

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

**DETERMINACION DE TRYPANOSOMA CRUZI EN  
INFECCION AGUDA**

Estudio realizado en 100 pacientes que consultaron a la Emergencia del Hospital Regional de Cuilapa, Santa Rosa. Durante Abril y Mayo de 1993. Guatemala.

**T E S I S**

Presentada a la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

**P O R**

**MOISES OMARK VELASQUEZ ORANTES**

En el acto de su investidura de:

**MEDICO Y CIRUJANO**

**GUATEMALA, JULIO DE 1993.**

DL  
05  
T(7127)

## HOSPITAL REGIONAL DE CUILAPA SANTA ROSA

NUM.....
REF.....

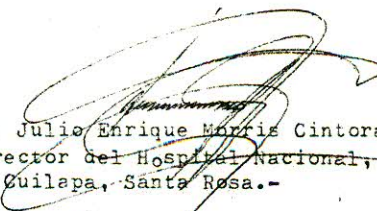
Cuilapa,  
30 julio de 1993.-

Dr. Raúl Castillo Rodas  
Director del Centro de Investigación  
de la Ciencia de la Salud - Su Despacho  
Guatemala.-

Estimado Dr. Castillo:

Por este medio hago de su conocimiento, que fué aprobado en su oportunidad, la elaboración del Trabajo de Investigación y el Informe Final, del Br. MOI--SES OMARK VELASQUEZ ORANTES, Carnet No. 8712546, Titulado: " DETERMINACION DE TRIPANOSOMA CRUZI EN INFECCION AGUDA ", efectuado en este Centro Hospitalario, en el período Abril /Mayo del corriente año.-

Atentamente,

  
Dr. Julio Enrique Morris Cintora  
Director del Hospital Nacional,  
Cuilapa, Santa Rosa.-





FORMA C

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Guatemala, 22 de julio

de 1993

DIF-127-93

Director Unidad de Tesis  
 Centro de Investigaciones de las Ciencias  
 de la Salud - Unidad de Tesis

Se informa que el: BACHILLER MOISES OMARK VELASQUEZ  
 Título o diploma de diversificado, Nombres y apellidos  
GRANTES Carnet No. 87-12546  
 completos

Ha presentado el Informe Final del trabajo de tesis titulado:  
DETERMINACION DE TRYPANOSOMA CRUZI EN INFECCION AGUDA"

y cuyo autor, asesor(es) y revisor nos responsabilizamos de los conceptos metodología, confiabilidad y validez de los resultados, pertinencia de las conclusiones y recomendaciones, así como la calidad técnica y científica del mismo, por lo que firmamos conformes:

Firma del estudiante

Asesor  
 Firma y sello personal  
 MEDICO Y CIRUJANO  
 COLEGIADO NO. 1741

Col 2823  
 MEDICO Y CIRUJANO  
 Col 2823

Revisor  
 Firma y sello  
 Registro Personal 8800

Dra. Carmen Villagrán de Tercero  
 MEDICO Y CIRUJANO  
 Col: 8177



## INDICE

I.	INTRODUCCION.	1
II.	DEFINICION DEL PROBLEMA A INVESTIGAR.	3
III.	JUSTIFICACION.	5
IV.	OBJETIVOS.	7
V.	REVISION BIBLIOGRAFICA.	8
	DEFINICION.	8
	1. HISTORIA.	8
	2. ETIOLOGICA.	9
	3. EPIDEMIOLOGIA.	10
	4. CICLO BIOLOGICO.	12
	5. PATOGENIA Y MANIFESTACIONES CLINICAS.	13
	6. INMUNIDAD.	18
	7. DIAGNOSTICO.	20
	8. TRATAMIENTO.	25
	9. PREVENCIÓN Y CONTROL.	26
VI.	METODOLOGIA.	27
VII.	PRESENTACION DE RESULTADOS.	33
VIII.	ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS.	38
IX.	CONCLUSIONES.	40
X.	RECOMENDACIONES.	41
XI.	RESUMEN.	42
XII.	BIBLIOGRAFIA.	43
XIII.	ANEXOS.	47

## I. INTRODUCCION

La enfermedad de Chagas o Trypanosomiasis americana es una infección endémica en Guatemala. En América se han reportado casos desde el sur de Estados Unidos, hasta la Patagonia. Estimaciones hechas por la OMS a partir de estudios sero-epidemiológicos concluyen que en la región existen 10-20 millones de humanos infectados y 75 millones a riesgo de contraer la infección. La mayoría de los casos se originan en comunidades periurbanas, y rurales, en donde la endemia se mantiene debido a las condiciones precarias de vivienda, a los hábitos higiénicos prevalentes y a la naturaleza selvática y doméstica del vector.

Desde el punto de vista clínico esta enfermedad se presenta en forma aguda, sub-aguda o crónica. La forma aguda es más frecuente en niños y la sub-aguda y crónica en adultos ya que se requiere de un largo periodo para que se desarrollen las lesiones irreversibles, características de la fase crónica.

Los datos obtenidos en los últimos 20 años en Guatemala señalan que el departamento de Totonicapán se encuentra exento de la presencia de L. cruzi de los 22 departamentos, así como también se ha comprobado la presencia del vector infectado, intradomiciliario. Lo cual con los datos obtenidos de la Dirección General de Servicios de Salud reportan anualmente de 25-52 casos, lo cual no es un indicador de la magnitud del problema ya que los casos reportados son aquellos que acuden por demanda espontánea.

El área sur-oriental del país es la que presenta la mayor frecuencia del problema. Estudios previos han demostrado que la prevalencia de infección chagásica en esta área es de un 15 hasta un 40% de la población aparentemente sana, por esta razón se seleccionó el Hospital Regional de Cuilapa Santa Rosa.

Se tomó una muestra de 100 niños que consultaron al hospital con síntomas febriles acompañados de otros signos clínicos compatibles con enfermedad de Chagas aguda.

A todos los niños se les practicó una encuesta clínico epidemiológica para investigar los factores condicionantes ambientales que favorecen la transmisión de la enfermedad, buscando síntomas y/o signos clínicos de infección aguda por Trypanosoma cruzi o episodios febriles. Para investigar la frecuencia de infección aguda por L. cruzi se tomó una muestra de sangre y se investigó la presencia del parásito por métodos directos (Naranja de Acridina y el de Strout Modificado); así también se investigó la presencia de anticuerpos IgM anti L. cruzi por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y Análisis Inmunoenzimático en fase sólida (ELISA).

Después de analizar los resultados encontramos que el grupo escolar (6-11 años de edad) fué el 49% de niños que consulto al Hospital Regional de Cuilapa.

En el 9% de los niños se hizo observación presuntiva del parásito por el método de Naranja de Acridina y además presentaban anticuerpos sericos IgM anti L. cruzi con los dos métodos IFI y ELISA. Un 4% presentaron únicamente la presencia del parásito por el método de Naranja de Acridina. Estos hallazgos demuestran que la infección por L. cruzi en niños febriles de esta área está entre 9 - 13%.

Los signos clínicos encontrados en los niños positivos fueron fiebre en el 100%, adenopatía en el 100%, diarrea en el 31% y anorexia en el 8%.

En relación a los datos ecológicos se encontró que el 92% de los niños infectados por L. cruzi poseen un tipo de vivienda apta para la proliferación del Vector. Y el 77% de estos niños no conocen el vector transmisor de la Enfermedad de Chagas.

Estos hallazgos demuestran la necesidad de continuar el estudio de la evolución clínica, parasitológica e inmunológica de estos niños para brindarles en el futuro un tratamiento médico adecuado, así como diseñar estrategias epidemiológicas que garanticen la erradicación o control de esta enfermedad.

## II. DEFINICION DEL PROBLEMA A INVESTIGAR

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana es una antropozoonosis causada por Trypanosoma cruzi un protozoo, el cual se transmite por insectos chupadores de sangre (chinche) de los géneros *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus*. La Tripanosomiasis continua siendo una zoonosis típica de zonas cálidas y húmedas de zonas rurales en casi todos los países del hemisferio occidental. (5, 9, 17, 18, 25, 32, 39).

Esta es una enfermedad aguda, subaguda o crónica, que afecta sobre todo a niños y adultos jóvenes, que viven en zonas rurales donde las condiciones socioeconómicas son malas y las viviendas están mal construidas con lodo, barro, adobe o caña con numerosas rendijas en las paredes lo cual ofrece un excelente refugio para las chinches reduvidas. Se estima por lo menos 35 millones de personas en Iberoamérica están expuestas a esta infección la cual presenta aun una alta prevalencia en zonas rurales que están íntimamente relacionadas con el subdesarrollo económico. (8, 9, 17, 18, 19).

La enfermedad de Chagas es un importante problema de salud pública en Latinoamérica, la cual se distribuye en extensas áreas rurales y periurbanas de la mayoría de los países del continente incluyendo México por el norte, Argentina y Chile por el sur. Se estima que en dichas áreas donde residen alrededor de 90 millones de personas, de las cuales 16 millones están infectadas por el parásito. (5, 23).

La enfermedad de Chagas en Guatemala afecta a un número importante de personas en las áreas endémicas, encontrándose dentro de estas, los siguientes departamentos: Chiquimula, Escuintla, Jutiapa, Baja Verapaz, Santa Rosa y el Progreso. (6, 23).

Desde el punto de vista patológico se caracteriza por la presencia de tripanosomas en la sangre y de Amastigotes en los tejidos. La etapa aguda se manifiesta por fiebre, edema facial y general, adenitis, anemia y presencia de nódulos subcutáneos (paniculitis). Los síntomas en la etapa crónica dependen de la localización del parásito en el corazón, los sistemas nervioso central y autónomo, el hígado, el bazo y otros órganos. (7, 17, 31).

En relación a los métodos Parasitológicos usados en el diagnóstico de la enfermedad de chagas, el método de Naranja de Acridina (P. M. 301.8) utiliza un colorante básico, que es a la vez fluorescente y metacromático; su color ortocromático es verde; su color metacromático completo es naranja rojizo. Se fija a los grupos aniónicos de muchas substancias y el grado de unión depende del número de aniones disponibles. En el caso de los polinucleótidos naturales de ADN y RNA, el naranja de acridina se



fija en dos focos distintos, o sea, los pares de bases vecinas y los grupos fosfato en los filamentos helicoidales. Este método en estudios previos reportan que permite detectar hasta 3 parásitos por microlitro de sangre. Lo cual está condición lo hace particularmente útil para la detección de parasitemia en pacientes con la enfermedad de Chagas. Ya que el DNA de los tripomastigotes se colorea de verde y naranja el RNA bajo una luz ultra-violeta con un microscopio. (21, 30, 36).

Con respecto a los métodos Inmunológicos usados en el Diagnóstico, el método de ELISA se ha popularizado debido a que es muy sensible y no requiere equipo especial como la inmunofluorescencia o el análisis inmunorradiactivo. Puede usarse para medir antígenos ó anticuerpos. Estos métodos son altamente específicos y útiles en la detección de cualquier isotipo de inmunoglobulina. La OMS recomienda el uso del criterio de dos ó más de estos métodos positivos ó un método parasitológico indirecto para identificar la enfermedad. Por ello se utilizaron en el presente estudio 2 métodos inmunológicos y uno parasitológico. (27).

### III. JUSTIFICACION

La Tripanosomiasis Americana es un importante problema de salud pública en casi todos los países del hemisferio occidental así como de Latinoamérica y en este apartado que nos corresponde principalmente Guatemala. Lo cual desde el punto de vista epidemiológico, luego de mucho tiempo de periodo silencioso asintomático, 27% de los infectados desarrollan síntomas cardiacos que pueden llevar a muerte súbita, 6% desarrollan daño digestivo (megaviscera) y 3% presentan daño del Sistema Nervioso Periférico. El resto 64% no presentan ningún cuadro clínico sintomático. Por lo que es necesario que en las áreas endémicas de Guatemala se haga el diagnóstico temprano de la enfermedad en etapa aguda por métodos parasitológicos que hagan detección de baja parasitemia en pacientes asintomáticos. (17, 23, 37).

El procedimiento más importante para la enfermedad de Chagas aguda es el examen microscópico directo de sangre anticoagulada, o método parasitológico directo como lo es el método de Naranja de Acridina el cual permite detectar (según algunos reportes) hasta 3 parásitos por microlitro de sangre. Esta condición lo hace particularmente útil para la detección de baja parasitemia en pacientes asintomáticos que puedan actuar como portadores de la enfermedad. La Técnica de Centrifugación de sangre periférica en capilares coloreados con Naranja de Acridina, ha mostrado ser un rápido y segundo test para la identificación de parasitemia en pacientes con enfermedad parasitaria. Es un método que en estudios preliminares se encontró que era efectivo y rápido como instrumento de recuento celular de sangre completa; así como en modelos animales se encontró que parásitos sanguíneos como tripanosomas de la enfermedad de Chagas son detectados por este método. Aunque su uso a nivel comunitario está limitado por la necesidad del microscopio con luz Ultra Violeta para la observación, la toma de muestra podría ser a nivel comunitario y su interpretación a nivel de laboratorios centrales o de referencia. (21, 30, 36, 39).

En relación a la epidemiología de la enfermedad de Chagas en estudios realizados en diversas poblaciones de Guatemala se encontró que la incidencia de infección congénita es de 0.05 - 5% en neonatos de bajo peso de madres chagasicas. Actualmente la prevalencia de la enfermedad de Chagas en áreas endémicas se estima en 500,000 casos que corresponde al 10-40% de población aparentemente sana es área seropositiva de la enfermedad de chagas, y la procedencia de miocardiopatía descrita en áreas endémicas es de 1 - 2%. (3, 33).

Un estudio epidemiológico a nivel nacional de 1,260 donadores de varios bancos de sangre del país de un estudio clínico demostró que la frecuencia de infección chagásica en el país es mayor de lo que pareciera. Siendo los departamentos más afectados:

Chiquimula (18.3%), Escuintla (16.0%), Jutiapa (10.0%), Baja Verapaz (9.6%), Santa Rosa (9.3%), Progreso (7.3%). En el caso de la submuestra de donadores de sangre se ha demostrado una frecuencia de 5.0%, lo que indica que importante es el diagnóstico con un método que pueda ser utilizado tanto en áreas rurales como urbanas, el cual sea específico en un alto porcentaje. (23).

En países endémicos la transfusión de sangre es la 2da vía de transmisión más frecuente para la enfermedad de Chagas. Pero en áreas no endémicas, esta vía de transmisión actualmente es un problema real. La transmisión sanguínea es una de las mayores implicaciones de la enfermedad de Chagas a nivel urbano y se ha considerado el aspecto más difícil de su control. El riesgo de una transmisión luego de una transfusión de 500 cc. de sangre (+) se ha estimado de 12.5-25%. (22, 26).

En publicaciones recientes el método de ELISA ha demostrado mejor sensibilidad que otros estudios serológicos, en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, ya que es sensible y fácil de realizar pero no es de uso común. Por lo que en el presente trabajo fué de utilidad al realizarse conjuntamente con el método de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) para detectar anticuerpos IgM anti T. cruzi, ya que según publicaciones de la OMS para realizar diagnóstico aceptado de la enfermedad de Chagas deben utilizarse por lo menos 2 métodos serológicos o más. (27, 30, 36).

La utilidad de establecer el diagnóstico de la enfermedad en la etapa aguda, radica en el tratamiento médico precoz que puede brindarse al paciente y así mejorar el pronóstico de la enfermedad la cual en estadios posteriores puede provocar un daño irreversible a algunos órganos. Ya que el fármaco activo contra T. cruzi que hay disponible (Nifurtimox o benznidazol) en la fase aguda de la enfermedad de Chagas, reduce considerablemente la duración de los síntomas y la parasitemia y disminuye la mortalidad. Lo que es más importante, muchos pacientes tratados durante la fase aguda nunca desarrollan anticuerpos contra T. cruzi, o lo hacen sólo de manera transitoria.

#### IV. OBJETIVOS

##### A.- GENERALES

1. Determinar la presencia de Trypanosoma cruzi por medio de diagnóstico Parasitológico o Inmunológico en pacientes con Infección Aguda que consultan a la emergencia del Hospital Regional de Cuilapa, Santa Rosa.

##### B.- ESPECIFICOS

1. Determinar la efectividad del método de Naranja de Acridina en este estudio.
2. Identificar el grupo de edad más frecuentemente afectado por esta patología.
3. Identificar el sexo más frecuentemente afectado por esta patología.
4. Determinar la presencia de IgM anti T. cruzi en pacientes con síntomas clínicos de la enfermedad de Chagas en fase aguda.

## V. REVISION BIBLIOGRAFICA

## A. ENFERMEDAD DE CHAGAS

## DEFINICION:

La enfermedad de Chagas es una infección causada por Trypanosoma cruzi, caracterizada por enfermedad aguda, a menudo asintomática, la cual se manifiesta por fiebre, edema facial, adenitis, anemia y presencia de nódulos subcutáneos, seguida después de un período latente que puede durar decenios, de secuelas cardíacas y gastrointestinales crónicas. Sinónimos comunes son: Schizotrypanum Cruzi, Trypanosoma Escomeli Yorke, Trypanosoma Triatomae Kofoid y McCulloch. (2, 7, 9, 18, 23, 25).

## 1.- HISTORIA

Se sabe que Carlos Chagas a la edad de 29 años en 1,909 realizando estudios sobre paludismo en Lassance, una noche que él y Penna su compañero pasaron en un campamento de ingenieros camino a un lugar llamado Pirapora, el jefe de ellos les mostró un insecto hematófago que infestaba las viviendas de la localidad, el cual era llamado barbeiro (literalmente, barbero), porque picaba en la cara, o chinche hocicona, en tanto que entre los entomólogos se conocía como Panstrongylus Megistus, en el cual examinando su aparato digestivo encontró numerosos flagelados en los intestinos posteriores de todos los hemipteros del género Triatoma. Por consiguiente Chagas decidió determinar si los insectos podían transmitir los flagelados a monos títies por lo que en el Manguinhos (Brasil) los insectos picaron a algunos títies de la especie Callithrix Penicillata, y a otros se les inyectó el contenido de los insectos de los barbeiros. Pocas semanas después murió el primer títi infectado, por lo que se examinó la sangre del mono, encontrándose un tripanosoma que a primera vista y antes de examinarlo con métodos técnicos Chagas pensó que era un Trypanosoma Minasense. Después de observar al flagelado vivo entre el cobreobjetos y la platina, dice Chagas: fijé y teñí algunas preparaciones en las que aprecié algunas características totalmente diferentes de las del Trypanosoma Minasense por lo que indudablemente, se trataba de una nueva especie cuya característica distintiva era el Blefaroplasto el mayor que había visto hasta ese momento que tenía en el extremo posterior (el extremo opuesto al flagelo libre). (1, 9, 19, 39).

Chagas descubrió, además que se podía transmitir no solo a los monos, sino también a cachorros, cobayos y conejos, y que para esas criaturas era patógeno y solía causarles la muerte por septicemia. Con esta información, llamó al microbio Trypanosoma cruzi en honor a Oswaldo Cruz. (17, 19, 25).

No obstante, Chagas encontró L. cruzi en la sangre de un gato enfermo que vivía en una casa infestada por barbeiros y, posteriormente a una niña con Temperatura axilar de 40 grados C.; agrandamiento del bazo, aumento del tamaño del hígado; grupos de ganglios periféricos hinchados, y lo más notable era una infiltración generalizada, más acentuada en la cara. Por lo que Chagas descubrió tripanosomas en la sangre de la niña, que se llamaba Berenice, el 14 de abril de 1909. (9, 19).

Este es el único caso en la historia de la medicina en que el agente etiológico de una enfermedad y el insecto transmisor se descubrieron antes de ser diferenciada aquella como entidad nosológica. En 1916 Carlos Chagas separo la forma aguda de la enfermedad en 2 grupos: 1) Casos benignos y la 2) forma maligna que comúnmente es letal (meningoencefalitis). (9, 11).

El segundo país en donde se diagnosticó L. cruzi, fue El Salvador, por Segovia en 1,913. Dentro de las más importantes contribuciones sobre el tema, destacamos las de Mazza, Romaña y Del Ponte (Argentina). Reichenow de Hamburgo, encuentra los primeros casos de Enfermedad de Chagas en 1932, en la finca las Viñas, departamento de Santa Rosa (Guatemala); en 1942, de León, inicia fecunda labor de investigación que fue continuada por más de dos décadas; en 1950, Peñalver catalizó esfuerzos, promovió estudios y fundó la Sección de tripanosomiasis en la antigua Dirección General de Sanidad. Dias (1939) afirma que la transmisión del L. cruzi de vertebrado a vertebrado puede efectuarse por vía placentaria y por la ingestión accidental de artrópodos parasitados. (1, 8, 9).

## 2.- ETIOLOGIA:

La Enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana es una zoonosis ocasionada por Trypanosoma cruzi, un protozoo parásito del suborden Trypanosomatidae. El Trypanosoma cruzi es un protozoo intracelular pleomórfico que tiene dos fases en su ciclo vital, una en el hombre y otros mamíferos (huéspedes reservorios), y la otra en los insectos transmisores. En los mamíferos infectados los tripanosomas típicos circulan en la sangre como Tripomastigote, hemoflagelado fusiforme de 15 a 20 micras de largo, con una membrana ondulada estrecha, circula pero no se multiplica en el torrente sanguíneo. Con el colorante de Giemsa, el citoplasma granuloso se tiñe de azul, y el núcleo central, el cinetoplasto grande (cuerpo parabasal y blefaroblasto) y el flagelo, de rojo y violeta. En la sangre existen dos formas: una larga y delgada y otra corta y ancha. El Tripanosoma en las células del sistema reticuloendotelial y de células tisulares, pierde el flagelo y la membrana ondulante y adopta la forma de Amastigote, o sea, cuerpos redondos u ovales de 3 a 5 micras, localizándose de preferencia en el tejido nervioso y músculos, en especial el miocardio. La multiplicación ocurre sólo en la fase de Amastigoto

en las células huésped. El tripomastigote penetra en una célula huésped (con frecuencia una célula muscular cardíaca o lisa), se redondea y comienza a multiplicarse por fisión binaria cada 12 horas, adquiriendo forma quística (seudoquiste), lo cual provoca ruptura de la célula. Finalmente cuando el tripanosoma completa su evolución endocelular, en 4 a 5 días, abandona el pseudoquiste, luego de estallar en otras células vecinas o pasa al torrente circulatorio para anidarse en tejidos distintos. En el paso de Amastigote a Tripomastigote se encuentran formas de Epimastigote. (1, 5, 9, 13, 17, 18, 25, 31, 39).

El Trypanosoma cruzi, puede ser transmitido al hombre por insectos chupadores de sangre de los géneros Triatoma, Rhodnius y Panstrongylus. En el huésped invertebrado, T. cruzi crece extracelularmente en dos formas diferentes. Los epimastigotes se multiplican en el intestino medio del insecto y en 1 a 2 semanas se diferencian en el recto (intestino caudal) del mismo en Tripomastigotes metacíclicos, las formas infecciosas para el huésped mamífero. (1, 9, 19, 25).

### 3.- EPIDEMIOLOGIA:

La enfermedad de Chagas es una Antropozoonosis típica de zonas cálidas y húmedas de casi todo el hemisferio occidental. Los reservorios de T. cruzi son el hombre y otros mamíferos, sobre todo el armadillo y la zari güeya, también se ha aislado de los siguientes animales: de la rata de la madera, el mapache, el zorrillo, el perro, el gato, el cerdo doméstico y otros mamíferos, incluyendo por lo menos dos especies de monos. La enfermedad se transmite al hombre, a través de diversas especies de cinco géneros de insectos reduvidos (superfamilia Reduvidioidea, familia Triatomidae), insectos asesinos o besadores, chinches hociconas, alados, hematófagos, que se encuentran en madrigueras de animales y se han adaptado a vivir en las cuarteaduras, paredes de barro y techos de paja de viviendas rurales mal construidas, así también se les encuentra con frecuencia en establos y porquerizas. Durante el día las chinches permanecen en agujeros y hendiduras o en el techo de paja, morada que abandonan durante la noche cuando los insectos son activos, picando generalmente en partes no cubiertas del hombre dormido, como la cara, brazos y en uniones mucocutáneas (con mayor frecuencia el labio o canto externo del ojo). Los tripanosomas siempre están presentes en la sangre periférica de los reservorios salvajes, mientras que en la de los casos humanos sólo se observan periódicamente. Al alimentarse, el insecto ingiere tripanosomas flagelados, que después de multiplicarse y desarrollarse en el intestino medio del insecto durante 8 a 10 días, a medida que se llena de sangre, el aumento de la presión intraabdominal promueve la defecación, y los tripanomastigotos en heces pueden contaminar y penetrar en mucosas o pequeñas abrasiones provocando la infección. (5, 9, 23, 24, 25, 32, 40).

El mecanismo usual de transmisión del T. cruzi de hombre a hombre en el sudeste del Brasil es mediante el triatomideo Panstrongylus megistus; el norte del Brasil, por Triatoma sordida y T. brasiliensis; en el norte de Argentina, Chile y Uruguay, por Triatoma infestans; en la parte norte de Sudamérica y Centroamérica, por Rhodnius prolixus; en México, principalmente por especies del grupo L. protracta-phylosoma-pallidipennis y en Guatemala, principalmente Triatoma dimidiata y Rhodnius prolixus, distribuidos en 21 departamentos, ya que sólo en Totonicapán no se encuentran; también se ha señalado el L. nitida, pero su número es escaso. Estos vectores mencionados anteriormente que se adaptaron a vivir en casas mal construidas provocan infecciones en las personas que las habitan en un 30 - 40% en alto grado. (1, 8, 9, 12, 17, 33).

Dias afirma que la transmisión del T. cruzi de vertebrado a vertebrado puede efectuarse por vía placentaria y por la ingestión accidental de artrópodos parasitados. Las Transfusiones de sangre y las inoculaciones accidentales pueden ser responsables también de infección por T. cruzi. (9, 18, 25).

La transmisión por vectores ocurre de la Latitud 42 grados Norte a Latitud 40 grados Sur. Luego de mucho tiempo de periodo silencioso asintomático, 27% de los infectados desarrollan síntomas cardíacos que puede llevar a muerte súbita, 6% desarrollan daño digestivo (megaviscera) y 3% presentan daño del Sistema Nervioso Periférico. El resto 64% no presentan ningún cuadro clínico sintomático. Se calcula una prevalencia total de casos de infección humana en el continente Americano de 16 millones de casos. Cerca de 90 millones de personas (25% de la población total de América Latina) esta bajo riesgo de contraer infección por T. cruzi. (37)

Según la OMS el Continente Americano (área endémica), se divide en 4 grupos de acuerdo a: Magnitud de la transmisión, calidad y cantidad de la información epidemiológica, y en la existencia o no de acciones coordinadas de control de la enfermedad.

GRUPO I: Argentina, Brasil, Chile, Ecuador, Honduras, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela. Formado con altas fases de prevalencia de infección humana y altas fases, de infección por Triatomas en las casas. Países con programas verticales de control y estrategias de Atención Primaria de Salud.

GRUPO II: Bolivia, Colombia, Costa Rica y México. Incluye países con transmisión intradomiciliaria y una clara asociación entre infección y cambios patológicos de la enfermedad. No hay programas formales de control.



GRUPO III: El Salvador, Guatemala, Nicaragua y Panamá. Son países con transmisión intradomiciliaria que requieren datos epidemiológicos para correlacionar infección con cuadro clínico. En estos países se observa frecuentemente la fase aguda de la enfermedad y se calcula una prevalencia de reacciones seropositivas del 10 - 20%.

GRUPO IV: Antigua, Aruba, Bahamas, Belice, Cuba, Curacao, República Dominicana, Granada, Guadalupe, Guiana Francesa, Guyana, Haití, Jamaica, Martinico, Suriname, Trinidad y Tobago, Islas Vírgenes y Estados Unidos de América. La enfermedad de Chagas es enzootica y en algunos de ellos hay triatomas infectados.

La Migración rural / urbana de 1970 a los 80 a cambiado el patrón epidemiológico tradicional de la enfermedad de Chagas, de una condición esencialmente rural antes a una infección urbana que podría ser transmitida por transfusión sanguínea. (37)

#### TRANSMISION POR TRANSFUSION SANGUINEA:

El tripanosoma es transmitido al hombre por insectos triatomitas hematófagos, por transfusión sanguínea y por transmisión Congénita. El riesgo de infección a través de transfusión sanguínea a aumentado debido a inmigrantes infectados habitando áreas no endémicas. La transmisión de la enfermedad por transfusión sanguínea se ha convertido en una amenaza real para países donde la enfermedad no es transmitida por vectores (U.S.A. y Canadá), donde la infección es post-transfusional. La seroprevalencia en primo-donadores infectados por T. cruzi se encuentra en 3.5%. Esta seroprevalencia aumenta hasta los 45 años para luego descender, encontrándose tasas de seroprevalencia de 1.8-16.2% para migrantes del área rural contra 0-3.6% de población urbana. En los tres estadios de la enfermedad de Chagas el hospedero puede tener parásitos en el torrente sanguíneo por períodos variables de tiempo, especialmente en fase aguda. Por esta razón el huésped infectado puede transmitir el parásito al vector y luego a otro humano por Transfusión Sanguínea o Trasplante de Órganos así como por transmisión de la madre al feto. (11, 22, 33, 37).

#### 4.- CICLO BIOLÓGICO:

La vida de T. cruzi comprende dos ciclos de desarrollo: uno en el hombre o huéspedes mamíferos reservorios, y otro en el interior de ciertos insectos. En los insectos transmisores más comunes; Panstrongylus megistus, Triatoma infestans y Rhodnius prolixus, el ciclo de desarrollo puede realizarse en la larva, ninfa o en el insecto adulto, y siempre se efectúa en el intestino de la chinche. Las formas típicas de tripanosoma ingeridas por el insecto se convierten en epimastigotes cortas las cuales se

multiplican y producen las formas epimastigotes largas, que se encuentran en la parte posterior del intestino medio. Al cabo de unos 8 o 10 días aparecen en el recto pequeños tripanosomas que se han originado de los epimastigotes.

Estos tripanosomas metacíclicos salen con las heces (estación posterior) y son infectantes para el hombre y los animales cuando se frotan en la picadura del insecto o en cualquier lesión de la piel. En el hombre los tripanosomas no se multiplican mientras están en el torrente circulatorio, pero una vez que penetran en las células de los tejidos, pierden el flagelo y la membrana ondulante, se transforman en Amastigotes y se multiplican por fisión binaria, lo que da origen a la formación de gran número de amastigotes, los que a la postre pasan por las fases metacíclicas y epimastigote y alcanzan la forma de tripanosoma, y así aparecen en la sangre periférica, con lo que completan su ciclo. El parásito pertenece al filum Sarcomastigophora, Sub filum Mastigophora orden Kinetoplastida; el T. cruzi pertenece a un grupo de hemoflagelados heterogéneos. Su heterogenicidad ha sido demostrado por su movilidad electroforética Isoenzimática, medición del DNA, diferentes patrones restrictivos de quinoplasto DNA, diferencia en crecimiento y capacidades de infectar una diversidad de tipos celulares y especies. Se ha demostrado que tiene un cariotipo inestable y estudios, hechos con antígeno de fase aguda, daban diversos patrones de bandas cromosomales demostrando una drástica variabilidad. (1, 6, 9, 18, 19, 33, 39)

##### 5.- PATOGENIA Y MANIFESTACIONES CLINICAS:

Durante la etapa de diseminación pueden encontrarse parásitos en la sangre y en cualquier órgano o tejido del cuerpo. Sin embargo, muestran preferencia por las células de origen mesenquimatoso (músculo cardíaco y esquelético, células reticuloendoteliales, neuroglia). En la célula infectada el parásito se multiplica por fisión binaria hasta que grandes cantidades de amastigotes llenan el citoplasma y distienden la membrana celular produciendo un pseudoquistes amastigótico, algunos amastigotes se vuelven alargados, producen un flagelo y se transforman en formas de epimastigote. Los amastigotes que penetran en los espacios intersticiales por la rotura del pseudoquistes rápidamente han de entrar en una nueva célula huésped, de lo contrario pierden en poco tiempo su capacidad de transformarse en formas metacíclicas y pronto mueren. Mientras los parásitos son intracelulares, la respuesta inflamatoria es mínima o no existe, al romperse la célula y morir los amastigotes, se liberan productos tóxicos que de inmediato producen la reacción inflamatoria cuya intensidad depende del estado inmunológico del huésped. En infecciones incipientes, el infiltrado se compone principalmente de neutrófilos, pero después aparecen células plasmáticas, linfocitos e histiocitos. En infecciones más antiguas, la etapa inmune da lugar a la producción de respuestas

inflamatorias granulomatosas de tipo más localizado, con formación de seudotubérculos y presencia de células gigantes. A causa de que el parásito invade al azar las células, la reacción inflamatoria al principio es de índole focal; sin embargo, en las infecciones masivas o en los procesos crónicos adopta un carácter más difuso. La cicatrización se lleva a cabo por fibrosis y da lugar a grados más o menos intensos de insuficiencia miocárdica, dependiendo de la extensión de la inflamación. El sistema de conducción del corazón puede ser afectado por la parasitación de sus fibras o, por fibrosis adyacente, de modo secundario. Se observan cambios similares en el músculo esquelético y en el tejido adiposo subcutáneo. En las fibras musculares infectadas, pueden observarse fácilmente los amastigotes, pero es más difícil verlos en el sistema reticuloendotelial o en las células adiposas. (1, 17, 25, 31).

Gran número de individuos infectados son asintomáticos y solo presentan molestias de poca importancia. El periodo de incubación en el hombre fluctúa entre 6 y 20 días desde la infección por el vector hasta la aparición de los primeros síntomas. La enfermedad de Chagas tiene una fase aguda y otra crónica. (1, 9, 25, 39).

#### FASE AGUDA:

En la mayoría de los casos los síntomas clínicos durante esta fase son leves o están ausentes, se observa principalmente en niños menores de dos años, y coincide con la multiplicación local de los parásitos en el sitio de entrada y su diseminación hematogena subsiguiente, aproximadamente 2-3 semanas después de la infección. Sobreviene anorexia, vómito, diarrea y otros síntomas generales indicadores de un proceso infeccioso grave. Así como también puede existir inflamación local, con calor, hinchazón y enrojecimiento del área penetrada por el parásito o Chagoma de inoculación cutánea, que puede tener aspecto forunculoide o erisipelatoide y en ocasiones se ulcera en la parte central y luego se cubre con una costra. Además existe el signo de Mazza-Romaña en la mitad de los pacientes en fase aguda; consiste en edema unilateral, bipalpebral, firme y violáceo, a menudo con conjuntivitis, aumento de tamaño de la glándula preauricular y de los ganglios linfáticos submaxilares (complejo oculoglandular). Sin embargo, el signo de Romaña no siempre se debe a la presencia del parásito, sino que puede estar relacionado con repuestas alérgicas producidas por picaduras repetidas de reducidos no infectados. El Chagoma hematogeno o metastático, induración de la piel y tejido celular subcutáneo y el lipochagoma, tumoración de la bolsa adiposa de Bichat, son expresiones localizadas de la anidación del parásito, de rara aparición. Con la subsiguiente diseminación hematogena del microorganismo, aparecen malestar, fiebre, mialgias, aumento de tamaño indoloro de los ganglios linfáticos, hepatoesplenomegalia, miocarditis (cardiomegalia), ECG

de bajo voltaje, desnivel del segmento ST, inversión de la onda T, trastornos de la conducción, edema generalizado, manifestaciones dérmicas (esquizotripánides). (1, 5, 7, 9, 17, 18, 19, 23, 25, 39).

La meningoencefalitis es una complicación especialmente grave de la fase aguda poco frecuente, la cual se caracteriza en el sistema nervioso central por una reacción inflamatoria e invasión de las células de la neuroglia, la presencia de numerosos nódulos gliales esparcidos por toda la sustancia blanca y gris, los ganglios basales y, rara vez en el cerebelo. También se observa degeneración neuronal, acumulación linfocítica perivascular (a manera de manguito), endarteritis y leptomenigitis focal. (1, 9, 17, 18).

La mayoría de los casos agudos de enfermedad de Chagas evolucionan en 2 - 3 meses hacia un estadio subagudo, que se caracteriza por astenia intensa, fiebre ligera, linfadenopatía generalizada, taquicardia y hepatoesplenomegalia. Además se encontró que aunque en los casos agudos puede encontrarse ligera leucocitosis, lo característico es la tendencia a la leucopenia, con importante linfocitosis, moderada mononucleosis, disminución de los polimorfonucleares neutrófilos, junto a un cuadro de anemia de intensidad variable, que desaparece después de 2 a 5 meses de la infección. (1, 9, 17, 25).

#### FASE CRÓNICA:

La fase crónica puede dividirse en una forma asintomática (indeterminada) y una forma sintomática. En el estado crónico precoz, persiste ligera hepatoesplenomegalia, linfadenopatías y aumentos transitorios de temperatura, que paulatinamente desaparecen, en esas condiciones, la enfermedad queda en un periodo crónico asintomático. La forma sintomática puede conllevar manifestaciones cardíacas la forma clínica más importante de la fase crónica y manifestaciones digestivas o ambas. Los jóvenes constituyen el mayor número de pacientes en el grupo asintomático y, conforme se incrementa la edad, aumenta progresivamente el número de pacientes que presentan anomalías electrocardiográficas. Además la prevalencia de manifestaciones crónicas cardíacas y digestivas es más alta en los pacientes que exhiben las manifestaciones agudas más graves. (5, 6, 9, 17, 25, 39).

**FORMA CARDIACA:** En la miocardiopatía crónica existen focos fibróticos, que pueden variar desde unas pocas áreas pequeñas hasta placas fibróticas mayores que adelgazan la pared ventricular; fibras miocárdicas con degeneración, habitualmente en las áreas fibróticas; e infiltrados de células mononucleares. Cuando la proliferación fibroblástica es extensa, el tamaño del corazón se incrementa y hay reducción del espesor de la pared ventricular.

Estas alteraciones se asocian frecuentemente con trombos intramurales, principalmente en la punta del ventrículo izquierdo. El adelgazamiento de la pared ventricular por las grandes placas fibróticas se convierte en el punto de comienzo para la formación de los aneurismas que a menudo se encuentran en la punta del ventrículo izquierdo o en el área posterior de la válvula mitral. Las palpitations, por lo regular a consecuencia de extrasístoles, son un síntoma inicial frecuente, el cual puede acompañarse de mareo y dolor precordial, predominando la insuficiencia ventricular derecha. A la exploración física se observan pulso irregular y ruidos cardiacos lejanos, desdoblamiento fijo del segundo ruido pulmonar, ritmo de galope y soplo de regurgitación funcional en la zona mitral. Los hallazgos electrocardiográficos más frecuentes muestran ensanchamiento y depresión del complejo QRS, bloqueo AV parcial o completo y el bloqueo completo de la rama derecha del haz de His, semibloqueo anterior izquierdo, contracciones ventriculares prematuras, y ondas T invertidas. El bloqueo AV total es raro, pero con frecuencia se acompaña de ataques de Stokes-Adams. En cualquier momento puede ocurrir la muerte súbita por fibrilación ventricular. (1, 5, 9, 13, 18, 24, 25, 28, 31, 39, 40).

Según estudios realizados en Guatemala el 100% de pacientes presentaron alteraciones en el ritmo cardiaco o en la conducción del impulso eléctrico. Las arritmias más frecuentes fueron automatismo del miocardio por extrasistolia ventricular (60%), fibrilación auricular (27%), taquicardia ventricular (20%), bradicardia significativa y pausas (13%). Los trastornos de conducción más importantes fueron bloqueo bifascicular de rama derecha y fascículo anterior (27%), rama izquierda (27%), monofascicular de fascículo anterior (13%) y bloqueo completo de rama derecha y A-V de primer grado (7%). Los hallazgos ecocardiograficos confirmaron la presencia de miocardiopatía dilatada o agrandamiento de las cámaras cardiacas, especialmente de los diámetros intracavitarios. Así como trastornos de moderado a severos en la función ventricular, disfunción asociada a fracción de expulsión disminuida; asociado a pared de ventrículo izquierdo y septum de grosor normal. Llamó la atención la alta incidencia de trastornos en el flujo transvalvular por regurgitación. Significativo es el hecho que en los casos estudiados las lesiones del septum por adelgazamiento y trastornos de la motilidad, especialmente en los dos tercios inferiores, con movimiento paradójico, que podría corresponder a la presencia de un aneurisma en la región apical. Los cuales en la cardiopatía chagásica crónica, se presentan en un 60% a nivel ventricular de los pacientes afectados. (6, 8, 10, 16).

**FORMA DIGESTIVA:** Se caracteriza por dilatación, hipertrofia y alteración de la motilidad del esofago o del colon, que muestra la presencia de un infiltrado de células mononucleares entre las células musculares lisas y, algunas veces, formación de

granulomas; también se ve frecuentemente una reducción significativa de las neuronas en el plexo mientérico que puede producir los síndromes organomegálicos. En el megaeosófago el síntoma principal es disfagia prolongada, que comienza como dificultad para deglutir alimentos sólidos y progresa hasta que el paciente puede tragar sólo alimentos blandos con ayuda de sorbos frecuentes de agua. En los casos avanzados, hay dolor a la deglución, regurgitación y pirosis, con sensación de sofocación, también hay hipo, sialorrea y tos nocturna. La hipersalivación se acompaña de aumento de tamaño de las parótidas. Existe pérdida notable de peso y puede ocurrir neumonía por aspiración en los casos avanzados. El megacolon se manifiesta por retención de heces y gas, lo que a menudo progresa hasta la formación de un fecaloma. El vólvulo y la obstrucción intestinal son complicaciones frecuentes. En Guatemala hasta la fecha no se ha diagnosticado ningún caso de los síndromes mega. (1, 7, 9, 17, 18, 23, 25, 39).

**OTRAS FORMAS:** Algunas complicaciones raras son megauréter, megavejiga, megavesícula y bronquiectasia. (25, 39).

#### ENFERMEDAD CONGENITA:

Puede ser transmitida de la madre al feto en los tres estadios. El T. cruzi alcanza al feto por vía hematógena, atraviesa las vellosidades placentarias, especialmente si hay lesión previa del corión o de las membranas del embrión. Y se ha propuesto que alteraciones morfológicas y funcionales en la placenta contribuyen a la entrada del parásito a través de las vellosidades. Se ha considerado que teóricamente la transmisión transplacentaria mas probable de parásitos ocurre durante la fase aguda de la enfermedad, y que las madres asintomáticas suelen ser la mayor fuente de infección fetal. Podría ser por parasitemia intermitente por largos periodos de tiempo de madres chagasicas en estadios sub-agudo o crónico. El Tripanomastigote alcanza a las células epiteliales a través de las vellosidades y en el interior de las células Hoffbauer se transforma en amastigote. El tejido placentario infectado se ha encontrado repleto de amastigotes y luego de su reproducción intracelular, los parásitos son liberados al torrente sanguíneo fetal como tripomastigotes. Esta liberación sistemática inicia la invasión de tejido fetal donde toma lugar la reproducción especialmente en el sistema reticuloendotelial y músculo esquelético. Esta importante reproducción del parásito produce manifestaciones clínicas generalizadas presentes en el recién nacido. (33).

Las infecciones congénitas por transmisión transplacentaria del parásito parecen ser más frecuentes de lo que suele sospecharse. Puede manifestarse en el momento del nacimiento, dando en ocasiones lugar a mortinatos o a prematuros con

hepatoesplenomegalia, distensión abdominal, meningoencefalitis, alteraciones del LCR (aumento de albúmina y de linfocitos), insuficiencia cardíaca congestiva con ECG alterado (onda T plana, alargamiento del tiempo de conducción A-V, bajo voltaje). También hay anemia hemolítica e ictericia que desaparece durante la tercera semana; en la piel se observa chagomas, como placas eritematosas con pústula central. Puede haber petequias, susceptibilidad mayor a la contusión y hemorragia franca. Así también los neonatos son de peso bajo, afebriles y a menudo muestran edema; con mortalidad elevada, en especial si presentan sintomatología en el momento del nacimiento. La enfermedad congénita es frecuentemente letal y solo pocos casos sobreviven los primeros dos años de vida. La forma crónica de Chagas congénita se ha descrito incluyendo síntomas como: Daño neurológico, retardo mental, hemiparálisis, parálisis, signos cerebelares, megaesofago, cardiopatía, colonopatía. Presenta como cambios patológicos engrosamiento de meninges y adherencias entre las circunvoluciones del cerebro, meningitis y encefalitis con escasos parásitos. (1, 17, 20, 23, 33, 39).

#### 6.- INMUNIDAD

A pesar del establecimiento de una fuerte inmunidad adquirida, no existe curación parasitológica, y los procedimientos que se sabe interfieren con los mecanismos inmunes mediados por células incrementan la gravedad de la infección por Trypanosoma cruzi. En el huésped no inmune, los macrófagos proporcionan un ambiente favorable para el crecimiento y la replicación de los microorganismos; allí pueden estar protegidos de ciertos aspectos del sistema de defensa inmunitaria del huésped, particularmente en la fase aguda.

En contraste, en el huésped inmune, los macrófagos se activan en tal manera que son capaces de destruir a los microorganismos interiorizados. Los macrófagos son activados por productos solubles (linfocinas) de linfocitos T sensibilizados que son estimulados por el antígeno T. cruzi. Los anticuerpos IgG frente a T. cruzi se relacionan principalmente con la fase crónica de la infección, probablemente de manera primaria en la mediación de la inmunofagocitosis y la destrucción de los microorganismos por los macrófagos activados. La respuesta celular y humoral así como la resistencia a la infección por las formas sanguíneas de T. cruzi estudiado en ratones inmunizados con una fracción purificada antigénica ácida del Citosol del parásito, F III y F VI antígenos obtenidos del epimastigote con Bordetella Pertussis como coadyuvante, descubrió al analizar la IgG contra T. cruzi un serotipo principal producido la IgG1. La IgE específica fue también detectada en el suero de ratones inmunizados con F III, confirmando la presencia de anticuerpos homocitotrópicos. (25, 35).

Entre los componentes del parásito las glicoproteínas son las estructuras que probablemente estén involucradas en estos procesos de interiorización a las células así como en los de morfogénesis y diferenciación, por ser éstas las primeras proteínas que son reconocidas por el sistema inmune se consideran que pueden jugar un papel importante en la patogénesis de la enfermedad. La principal glicoproteína de la superficie celular presente en todos los estadios del parásito se cree que es antifagocítica y es degradada por el Tx con tripsina. Inmunización con esta proteína es capaz de proteger a los ratones de una infección aguda letal por *T. cruzi*, ya sea usando inoculaciones con tripomastigotes sanguíneos como con metacíclicos, observándose una disminución en la parasitemia durante la fase aguda. Esta glicoproteína es la más reconocida por los anticuerpos que se encuentran en el suero de pacientes en el estadio crónico de la enfermedad. Otra glicoproteína que ha sido descrita con PM 72 kDa. Está presente en la superficie de los tripomastigotes metacíclicos y epimastigotes y ha sido implicada en la regulación de la morfogénesis epimastigote - metacíclico; siendo considerada esta molécula como el sitio receptor más importante, en la superficie del parásito, para el componente C3. (8).

En humanos agudamente infectados se puede correlacionar niveles de Interleucina 2 con habilidad de producir anticuerpos antitripanosoma, y niveles bajos de Interleucina 2 se asocia a inmunosupresión. Los cambios del sistema inmune en la fase aguda se asocian al apareamiento de autoanticuerpos en fase crónica. Luego aparece daño tisular a pesar de haber pocos parásitos presentes. Se ha sugerido que la mayor patología en fase crónica experimental se deba a autoinmunidad. Se han detectado autoanticuerpos en suero de pacientes dirigido contra tejido nervioso y cardíaco, se ha demostrado también que antígenos de *T. cruzi* se une in vitro a la superficie de células del huésped y que luego vienen a hacer células blanco para anticuerpos anti-tripanosoma. (2, 33).

#### TRANSMISION TRANSPLENTARIA DE ANTICUERPOS:

La presencia de Inmunoglobulinas maternas en la circulación fetal esta directamente asociada con la fisiología normal de trafico de anticuerpos a través de la placenta. Anticuerpos maternos interactuan con receptores Fc. de la superficie de células Trofoblasticas en un proceso específico de transporte. Son digeridos en vacuolas endociticas, transportadas en endosomas a través de la pared y luego liberadas por exocitosis para penetrar al feto por la sangre del cordón umbilical. Solo se ha descrito receptores Fc para IgG especialmente IgG1 e IgG3 que son las que mas se unen a los receptores, seguidas de IgG2 e IgG4 que se unen en menor grado a los receptores. (33).



## 7.- DIAGNOSTICO:

La historia y el examen clínico representan parte importante del mismo como cualquier entidad, la única manera certera de confirmar el diagnóstico clínico de sospecha, se basa en la identificación del parásito en muestras de sangre o tejidos, o por procedimientos serológicos. La fase aguda de parasitemia puede demostrarse mediante los siguientes métodos:

- 1.- Exámenes de frotis frescos.
- 2.- Examen de frotis sanguíneos, de gota gruesa y delgada, y teñidos.
- 3.- Examen de frotis teñido después de centrifugar 5 a 10 ml. de sangre citratada.

Una gota de sangre presionada mediante un cubreobjetos y examinada al microscopio bajo una magnificación alta puede revelar los tripanosomas móviles. La sangre teñida con Giemsa o los frotis de sangre de gota gruesa deberán exanguinarse también en busca de los característicos microorganismos en forma de C. El xenodiagnóstico se emplea con frecuencia dejando que triatomídeos libres de infección y criados en el laboratorio "piquen" sobre el individuo sospechoso de tener la enfermedad. Si hay infección en la sangre, los tripanosomas se multiplican rápidamente en el intestino de la chinche, y un examen de su contenido intestinal después de 10 a 30 días mostrará formas flageladas del parásito. En forma similar, los cultivos (NNN) y la subinoculación en ratones permite aislar el germen. La parasitemia positiva es de esperarse sólo cuando se obtiene sangre durante la etapa febril aguda de la enfermedad o durante algunos de los episodios febriles de la forma crónica. Cuando los exámenes hematológicos son negativos, un procedimiento alternativo es el de obtener una biopsia del músculo esquelético de la pantorrilla o de un ganglio linfático hipertrofiado, para la identificación de formas amastigóticas en las células musculares. Las reacciones serológicas, por lo regular positivas en esta fase temprana, se producen por precipitinas y aglutininas. Hay aumento de IgM. Hay leucocitosis causada por linfocitosis intensa con linfocitos atípicos. Aumenta el índice de sedimentación de los eritrocitos, al igual que el de las mucoproteínas. El electrocardiograma muestra taquicardia sinusal, complejos de voltaje bajo, bloqueo AV de primer grado, aumento del espacio QT, alteraciones primarias en la repolarización ventricular y a veces isquemia subepicárdica. Las alteraciones del ritmo cardíaco son poco frecuentes en la fase aguda, y constituyen un signo de pronóstico malo. (1, 5, 9, 17, 18, 23, 25, 29, 39).

En la fase crónica se establecen las pruebas de infección sobre todo por estudios serológicos, como fijación del complemento, hemaglutinación e inmunofluorescencia. En pesquisas publicaciones

el método de ELISA a demostrado mejor sensibilidad que la hemaglutinación y la fijación del complemento, es sensible y fácil de realizar pero no es de uso común. Actualmente se está experimentando un inmunoensayo enzimático de competencia para anticuerpos, basado en el empleo de anticuerpos monoclonales. Los exámenes radiológicos y electrocardiográficos son de gran utilidad. (1, 5, 8, 9, 15, 17, 18, 19, 23, 25, 27, 38, 39, 40).

#### METODO DE NARANJA DE ACRIDINA

Este método ha tomado auge en la última década, particularmente en los últimos 8 años, en los cuales se han hecho algunos estudios por medio de tubos QBC (Quantitative Buffy Coat) con coloración de Naranja de Acridina. En estudios preliminares, se encontró que este método era efectivo y rápido como instrumento de recuento celular de sangre completa; así como en modelos animales se encontró que parásitos sanguíneos como trofozoitos de malaria, tripanosomas de la enfermedad de Chagas y microfilarias del nemátodo cardíaco canino fueron detectados por este método. Como resultado de esto se consideró este análisis (QBS) con Naranja de Acridina como de uso considerable como instrumento diagnóstico en estudios de enfermedades parasitarias. (36).

Recientemente, se han efectuado estudios en hospitales, estudios de campo, en pacientes con malaria clínica, en voluntarios infectados experimentalmente y en pacientes asintomáticos residentes de áreas endémicas de malaria, siendo los resultados muy alentadores, pues el método es sencillo y práctico para el diagnóstico de una enfermedad parasitaria, y permite detectar (según algunos reportes) hasta 3 parásitos por microlitro de sangre. Esta condición lo hace particularmente útil para la detección de baja parasitemia en pacientes asintomáticos que puedan actuar como portadores de la enfermedad. (21, 30).

Este método consiste en detectar mediante centrifugación de la sangre en tubos capilares de vidrio recubiertos con oxalato de potasio y Naranja de Acridina (coloración), los parásitos que se detectan con microscopio de inmunofluorescencia requieren sólo 10 minutos para llevarlo a cabo, 5 minutos para centrifugación y 5 para análisis por capas del centrifugado. Respecto a la especificidad de este método, varía entre 98.7 a 100%, que lo hace muy promisorio para investigaciones epidemiológicas. (30, 36).

#### FORMULA DE NARANJA DE ACRIDINA:

Es la siguiente:  $C_{17}H_{20}ClN_3$ .  $ZnCl_2$ . El naranja de acridina (P.M. 301.8) es un colorante básico químicamente parecido a la acriflavina y la Atebrina. Es a la vez fluorescente y metacromático; su color ortocromático es verde; su color

metacromático completo es naranja rojizo. Se fija a los grupos aniónicos de muchas sustancias y el grado de unión depende del número de aniones disponibles, así como, naturalmente, del pH. Una vez fijado a estos grupos, tiende a polimerizarse o "apilarse"; esta propiedad explica sus cualidades metacromáticas. En el caso de los polinucleótidos naturales de DNA y RNA, el naranja de acridina se fija en dos focos distintos, o sea, los pares de bases vecinas y los grupos fosfato en los filamentos helicoidales. La unión con los pares de bases depende de las particularidades espaciales, y en el caso del DNA en solución, la doble espiral podría desenrollarse lo bastante para dejar entrar el naranja de acridina (AO), que se fijaría entonces a pares de bases vecinas, formando el primer complejo. El segundo complejo se formaría sobre la superficie de la cadena del polinucleótido, por enlace entre el AO y los grupos fosfato; este paso sería el mismo para el DNA y para el RNA. A pH 6, tiene lugar apilamiento o polimerización del colorante fijado al DNA; pero cuando el pH es inferior a 3.8, este fenómeno se inhibe. Según estudios realizados con capilares (tubo QBC) el mismo está internamente cubierto de naranja de acridina, oxalato de potasio, heparina sódica y tetraacetato de etilendiamina; conteniendo un flote en su interior el cual al centrifugar la sangre permite que exista una capa de aproximadamente 40 micras delimitada por la porción inferior de la capa de plasma y la porción superior de la capa de eritrocitos, la cual es de color amarillo y las células individuales (Linfocitos y Leucocitos) así como los tripomastigotes con un microscopio de luz ultra violeta pueden verse con facilidad ya que el DNA se colorea de verde y naranja el RNA bajo esta luz. (30, 36).

#### METODO DE ELISA

Los pioneros de este ensayo fueron: Van Weemen y Schuurs (1971), Engvall y Perlmann (1971). Ellos combinaron el uso de medir antígenos y anticuerpos por medio de este método. El cual para medir antígeno, se fija un anticuerpo específico conocido a una fase sólida, se añade el material de prueba que contiene al antígeno, se lava y se agrega un segundo anticuerpo marcado con enzima. Esta prueba requiere que el antígeno tenga por lo menos dos determinantes. Después de un nuevo lavado, se agrega el sustrato y se estima la actividad enzimática por métodos colorimétricos. El resultado está en correlación con la concentración de antígeno. (27, 34).

#### TECNICA DETALLADA DEL METODO "ELISA"

##### MATERIALES:

**Fase Solida:** Platos de Microinmunología ELISA.; Removedores de (Polietileno); Micro - platos de (Polyvinyl).

**Micropipetas:** 5 ul, 10 ul, 50 ul, 100 ul, 200 ul,;  
 Micropipetas multicanaladas, (Pipetas Finn) 50 ul, 200 ul o  
 ajustable.

**Aspirador de Agua:** Manual o Automático.

**Espectrofotómetro:** De escritura manual como el de lectura de  
 micro ELISA o a través de escritura en plato como el Multiskan.

#### REACTIVOS:

**Amortiguador recubierto como Carbonato-Bicarbonato (pH 9.6):**  
 1.59 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 2.93 g de  $\text{NaHCO}_3$  y 0.2 g de  $\text{NaN}$ , en Solución de  
 un litro con agua destilada. Almacenar en un cuarto a temperatura  
 ambiente no más de 2 semanas.

**"PBS Tween" un amortiguador de fosfato salino más 0.05% Tween**  
 (pH 7.4): 8.0 g de  $\text{NaCl}$ , 0.2 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2.9 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,  
 0.2 g de  $\text{KCl}$ , 0.5 ml de Tween 20 y 0.2 de  $\text{NaN}$ , en 1 litro de agua  
 destilada (ácido de sodio no debe utilizarse en soluciones que  
 contienen peroxidasa como enzima).

#### CONJUGACION:

Peroxidasa de rabano picante marcada con IgG anti-humana de  
 conejo u oveja. Luego almacenar en estado liofilizado o en  
 solución a  $-20$  grados C. o a 4 grados C. con 50% de glicerol.  
 Diluir cantidad necesaria en PBS-Tween inmediatamente antes de  
 usarse.

#### SUBSTRATO:

**Un amortiguador de Fosfato-Citrato (pH 5.0):** 24.3 ml de 0.1 M  
 ácido cítrico (19.2 g/1000 ml), 25.7 ml de 0.2 M fosfato (28.4 g  
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4/1000$  ml) y 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . La solución del substrato  
 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ /orto-fenilendiamina) se prepara fresco inmediatamente antes  
 de usarse. 40 mg de Orto-fenilendiamina se disuelve en 100 ml del  
 amortiguador y 40 ul de 30% de  $\text{H}_2\text{O}_2$  se añaden. Este substrato es  
 sensible a oxidación y debe usarse de inmediato.

#### PREPARACION DEL CONJUGADO

- 1.- 10 mg de peroxidasa de rábano picante se disuelve en 0.2  
 ml 0.1 M PBS, pH 6.8 conteniendo 1.25% de  
 glutaraldehido. Esta mezcla se incuba a temperatura  
 ambiente por la noche.

- 2.- El glutaraldehido y la peroxidasa activada es dializada contra salino normal o pasado bajo una columna de Sephadex G25 para remover el glutaraldehido libre y así formar hasta 1.0 ml en salino normal.
- 3.- Una fracción de globulina del antisuero se obtiene y se diluye en 5 mg/ml en salino normal.
- 4.- 1.0 ml de la solución de globulina se mezcla con 1.0 ml de la solución de peroxidasa activada y 0.1 ml 1 M carbonato- bicarbonato como amortiguador, pH 9.5 y se incuba a 4 grados C. por 24 horas.
- 5.- 0.1 ml de 0.2 M de solución de lisina se añade y se incuba la mezcla a temperatura ambiente por 2 horas.
- 6.- La mezcla se dializa contra PBS 7.2 por la noche.
- 7.- La enzima globulina se precipita por adición de un volumen igual de la solución de sulfato de amonio saturada. El precipitado se lava 2 veces en la mitad del sulfato de amonio saturado y se suspende en 1.0 ml PBS.
- 8.- El conjugado se dializa extensamente contra PBS (o se pasa bajo una columna de Sephadex G25).
- 9.- El conjugado se centrifuga a 10,000 x G por 30 minutos y el sedimento es descartado. La Albúmina serica de bovino se agrega a una concentración de 1.0%.
- 10.- El conjugado se filtra a través de un filtro con miliporos de (0.22 um) y se almacena a -20 grados C. (o a 4 grados si se le agrega una cantidad igual de glicerol).
- 11.- La dilución óptima para trabajar con el conjugado se determina por el método de Voller, Bidwell y Barlett. (34).

#### METODO DE STROUT MODIFICADO

Este método directo consiste en la colección de sangre en un capilar, el cual a continuación se centrifuga y se examina bajo un microscopio biocular a nivel de la interfase del capilar buscando el parásito. Según datos obtenidos este método parasitológico directo en la infección aguda de la enfermedad de Chagas presenta una sensibilidad del 90 - 100%. (38).

## 8.- TRATAMIENTO:

## NIFURTIMOX:

No hay un tratamiento satisfactorio para la enfermedad de Chagas que sea totalmente eficaz e inocuo. La mejor promesa es Nifurtimox (Lampit), que es tripanosomicida contra las formas tripomastigote y amastigote de T. cruzi. Se ha demostrado que concentraciones de 1  $\mu\text{M}$  dañan los amastigotes intracelulares in vitro e inhiben su desarrollo. Los tripomastigotes son menos sensibles; concentraciones de 10  $\mu\text{M}$  inhiben la penetración en las células vertebradas de los parásitos, pero no eliminan este proceso. La acción tripanosomicida del nifurtimox parece estar relacionada con la capacidad de la droga de formar radicales químicamente reactivos que generan productos de oxígeno parcialmente reducidos que ejercen acción tóxica, tales como superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilos. El T. cruzi aparentemente carece de catalasa y de glutatión peroxidasa, lo que convierte al parásito en extremadamente vulnerable al peróxido de hidrógeno. Además el nifurtimox puede producir daños a nivel de los tejidos de los mamíferos a través de la formación de radicales. Se absorbe bien después de la administración oral. Se administra por vía oral, los niños (hasta 15 años de edad) en fase aguda deben recibir 25 mg/kg por día en 4 tomas durante 15 días, seguidos de 15 mg/kg/día en 4 tomas durante 75 días. El tratamiento debe extenderse a un total de 120 días para la fase crónica. Los adultos con enfermedad aguda o crónica deben recibir 5 a 7 mg/kg diarios durante 2 semanas, y esta dosis se aumenta en 2 mg/kg a intervalos de 2 semanas hasta llegar a 15 a 17 mg/kg diarios a la décima semana. El tratamiento con esta última dosis continúa hasta que el paciente haya tomado la droga durante un total de 120 días. Los efectos secundarios relacionados con esta droga son bastante frecuentes, y consisten en; hipersensibilidad, tales como dermatitis, ictericia y anafilaxia, la neuropatía periférica y los síntomas gastrointestinales son particularmente comunes después de un tratamiento prolongado. Las cefaleas, los trastornos psiquiátricos y la excitación nerviosa central son manifestaciones frecuentes; así también pueden presentar anorexia, pérdida de peso, convulsiones y meningismo. Los niños parecen tolerar el nifurtimox mejor que los adultos. La presentación es en tabletas de 30 mg, 120 mg, y 250 mg. (1, 4, 6, 7, 14, 18, 23, 25, 38, 39).

## BENZINIDAZOL:

Un nitroimidazol relacionado, el benzinidazol, ha mostrado un efecto prometedor en el tratamiento en la enfermedad de Chagas. La dosis de benzinidazol es de 600 mg., al día, para un adulto, fraccionada en 2 dosis diarias, durante 30 días; para los niños, dosis diaria de 10 mg/kg/peso, repartido en dos tomas al día, durante 30 días, se presenta en comprimidos ranurados de 100 mg.

Los efectos secundarios incluyen la supresión de la inmunidad celular, la mutagénesis, la carcinogénesis y la sensibilidad de las células hipóxicas a las radiaciones. (1, 4, 14, 18, 23, 39).

#### ALOPURINOL:

Dosis de 7 a 18 mg/kg/día, durante 60 días. Los efectos adversos de este medicamento son: lesiones maculopapulares en piel, urticarias, púrpura, náusea, vómitos, diarrea, fiebre, escalofríos, leucopenia, leucocitosis y eosinofilia. (6).

#### 9.- PREVENCIÓN Y CONTROL:

La enfermedad de Chagas, como otras enfermedades parasitarias, constituyen serio problema socioeconómico en el hemisferio occidental ya que condicionan el mejoramiento de las viviendas de paredes de adobe y techo de paja, el control de los reducidos vectores por medio de insecticidas y la educación de la población en las áreas endémicas acerca de la relación entre las picaduras de las chinches triatómicas y la enfermedad de Chagas. La profilaxis individual consiste en evitar la picadura del insecto transmisor por medio del uso de pabellones de gasa y el aseo continuado de las habitaciones. Para evitar la transmisión por transfusiones sanguíneas se deberá llevar control en los Bancos de sangre. Se debe considerar el aprovechamiento de campañas de erradicación de la malaria en el control de la enfermedad de Chagas. Las infecciones por transfusión pueden prevenirse agregando violeta de genciana o uno de sus análogos a la sangre. (1, 8, 9, 18, 23, 32, 39).

Para el control de triátomas la OMS desarrollo 2 nuevos instrumentos de control de vectores: 1) Pinturas insecticidas y 2) Cajas fumigantes. En un estudio realizado en 4,800 casas de América del Sur con pinturas insecticidas que contienen Deltametrina tiene un alto grado de eficacia con 24 meses luego de la aplicación, y mantenían libre de triátomas más del 85% de las casas tratadas, comparado con 60% de actividad de fumigación con hexacloruro de Benzeno lo tradicional. Uno de los beneficios es que se necesita una sola aplicación de las pinturas cada 2 años, mientras que los insecticidas tradicionales fumigados requieren 2 aplicaciones en 2 años. (37).

## VI. METODOLOGIA

- 1.- Tipo de estudio: Descriptivo.
- 2.- Carácter del estudio: Biomédico.
- 3.- Metodo a utilizar: Consecutivo.
- 4.- Sujeto a Estudio: Población de ambos sexos con sintomatología de infección aguda actual de Tripanosomiasis y/o fiebre, comprendidos entre mayores de 2 años y 15 años.
- 5.- Lugar de Estudio: Hospital Regional de Cuilapa, Santa Rosa.
- 6.- Tamaño de la Muestra: Por ser un área endémica de Tripanosomiasis y para tomar una muestra representantativa se tomaron 100 niños con base a la siguiente formula:

$$N = \frac{(n) p q}{(n-1) \frac{2}{4 L e + p q}}$$

## 7.- Criterios de Inclusión y Exclusión:

## a) Criterios de Inclusión:

- Vivir en Cuilapa Santa Rosa.
- Edad, mayores de 2 años a 15 años.
- Ambos sexos.
- Padeecer sintomatología de infección aguda por Tripanosomiasis actual y / o episodios febriles.

## b) Criterios de Exclusión:

- Que no viva en Cuilapa Santa Rosa.
- Que no padezcan actualmente de episodios febriles, adenopatía o hepatoesplenomegalia.



## 8.- Variables a Estudiar:

DEFINICION	ESCALA DE MEDICION	TX OPERACIONAL
- Edad: Tiempo que una persona ha vivido, a constar desde que nació.	- Edad dada en años.	- Dato de Boleta.
- Sexo: Diferencia física y constitucional.	- Masculino (Hombre) Femenino (Mujer).	- Dato de Boleta.
- Fiebre: elevación de la temperatura del cuerpo.	- Termómetro.	- Dato de Boleta.
- Diarrea: Consiste en la evacuación de heces de consistencia disminuida y en número mayor al habitual, con aceleración del tránsito intestinal.	- Referido por entrevistados.	- Dato de Boleta.
- Anorexia: abolición del apetito.	- Referido por entrevistados.	- Dato de Boleta.
- Adenitis: inflamación de los ganglios linfáticos.	- Examen físico (palpación).	- Dato de Boleta.
- Test de ELISA Igm: Valoración de enzimas unidas a Inmunoabsorventes.	- Por espectototometro.	- Ver anexo No. 1.
- Método de Naranja de Acridina: P.M. 301.8 es un colorante básico, es a la vez fluorescente y metacromático. Que se fija a los polinucleótidos DNA y RNA de los parásitos.	- Microscopio de inmunofluorescencia.	- Ver Método de Naranja de Acridina.
- Método de Strout Modificado: es la colección de sangre en un capilar.	- Microscopio bicular.	- Ver Método de Strout modificado.

## 9.- Instrumentos de Medición:

- Boletas de datos, técnicas de coloración y métodos serológicos.

## EJECUCION DE LA INVESTIGACION

Se incluyó a pacientes mayores de 2 años a 15 años con cuadros febriles. Se realizó por medio de muestreo consecutivo 100 pacientes y se aceptó a cada paciente por medio de visita hospitalaria hecha por el investigador. Se obtuvo 1 muestra (3 cc) de sangre venosa (previa asepsia y antisepsia) de cada niño con lo cual se llenó 3/4 partes de dos capilares especiales (ver técnica de preparación), los capilares previamente recubiertos con Naranja de Acridina y anticoagulante y dos capilares sin colorante solo con anticoagulante. Las muestras de los capilares con Naranja de Acridina se quedaron en lugar oscuro para evitar decoloración y a una temperatura promedio de 4 grados centígrados y las muestras sin Naranja a temperatura ambiente. El resto de la muestra de sangre se centrifugó en el laboratorio del hospital de Cuilapa para obtener el suero, el cual se quedó en congelación para luego ser trasladados juntamente con los capilares al Laboratorio Multidisciplinario (LMD) de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos para su preparación.

En el LMD, se centrifugaron los capilares por 5 minutos y luego se procedió a investigar (por microscopía de inmunofluorescencia) cada centrifugado que contenía Naranja de Acridina en busca de parásitos de Tripanosomiasis Americana; el mismo procedimiento se realizó con los capilares sin Naranja y se observaron en un Microscopio biocular. Además con los sueros obtenidos se realizaron los métodos inmunológicos (IFI y ELISA) según los pasos descritos en los anexos 1 y 2. Tanto los capilares centrifugados como los métodos inmunológicos fueron evaluados por el investigador, conjuntamente con la ayuda del asesor y revisor de tesis, así como personal del LMD.

## a.- Duración de la Investigación:

Durante los meses de Abril y Mayo de 1993.

## b.- Recursos:

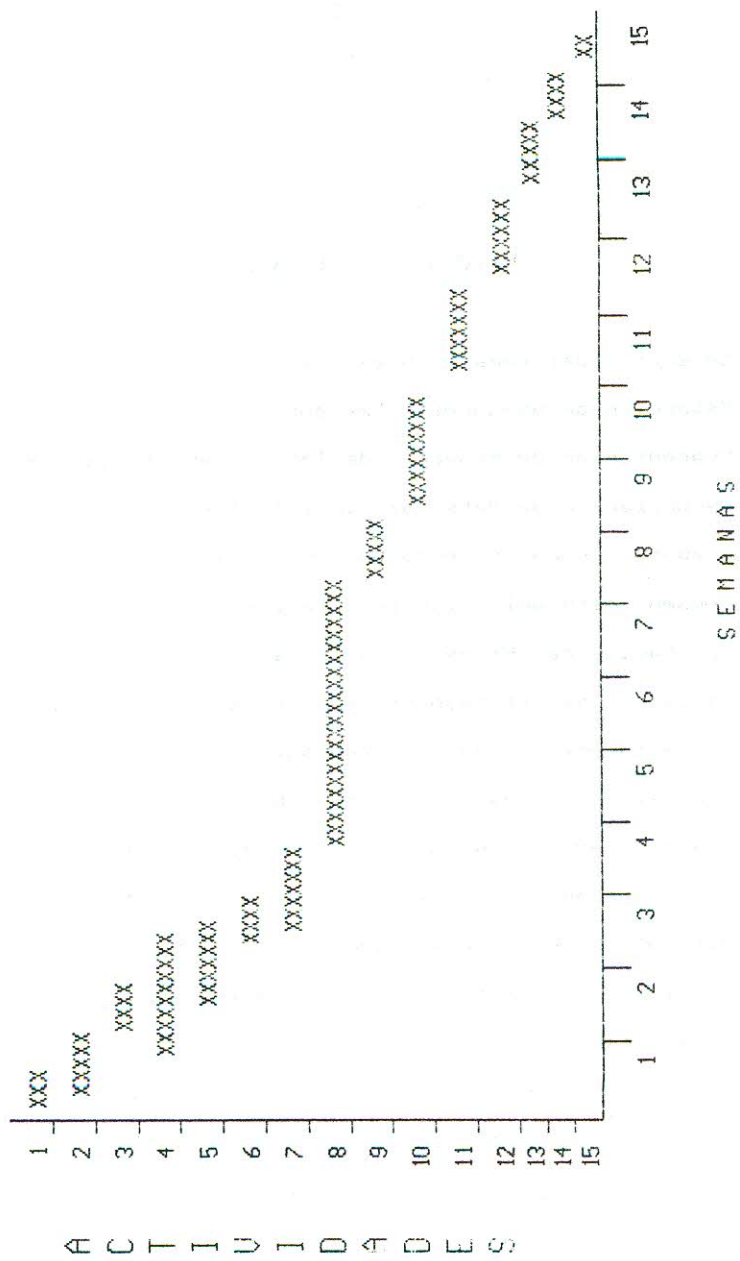
- Físicos: \* Hospital Regional de Cuilapa.
- \* Laboratorio Multidisciplinario, USAC.

- Humanos: \* Personal de laboratorio del hospital regional de Cuilapa Santa Rosa.
- \* Personal de laboratorio de LMD.

#### Materiales:

- Campo: \* Jeringas (No. 100).
  - \* Capilares (No. 400).
  - \* Algodón.
  - \* Alcohol.
  - \* Boletas.
  - \* Hielera.
- 
- Laboratorio:
    - \* Centrifuga.
    - \* Microscopio bi-ocular de Inmunofluorescencia.
    - \* Microscopio bi-ocular.
    - \* Refrigeradora.
    - \* Mechero.
    - \* Naranja de Acridina (coloración).
    - \* Anticoagulante.
    - \* Test de ELISA.
    - \* Test de IFI.

## GRÁFICA DE GANTT



## ACTIVIDADES

- 1.- Selección del tema a investigar.
- 2.- Selección de Asesores y Revisor.
- 3.- Presentación de Proyecto de Tesis y aprobación de Tema.
- 4.- Recopilación de Material Bibliográfico.
- 5.- Elaboración de Proyecto de Tesis. ( Protocolo ).
- 6.- Presentación del Proyecto a la Coordinación de Tesis.
- 7.- Aprobación del Proyecto de Tesis.
- 8.- Ejecución del trabajo de campo y recopilación de información.
- 9.- Procesamiento de datos y tablas.
- 10.- Análisis y discusión de resultados.
- 11.- Elaboración de conclusiones, recomendaciones y resumen.
- 12.- Presentación de informe final para correcciones.
- 13.- Aprobación del informe final.
- 14.- Impresión de informe final y tramites administrativos.
- 15.- Examen público.

## VII. PRESENTACION DE RESULTADOS

CUADRO No. 1  
DISTRIBUCION POR EDAD Y SEXO DE 100 NIÑOS FEBRILES QUE  
CONSULTARON AL HOSPITAL REGIONAL DE CUILAPA,  
SANTA ROSA DURANTE ABRIL Y MAYO DE 1993.

EDAD Años	MASCULINO		FEMENINO		TOTAL	
	No.	%	No.	%	No.	%
02 - 05	17	17 %	13	13 %	30	30 %
06 - 11	25	25 %	24	24 %	49	49 %
12 - 15	10	10 %	11	11 %	21	21 %
TOTALES	52	52 %	48	48 %	100	100 %

FUENTE: Boleta de Recolección de Datos.

CUADRO No. 2  
 DIAGNOSTICO DE ENFERMEDAD DE CHAGAS AGUDA EN 100 NIÑOS FEBRILES  
 QUE CONSULTARON AL HOSPITAL REGIONAL DE CUILAPA,  
 SANTA ROSA DURANTE ABRIL Y MAYO DE 1993,  
 SEGUN EL METODO UTILIZADO.

METODO UTILIZADO	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
ELISA + IFI + NARANJA DE ACRIDINA	9	91	100
NARANJA DE ACRIDINA	4	96	100
T O T A L E S .	13	87	100

ELISA: Análisis Inmunoenzimático en fase sólida.

IFI: Inmunofluorescencia Indirecta.

FUENTE: Boleta de Recolección de Datos.

CUADRO No. 3  
 MANIFESTACIONES CLINICAS EN LOS CASOS POSITIVOS PARA  
 INFECCION AGUDA POR TRYPANOSOMA CRUZI EN LOS NIÑOS QUE  
 CONSULTARON AL HOSPITAL REGIONAL DE CUILAPA SANTA ROSA,  
 DURANTE ABRIL Y MAYO DE 1993.

MANIFESTACIONES CLINICAS	POSITIVOS	PORCENTAJE
FIEBRE	13	100 %
ADENOPATIA	13	100 %
DIARREA	4	31 %
ANOREXIA	1	8 %
OTROS	0	0 %

FUENTE: Boleta de Recolección de Datos.



CUADRO No. 4  
 CONDICIONES DE LA VIVIENDA DE LOS CASOS POSITIVOS DE  
 ENFERMEDAD AGUDA DE CHAGAS EN LOS NIÑOS  
 QUE CONSULTARON AL HOSPITAL REGIONAL DE CUILAPA  
 SANTA ROSA, DURANTE ABRIL Y MAYO DE 1993.

TIPO DE VIVIENDA	POSITIVOS	PORCENTAJE
APTA PARA LA PROLIFERACION DEL VECTOR	12	92 %
NO APTA PARA LA PROLIFERACION DEL VECTOR	1	8 %
T O T A L E S	13	100 %

FUENTE: Boleta de Recolección de Datos.

CUADRO No. 5  
 RELACION HOSPEDERO-VECTOR DE LOS CASOS POSITIVOS PARA INFECCION  
 POR TRYPANOSOMA CRUZI EN LOS NIÑOS QUE CONSULTARON AL HOSPITAL  
 REGIONAL DE CUILAPA, DURANTE ABRIL Y MAYO DE 1993.

RELACION CON EL VECTOR	POSITIVOS	PORCENTAJE
CONOCE EL VECTOR Y FUE PICADO POR EL	1	8 %
CONOCE EL VECTOR Y NO FUE PICADO POR EL	2	15 %
NO CONOCE EL VECTOR	10	77 %
T O T A L E S .	13	100 %

FUENTE: Boleta de Recolección de Datos.

## VIII. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Aquí se presentan los resultados de la investigación realizada en el Hospital Regional de Cuilapa Santa Rosa, sobre la utilidad del diagnóstico Parasitológico e Inmunológico en niños que consultaron al Hospital, con sintomatología de infección aguda actual de Tripanosomiasis y / o episodios febriles, durante el periodo de Abril y Mayo de 1993.

El diagnóstico temprano de la enfermedad de Chagas es uno de los problemas de capital importancia de la enfermedad. Ya que es una enfermedad crónica que tiene un periodo variable asintomático donde es muy difícil de efectuar un diagnóstico clínico y de laboratorio. En la fase aguda cuando se presenta alguna sintomatología como fiebre o signo de "Mazza Romaña", puede detectarse más fácilmente el parásito por medios Parasitológicos y en menor cuantía Inmunológicos pues puede haber un periodo de "Anergia", como un mecanismo del parásito que activa mecanismos Inmunosupresores en el hospedero y de esta manera sobrevive el parásito. Por estas razones el método de Naranja de Acridina en capilares que ha demostrado ser muy efectivo en otras hemoparasitosis y en este estudio que fue útil para el diagnóstico presuntivo de la enfermedad de Chagas agudo. Pero aun es prematuro en que proporción lo es por lo que se necesita de nuevos estudios que demuestren sensibilidad y especificidad con respecto a otros métodos parasitológicos e inmunológicos en enfermedad de Chagas en etapa aguda. (30, 36)

Así también es importante el diagnóstico temprano de la Tripanosomiasis americana ya que en la fase aguda de la enfermedad el tratamiento farmacológico (Nifurtimox y Benzonidazol) reduce considerablemente la duración de los síntomas, la parasitemia y la mortalidad por lo que el pronóstico es favorable, pero en la enfermedad de Chagas crónica, con síntomas o en fase indeterminada de la misma no se ha demostrado la utilidad del tratamiento farmacológico, lo cual predispone a la forma cardíaca de la enfermedad y el pronóstico es considerablemente menos favorable. (9, 18)

El (49%) de los niños que consultaron por cuadros febriles al hospital y que constituyo la mayoría de la muestra (6 - 11 años) de nuestro estudio, se debió a que en la emergencia de este hospital departamental la mayoría de los que consultan son de este grupo de edad, debido a que estos niños tienen una mayor independencia de locomoción y pueden ser acompañados por los padres, vecinos o incluso maestros. (CUADRO No. 1).

Respecto al Método utilizado para el Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas se puede mencionar que un 9% fueron positivos para los métodos de Naranja de Acridina, ELISA e IFI; y un 4% fueron positivos únicamente por el método de Naranja de Acridina exclusivamente. Según los resultados expuestos anteriormente se

puede deducir que se detecto el parásito con un método directo, y dos métodos Inmunológicos (ELISA e IFI IgM anti T. cruzi), los cuales nos demuestran que en este 9% de niños presentan anticuerpos IgM anti T. cruzi los cuales son detectados en etapa aguda. Y el otro 4% solo fue determinado por el método Parasitológico que utiliza capilar con Naranja de Acridina y observación en microscopio Ultra Violeta. Este método hizo una identificación presuntiva del parásito. Por lo antes mencionado y según la OMS el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas se puede determinar por un método Parasitológico ó 2 o más Inmunológicos para tener una confiabilidad aceptada. (CUADRO No. 2).

Las manifestaciones clínicas de los casos positivos de infección aguda detectados en este estudio fueron fiebre (100%), adenopatía (100%), diarrea (31%) y anorexia (8%). En relación a estas características, según la literatura consultada, estas son las manifestaciones clínicas que sobrevienen como síntomas generales indicadores de un proceso infeccioso grave en fase aguda. Respecto al resto de pacientes negativos los cuadros febriles correspondieron a Faringoamigdalitis, Bronconeumonias, síndromes diarreicos de etiología bacteriana; así también la diarrea de estos pacientes correspondió a procesos de etiología viral, bacteriana y otros parásitos. (CUADRO No. 3).

Con relación al tipo de construcción de la vivienda se encontró que el 92% eran viviendas aptas para la proliferación del vector. Se clasificó una vivienda como apta cuando presentó materiales de construcción relativamente livianos. Estos incluyen: paredes de adobe, madera, bajareque, palopique, y techos de: palma, lámina y teja. Se consideró como no apta: paredes de concreto, con repello, con ventanas adecuadamente protegidas, techo de concreto sin agujeros. En la descripción de la enfermedad de Chagas se consideró muy importante la construcción de la vivienda ya que aunque el hábitat natural del vector es selvático, la vivienda desprotegida o construida con materiales informales provee un hábitat adecuado para que el vector lo invada y prolifere en él. Casas bien construidas sin agujeros en paredes o techos son factores importantes para que el vector no entre; y en este estudio solo el 8% se encuentran en esta categoría. (CUADRO No. 4).

En relación al conocimiento que tienen los niños del insecto vector de la enfermedad, se encontró que el 77% refirió no conocerlo, este dato concuerda con la literatura consultada, en donde se refiere a que lo indoloro de la picadura y el hábito nocturno del vector son determinantes para que los pacientes no se percaten de la presencia del mismo. (CUADRO No. 5).

## IX. CONCLUSIONES

- 1.- El diagnóstico de la enfermedad de Chagas en la fase aguda fue de 9% del total de los niños, lo cual se estableció buscando el parásito por el método de Naranja de Acridina en capilar y buscando en el suero anticuerpos IgM anti-T. cruzi, con el empleo del método IFI y ELISA.
- 2.- El diagnóstico presuntivo de infección aguda fue de 4% del total de los niños, el cual se estableció identificando el parásito por el método de Naranja de Acridina en capilar exclusivamente.

## X. RECOMENDACIONES

- 1.- Referir los casos positivos a la Comisión Nacional para el estudio de la enfermedad de Chagas en Guatemala para efectuar el seguimiento clínico serológico y parasitológico de los casos diagnosticados, incluyendo el tratamiento anti-parasitario.
- 2.- Educar y Capacitar a la población de manera constante acerca de la enfermedad de Chagas, su prevención y la importancia de recibir tratamiento completo para evitar las complicaciones de la misma.
- 3.- Efectuar un estudio adicional sobre sensibilidad y especificidad del método de Naranja de Acridina en capilar en pacientes con enfermedad de Chagas en etapa aguda.

## XI. RESUMEN

El presente estudio se realizó en el Hospital Regional de Cuilapa Santa Rosa, lugar donde se detectó pacientes con síntomas de la Enfermedad de Chagas.

La transmisión se efectúa por medio de un insecto vector perteneciente a los Ruduvidos, sus heces fecales pueden contener la forma infectante del parásito.

En Guatemala se estima que se presenta una incidencia anual de 25,000 a 30,000 casos nuevos al año, pero no se reporta, sin embargo las áreas endémicas e hiperendémicas demuestran desde casos de infección Aguda hasta casos Crónicos de la enfermedad.

El estadio de incubación del vector en el ser humano es de unas cuantas semanas a meses, y aunque es más usual en niños, puede ocurrir a cualquier edad.

En el presente estudio se analizaron un total de 100 muestras parasitológicas y serológicas provenientes de niños que consultaron al hospital de Cuilapa, obteniéndose que un 13% de los niños estudiados, presentaban infección aguda por T. cruzi, comprobada por la presencia del parásito en la sangre utilizando el método de Naranja de Acridina y la presencia de anticuerpos IgM específicos contra T. cruzi en el suero de los niños utilizando para ello la técnica de IFI y ELISA. Los signos clínicos que se encontraron, principalmente fueron: Fiebre y Adenopatía en un (100%) y Diarrea (31%). Las condiciones epidemiológicas de las áreas endémicas contribuyen a la transmisión de la enfermedad de Chagas.

## XII. BIBLIOGRAFIA

1. AGUILAR, Francisco J. En su: Parasitología Médica; Litografía Delgado, junio de 1987. pp. 250- 264.
2. ALAY, Mejia, José Miguel; Patrones De Autoanticuerpos En Pacientes Cardiacos Afectados Con Tripanosomiasis Americana En Fase Silenciosa Y Cronica, En El Hospital Regional de Zacapa. Tesis (Médico y Cirujano). USAC, Junio de 1991. pp. 1 - 94.
3. ALONZO, L.M.; En su: Diagnóstico y Evolución De La Enfermedad de Chagas Congenita en Guatemala; IV Congreso Nacional De Microbiología, Memorias, Asociación Guatemalteca de Microbiología, 25-29 Nov. 1991. pp. 95.
4. AMERICAN, Trypanosomiasis; Drugs Used In Parasitic Diseases; Who Model Prescribing Information; 1990. pp. 73 - 74.
5. BECK, J. Waltery Davies, Jonh E.; Medical Parasitology, Second Edition The C.V. Morby Company Saint Louis 1976. pp. 45 - 49.
6. BEHAR, Alcahe, Alberto; Enfermedad De Chagas; Anuario de Cardiología. 1991. pp. 7 - 69.
7. BIAGI, Francisco; Diagnóstico Microscopico De Las Enfermedades Tropicales; Bayer Alemania, Junio 11, 1981. pp. 24 - 25.
8. BICKFORD, John., Mayorga, Carlos; Estado Actual De La Enfermedad De Chagas En Población De Area Endemica; Revista de la Asociación Guatemalteca de Parasitología y Medicina Tropical, Volumen 6. No. 1. Abril 1991. Epoca VI. pp. 69 - 85, 106 - 111.
9. CRAIG, y Faust; Parasitología Clínica; SALVAT Editores S. A.; Mexico - Barcelona 1 era. Edición en 1974. pp. 107 - 116.
10. GALINDO, De León, Jorge Rolando; Aneurismas Ventriculares En La Enfermedad De Chagas; Tesis de Postgrado. Universidad Nacional Autónoma De Mexico, Facultad De Medicina. 1992. pp. 1 - 40.
11. GALLO, Pasquale; Acute Central Nervous System Infection By Trypanosoma Cruzi And AIDS; Arq Neuro Psiquiat (São Paulo). 1992; pp. 375-377.



12. GARCIA, Zapata, M. T. A.; The Effect Of Plastering In A House Persistently Infested With Triatoma Infestans; Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1992. pp. 420 - 423.
13. GOLDSMITH R. S.; Estudios Clínicos y Epidemiológicos Sobre La Enfermedad De Chagas En Comunidades Rurales De Oaxaca Mexico, Estudio De 8 Años; Bol Of Sanit Panam. Vol. 113, No. 2. Agosto de 1992. pp. 97 - 108.
14. GOODMAN, Gilman, Altred; Las Bases Farmacológicas De La Terapéutica; Editorial Medica Panamericana Octava Edición. 1991. pp. 983.
15. GUZMAN, Marin, Eugenia del S.; Estudio Sobre Transmisores De La Enfermedad De Chagas En El Estado De Yucatan; 2 do. Encuentro Regional de Investigación sobre Salud y Sociedad; Universidad Autónoma de Yucatan Merida, Mexico. 1991. pp. 115 - 119.
16. HERNANDEZ, Romero, Mynor Emilio; Hallazgos Ecocardiograficos En Fase Latente De La Enfermedad De Chagas; Tesis (Medico y Cirujano); USAC, Julio de 1992. pp. 1 - 45.
17. HUNTER, G. W., Frye, W. W. y Swartzwelder, J. C.; Manual De Medicina Tropical; 3a. Edición en Español, La Prensa Medica Mexicana, 1973. pp. 425 - 428, 460 - 470.
18. KIRCHHOFF, Louis V.; Tripanosomiasis, Enfermedad de Chagas; Harrison, Principios de Medicina Interna; Duodecima edición (octava edición en Español). Editorial Interamericana McGraw Hill, Mexico, 1991. pp. 925 - 927.
19. LEONARD, J. L.; Carlos Chagas, Pionero De La Salud En El Interior Del Brasil; Bol Of Sanit Panam. Vol. 110, No. 3. Marzo de 1991. pp. 185 - 198.
20. LITVOC, Julio; Mortalidade Por Doença De Chagas No Estado De Sao Paulo (Brasil): Subsídios Para O Planejamento Da Assistência ao Chagásico; Rev. Saúde Públ., S. Paulo, 26(2): 1992. pp. 59-65.
21. LONG, Gary W.; Acridine Orange Detection Of Plasmodium Falciparum Malaria: Relationship Between Sensitivity And Optical Configuration; Am. J. Trop. Med. Hyg. 44 (4). 1991. pp. 402 - 405.

22. MARTELLI, Celina Maria T.; Trends Of T. cruzi Infection Based On Data From Blood Bank Screening; Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 32 (2): Marco - Abril, 1990. pp. 132 - 137.
23. MATTA, V. L., Hernández, J. L., Schenone, H.; Enfermedad De Chagas En Guatemala; Memorias de: VIII Congreso Latinoamericano de Parasitología; Noviembre 1987. pp. 253 - 255, 259, 273.
24. MAZZA, Salvador; La Enfermedad De Chagas; Bol Of Sanit Panam 113 (4), 1992. pp.310 - 313.
25. NELSON, Waldo; Tripanosomiasis Americana; En su: Tratado de Pediatria; Editorial Interamericana 13a. edición, 1989. pp. 785 - 787.
26. NEWS, Notes; Acute Chagas Disease Via Blood Transfusion; TDR News No. 30 December 1989.
27. OLIVEIRA, O. S.; Detección De Infectados Por T. cruzi Mediante Inmunofluorescencia, ELISA y Hemaglutinación En Suero Y Eluidos De Sangre Seca; Bol Of Sanit Panam. Volumen 110 (6). Junio de 1991. pp. 489 - 496.
28. ORELLANA, Pontaza, Patricia; Infección Por Trypanosoma Cruzi En Pacientes Que Presentan Bloqueo De Rama Derecha Del Haz De His; Tesis (Medico y Cirujano). USAC, Agosto 1990. pp. 1 - 46.
29. PERLOWAGORA, Szumlewicz; Estudos em busca de um inseto modelo para o xenodiagnóstico em hospedeiros com doença de Chagas; Rev. Saude públ., S. Paulo, 24 (3), 1990.
30. RICKMAN, L. S. et al; Rapid Diagnosis of Malaria By Acridine Orange Staining Of Centrifuged Parasites; The Lancet, January 14, 1989. pp.68 - 71.
31. ROBBINS, S. L. y Cotran, R. S.; Protozoos Intracelulares; En su: Tratado De Patología Estructural y Funcional, 4a. Edición, Editorial Interamericana, Mexico 1990. pp. 369 371.
32. SALVATELLA, R., Calegari, L. y Casserone, S.; Seroprevalencia De Anticuerpos Contra Trypanosoma cruzi en 13 Departamentos del Uruguay; Bol Of Sanit Panam. Volumen 107, No. 2, Agosto 1989. pp.108 -117.

33. VILLAGRAN, Blanco De Tercero, Carmen; Congenital Chagas Disease: Correlations Between 1 Manifestations And Serological Reactivities To T. cruzi Peptides And Laminin; The Karolinska International Research Training Program KIRT, Stockholm, Sweden, 1992. pp. 1 - 49.
34. VOLLER, A., Savigny, D.; Enzyme Linked Immunosorbent Assay; Technicals of Laboratories. 1977. pp. 157 - 160.
35. VOTTERO, Cima, Elsa; Immune Response In Mice Immunized With Acidic Antigenic Fractions From Trypanosoma cruzi Cytosol; Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. Volumen. No. 5; Setembro - Outubro, 1992. pp. 389 - 394.
36. WARDLAW, Stephyen et al; Quantitative Buffy Coat Analysis: A New Laboratory Tool Functioning as a Screening Complete Blood Cell Count; JAMA, Febrero 4. 1983. Volumen. 249. No. 5. pp. 617 - 620.
37. WHO, World Health Organization (Geneva); Chagas Disease; Wkly Epidem. Rec. - Relevé épidém. Hebd.: 24 August 1990. 65. pp. 257 - 264.
38. WHO, World Health Organization (Geneva); Control Of Chagas Disease; Technical Report Series. 1991. 811.
39. WYNGAARDEN, J. B. y Smith, L.; Tripanosomiasis Americana; En su: Tratado de Medicina Interna de Cecil Loeb; 18a. Edición, Editorial Interamericana, México, 1991. pp. 2056-2060.
40. ZICKER, Fabio; Triagem Sorologica Para O Trypanosoma cruzi Entre Doadores De Sangue Do Brasil Central; Bol Of Sanit Panam. Volumen 113, No. 1. Julio, 1992. pp. 19 - 27.

## XIII. ANEXOS

## ANEXO No. 1

## PROCESAMIENTO DE PRUEBAS POR EL METODO DE ELISA

El método de ELISA fue estandarizado en el LMD de la Facultad de Ciencias Médicas basados en la descripción original de Woller. et. al. 1975. Se utilizó el extracto sonicado de una cepa de L. cruzi aislada de un paciente guatemalteco por la Dra. Carmen de Tercero.

La concentración óptima de antígeno para sensibilizar la placa de poliestireno fue de 10 microgramos por ml. de proteína.

Las diluciones óptimas del suero del paciente fueron de 1:20 y del conjugado anti IgM de 1:1000.

## PROTOCOLO DE TRABAJO

1. Se adhirió el antígeno a placas de poliestireno, a una concentración de 10 microgramos por ml. con buffer de Carbonato ph 9.6 (18 horas a 4 grados centígrados).
2. Se lavó 3 veces con PBS tween al 1%.
3. Se agregó 50 microlitros del suero del paciente (previamente diluido 1:20 con PBS 7.4), a cada pozo, colocando en el pozo siguiente PBS como control negativo.
4. Se incubó en cámara húmeda 1 hora a 37 grados centígrados.
5. Se drenó por inversión y se repitió el lavado 3 veces con PBS tween al 1%.
6. Se agregó 50 microlitros de conjugado anti-IgM de fosfatasa Alcalina a cada pozo y se incubó a 37 grados centígrados en cámara húmeda por 1 hora.
7. Se drenó por inversión y se lavó nuevamente 3 veces con PBS tween al 1%.
8. Se agregó 100 microlitros de ésteres de fosfato para que reaccionara con la enzima.
9. Se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora.
10. Se leyó inmediatamente la densidad óptica de cada pozo en un microlector.

El promedio, más dos desviaciones standard de los controles negativos se tomó como el valor de corte.

## ANEXO No. 2

### PROCESAMIENTO DE PRUEBAS POR EL METODO DE IFI

Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta para Trypanosoma cruzi. Standarizado por Dra. Carmen de Tercero.

#### PROTOCOLO DE TRABAJO

1. Se tomó del medio de cultivo líquido una concentración de 20 parásitos por campo de 40 x (Cepa Tulahen de T. cruzi), en una solución PBS formalina 0.1%.
2. Se colocó en lámina limpia cuadrículada.
3. Se colocó una gota (5 microlitros) de parásitos en cada cuadrícula.
4. Se secó en incubadora húmeda a 37 grados centígrados por 18 horas.
5. Se agregó dilución 1:20 del suero del paciente (5 ul) en cada cuadrícula.
6. Se incubó a 37 grados centígrados en cámara húmeda por 45 minutos.
7. Se lavó con PBS 3 veces, se secó al aire.
8. Se agregó una gota (5 ul) de conjugado con fluoresceína 1:50.
9. Se incubó por 45 minutos en cámara húmeda a 37 grados centígrados.
10. Se lavó con PBS 3 veces, se secó al aire.
11. Se observó al microscopio de Inmunofluorescencia a 40 x con glicerina buferada.
12. Se incluyó en cada lámina un suero control positivo y uno negativo.

**BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS**

NOMBRE \_\_\_\_\_ EDAD: \_\_\_\_\_ Años \_\_\_\_\_ Meses \_\_\_\_\_ SEXO: \_\_\_\_\_

DIRECCION \_\_\_\_\_ No. BOLETA: \_\_\_\_\_ FECHA: \_\_\_\_\_

MOTIVO DE CONSULTA: \_\_\_\_\_

HISTORIA DE LA ENFERMEDAD: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ANTECEDENTES: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

TIPO DE VIVIENDA: \_\_\_\_\_

EXAMEN FISICO: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

DIAGNOSTICO CLINICO: \_\_\_\_\_

RESULTADO DEL METODO DE NARANJA DE ACRIDINA: \_\_\_\_\_

RESULTADO TEST DE ELISA: \_\_\_\_\_ RESULTADO DE IFI: \_\_\_\_\_