre for Engineering and Biotechnology ICBEG (Trieste, Italy) and the Japan International Cooperation Agency (JICA) (Tokyo, Japan). He has published 43 research papers in national and international academic journals and authored 2 book chapters. His research interests include the epidemiology and dynamics of transmission of leishmaniasis, Chagas disease and other zoonotic diseases. He intends to pursue a postdoc or sabbatical leave to further strengthen his career as a medical entomologist.

Access full text article on
other devices



Access PDF of article on
other devices

