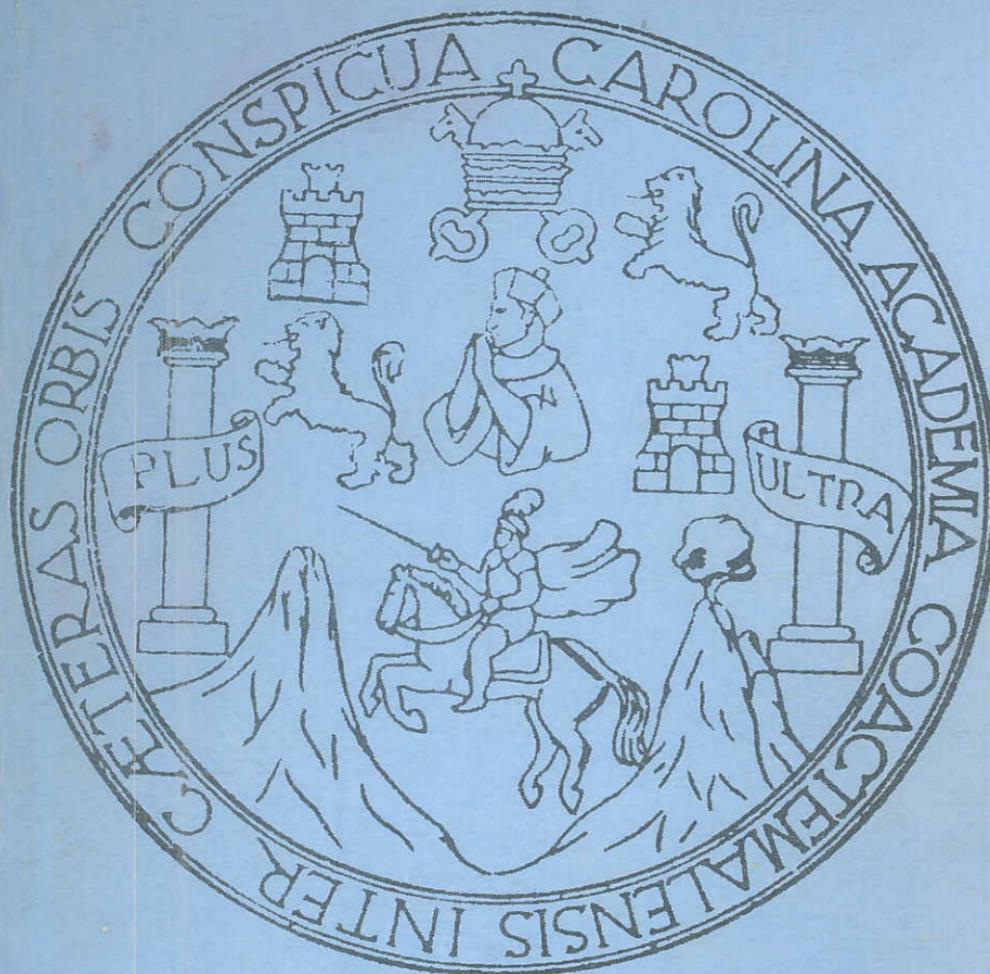


**"INCIDENCIA DE INFECCION POR TRYPANOSOMA CRUZ  
EN NIÑOS FEBRILES MENORES DE DIEZ AÑOS"**



Estudio descriptivo transversal realizado en niños  
menores de diez años febriles que consultaron  
al Hospital Regional de Zacapa durante  
el mes de abril de 1998

GLORIA SUSANA SOTO CHAVEZ

# INDICE

I.	INTRODUCCION .....	3
II.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	5
III.	JUSTIFICACION .....	7
IV.	OBJETIVOS .....	9
V.	REVISION BIBLIOGRAFICA	
	TRIPANOSOMIASIS AMERICANA .....	11
	1. Datos históricos .....	11
	2. Etiología .....	12
	FIGURA No. 1 (Ciclo evolutivo y reservorios del <u>T. cruzi</u> ) .....	14
	3. Epidemiología .....	15
	4. Inmunología .....	16
	5. Patología .....	17
	6. Manifestaciones clínicas .....	18
	7. Diagnóstico .....	19
	a. Xenodiagnóstico .....	20
	b. Inoculaciones .....	20
	c. Cultivos .....	20
	d. Métodos serológicos .....	21
	i. Hemaglutinación Indirecta (HIA) .....	21
	ii. ELISA .....	21
	iii. Inmunofluorescencia indirecta .....	21
	iv. Factor EVI .....	22
	v. Antígeno vertido de la fase aguda (SAPA) .....	22

8. Tratamiento .....	22
9. Profilaxis .....	23
VI. METODOLOGIA .....	25
VII. PRESENTACION, ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS .....	33
CUADRO 1. Conocimiento del vector.....	35
CUADRO 2. Picadura del vector .....	36
CUADRO 3. Condición de la vivienda .....	37
CUADRO 4. Presencia de animales domésticos.....	39
CUADRO 5. Sintomatología y Enfermedad de Chagas .....	40
CUADRO 6. Manifestaciones clínicas .....	42
CUADRO 7. Relación de positividad .....	44
CUADRO 8. Resultado de pruebas serológicas.....	45
CUADRO 9. Porcentaje de positividad .....	46
VIII. CONCLUSIONES .....	49
IX. RECOMENDACIONES .....	51
X. RESUMEN .....	53
XI. ANEXOS (Boleta de recolección de datos) .....	55
XII. BIBLIOGRAFIA .....	57

## I. INTRODUCCION

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana es endémica en Guatemala. Mundialmente se estima que de 16 a 18 millones de personas tienen la infección. (7)

La enfermedad de Chagas se transmite a través de las heces contaminadas de insectos de la familia Triatoma, ya que estos defecan al momento de alimentarse y la persona que recibe la picadura se inocula al frotarse accidentalmente las heces del insecto en el sitio de la picadura (14). Los parásitos penetran en el tejido y se reproducen activamente, salen a la circulación donde producen parasitemia que es característica de la fase aguda de la enfermedad, esta fase se presenta en niños en un 90% y las manifestaciones clínicas son poco evidentes o pueden presentarse signos característicos como fiebre, linfadenopatía, hepatoesplenomegalia, signo de Maza Romana y Chagoma de inoculación entre otros. (2, 14)

El departamento de Zacapa es un área endémica, por lo que el propósito de este estudio fue determinar la incidencia de infección por T. cruzi en niños menores de diez años con fiebre y linfadenopatía que consultaron al Hospital Regional de Zacapa durante el mes de abril de 1998.

Se estudiaron 82 niños a los cuales se les tomo una muestra sanguínea para determinar la presencia de anticuerpos específicos

anti T. cruzi por los métodos serológicos de Hemaglutinación Indirecta (HIA), ELISA IgG e IgM así como Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).

A todos los pacientes estudiados se les hizo historia clínica para obtener datos relacionados con el vector y examen físico orientado a la sintomatología de la enfermedad.

Respecto al conocimiento del vector se encontró que el 72% manifestaron conocerlo. En relación a la presencia de factores de riesgo como condición de la vivienda se encontró que 55% tenían condiciones adecuadas para la proliferación del vector. La sintomatología clínica compatible con la enfermedad de Chagas aguda se encontró en el 70%, de ellas, 12 casos (el 15%) fueron positivos para anticuerpos anti T. cruzi.

Los resultados serológicos registraron 12 casos positivos para HIA y para confirmar diagnóstico se realizó la prueba de ELISA IgG de la cual 10 casos fueron positivos, para la prueba de ELISA IgM 7 casos fueron positivos. Con la prueba IFI el 100% de los pacientes fue negativo.

Por lo que se llegó a un 15% de positividad para el estudio. Los datos anteriores nos demuestran la necesidad de continuar con estudios en niños en áreas endémicas en Guatemala, así como dar un tratamiento adecuado y seguimiento del problema para el control del vector.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Tripanosomiasis Americana (Enfermedad de Chagas), es una infección parasitaria producida por el protozoo flagelado llamado Trypanosoma Cruzi, parásito descubierto en Brasil por Carlos Chagas en 1909, es transmitida al hombre por insectos hematófagos de los géneros *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus*. (4).

Esta infección puede presentarse en diferentes formas y una de estas formas, es la etapa aguda, la cual puede ser asintomática, o puede causar linfadenopatía, fiebre, malestar general, hepatoesplenomegalia, dañando cualquier órgano. En los niños es importante el diagnóstico temprano, ya que de no hacerse el diagnóstico y prescribir un tratamiento adecuado el pronóstico puede ser muy grave. Desafortunadamente los síntomas son poco relevantes y se descubre el parásito solo mediante métodos de laboratorio, por consiguiente esta representa un reto para la investigación, ya que durante la niñez puede pasar desapercibida y traer complicaciones posteriores como manifestaciones cardíacas o digestivas (10,17).

Zacapa es una área endémica en Guatemala de enfermedad de Chagas (5,9,12,18) por lo que nos motivó a realizar dicho estudio en el Hospital Regional de Zacapa en pacientes que presentaron fiebre y linfadenopatía y que acudieron a la consulta externa. A estos pacientes se les realizaron pruebas serológicas: Hemaglutinación indirecta (HIA), Análisis Inmunoenzimáticos de Fase Sólida (ELISA IgG e IgM), e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), ya que estas son

herramientas diagnósticas sensibles, útiles y rápidas; para confirmar diagnóstico cuando dos o más de ellas son positivas.

### III. JUSTIFICACION

En la mayor parte de los casos los síntomas clínicos durante la fase aguda de la Enfermedad de Chagas, son leves, no existen o pasan desapercibidos, esta rara presentación ocurre en niños y coincide muchas veces con la multiplicación local del parásito y su diseminación hematógena. En algunos pacientes pueden presentarse signos característicos de la Enfermedad de Chagas; como el signo de Mazza Romana (edema firme y unilateral de los párpados), que se encuentra en menos del 50% de los pacientes, y días después de la aparición del signo, se desarrolla fiebre, linfadenopatía generalizada y malestar general (9,14).

En Guatemala, se estima que se presenta una incidencia anual de 30 mil casos nuevos al año, una prevalencia de 750,000. Se ha demostrado que en el área nororiente del país la seropositividad esta entre 5 y 20% de los habitantes aparentemente sanos, a excepción de Zacapa cuya seropositividad podría llegar hasta un 40% y en niños hasta un 10%. (18)

Lo citado anteriormente demostro la necesidad de realizar un estudio en una población de niños menores de diez años con sintomatología, fiebre y linfadenopatía y de realizar serología para diagnosticar, y así tratar de diseñar métodos con los cuales pueda controlarse dicha enfermedad buscando un mejor tratamiento, manejo clínico y un mejor pronóstico.(10).

## IV. OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

1. Determinar la incidencia de Infección por Trypanosoma Cruzi en niños febriles y con linfadenopatía que acudieron a la consulta externa del Hospital Regional de Zacapa durante el mes de Abril de 1998.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Efectuar diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas aguda por el método serológico Hemaglutinación Indirecta.
2. Efectuar diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas aguda por el método serológico ELISA IgG e IgM y por Inmunofluorecencia Indirecta.
3. Determinar la relación existente entre los niveles de anticuerpos, el estadio clínico y las manifestaciones clínicas de los pacientes.
4. Describir las características epidemiológicas que inciden en los pacientes con enfermedad de Chagas.

## V. REVISION BIBLIOGRAFICA

### TRIPANOSOMIASIS AMERICANA

(Enfermedad de Chagas)

#### 1. DATOS HISTORICOS:

En 1909, Carlos Chagas descubre la enfermedad en el Estado Brasileño de Minas - Gerais y describe magistralmente los hechos etiológicos, clínicos, epidemiológicos y parasitológicos que le conciernen. Es con toda justicia que la tripanosomiasis americana tiene como epónimo Enfermedad de Chagas. El segundo país en donde se diagnosticó T. cruzi, fue El Salvador, por Segovia en 1913. Dentro de las más importantes contribuciones sobre el tema, destacamos las de Mazza Romaña. En Guatemala, fue el 19 de mayo de 1932, cuando el Dr. Romeo De León reportó por primera vez el hallazgo de *Trypanosoma* sp. En monos saraguates de Alta Verapaz. Meses después el Dr. Eduardo Reichenow reporta numerosos casos humanos infectados con T. cruzi localizados en los departamentos de El Progreso, Escuintla y Alta Verapaz; así como la infección de triatomídeos por el mismo *Trypanosoma* en 33%. El Dr. Romeo De León en 1934, reporta caso de tripanosomiasis por hallazgo en sangre, en un niño de la población de Sanarate, El Progreso. En 1935 el Dr. de León reporta por primera vez en humanos, pobladores de El Progreso, un *Trypanosoma* que él, en ese momento considero como diferente al *Trypanosoma cruzi*. En la XII Conferencia Sanitaria Panamericana, reunida en Caracas en 1947 se identifico a esta

especie de *Trypanosoma* como la descrita por Tejerá 1920, correspondiendo al *Trypanosoma rangeli*.

En los años 50 tuvimos la suerte de tener entre nosotros al Dr. Luis M. Peñalver, catedrático e investigador de la República de Venezuela, quien le dio un nuevo ímpetu a la investigación de la enfermedad de Chagas en Guatemala, tanto desde el punto de vista epidemiológico como clínico y patológico. El entusiasmo del Dr. Peñalver asociado al infatigable interés y dedicación del Dr. Romero de León, sirvió de eje a parasitólogos, cardiólogos y patólogos, equipo determinante para enfatizar la importancia de la enfermedad de Chagas como problema de salud en Guatemala. (1,5).

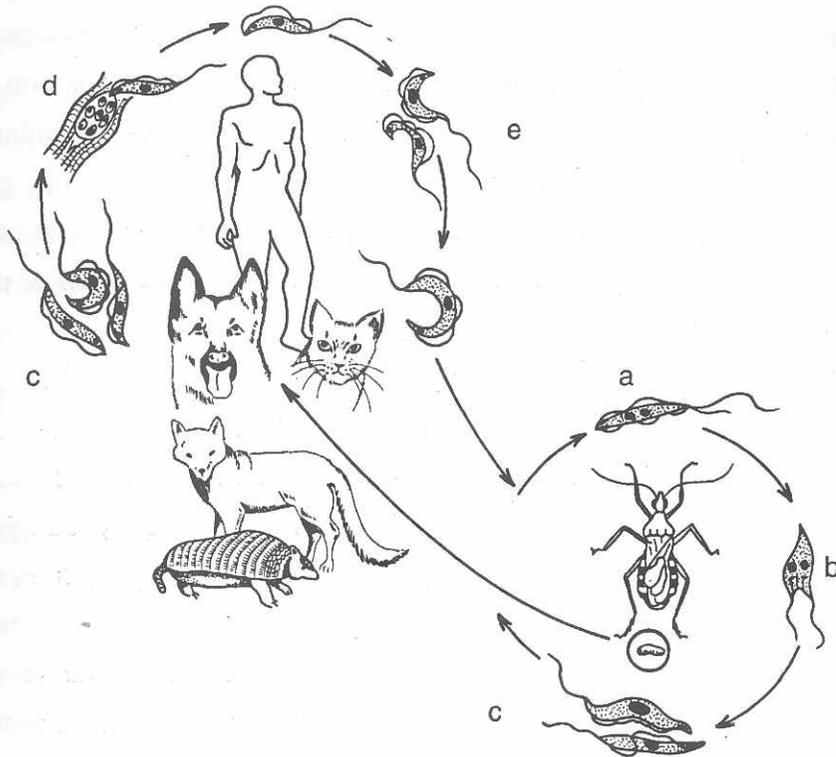
## 2. ETIOLOGIA:

La Tripanosomiasis Americana es una zoonosis causada por *Trypanosoma cruzi*, un parásito protozooario del suborden Trypanosomatidae. En el huésped invertebrado, *T. cruzi* crece extracelularmente en dos formas distintas. Los epimastigotes se multiplican en el intestino del insecto y al cabo de 1 - 2 semanas se diferencian en el recto del insecto en los tripomastigotes metacíclicos, las formas infecciosas para el huésped mamífero. Los tripomastigotes son liberados con las heces infectadas del insecto cuando defeca cerca de la zona de su picadura mientras se alimenta de la sangre del huésped, o después. Entra a través de la piel lesionada o mediante contaminación de las mucosas. Una vez en el huésped vertebrado, los tripomastigotes metacíclicos entran fácilmente en las células, donde se replican como amastigotes. Los amastigotes se diferencian entonces

intracelularmente en tripomastigotes, que son liberados en los vasos donde circulan como forma tripomastigotes del torrente circulatorio. Estos no se replican hasta que entran en otra célula o son captados por otro vector insecto.(4) (Ver figura No. 1).

Los tripomastigotes sanguíneos aparecen en las preparaciones teñidas como flagelados en forma de S, de 15-20 micrometros de largo, con un flagelo que nace en el extremo posterior, recorre el cuerpo del parásito y emerge como flagelo libre en el extremo anterior. Pueden identificarse fácilmente un núcleo central y un gran cinetoplasto. Los amastigotes del huésped vertebrado aparecen como aflagelados ovals de aproximadamente 3-6 micrometros de diámetros.(1,4,6,17,19)

## CICLO EVOLUTIVO Y RESERVORIOS DEL *TRYPANOSOMA CRUZI*



**FIGURA No. 1** Diagrama que ilustra el ciclo vital del *T. cruzi* y sus reservorios (Tomado de 2).

a. *T. cruzi* Tripomastigote; b. Promastigote; c. Epimastigotes en el vector; d. Amastigotes; e. *T. cruzi* Tripomastigote en el hospedero.

### 3. EPIDEMIOLOGIA:

En un cálculo de población de 360 millones de habitantes en el mundo, por lo menos 90 millones de personas (25%) son considerados con riesgo de infección y 16 a 18 millones de personas son infectadas. Generalmente se espera que cerca del 30% de la población infectada desarrollaren clínicamente la enfermedad. Por lo tanto se espera que del total anterior 5 millones de personas tengan los síntomas clínicos de la enfermedad de Chagas. (7)

En un principio la infección por *T. cruzi* se producía entre los mamíferos salvajes del continente americano y se extendió a los humanos cuando los insectos reduvidos vectores se adaptaron a las viviendas humanas, principalmente en las áreas rurales y socioeconómicas pobres. Las casas de adobe, barro o caña con numerosos agujeros en las paredes, proporcionan un refugio excelente para los insectos reduvidos (3). Animales domésticos y salvajes pueden ser reservorios naturales del parásito, los más importantes para el hombre son el perro y el gato. (3,17).

En Guatemala los datos obtenidos en los últimos 20 años, señalan la presencia de *T. cruzi* en 21 de los 22 departamentos, así como también se ha comprobado la presencia del vector infectado, intradomiciliario.

Los datos obtenidos en la Dirección General de Servicios de Salud reportan anualmente de 25 a 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 es de un 15 hasta un 40% de la población aparentemente sana.(18)

#### 4. INMUNOLOGIA:

Los macrófagos son la respuesta inflamatoria inicial de esta fase. Los sitios de crecimiento del parásito son caracterizados por la infiltración inflamatoria de células T y células B. Esta etapa es caracterizada por severas inmunosupresiones durante las cuales los anticuerpos para los parásitos u otros antígenos no pueden ser detectados. Sin embargo la fase aguda induce una masiva proliferación de células B, por lo que hay un incremento en el bazo y nodulos linfáticos, secretando IgG2 e IgG1 anticuerpos, indicando fuertes isótopos específicos. El origen de la activación de células B policlonales, la cual continua durante la fase crónica, no esta clara (9,11,13).

Estudios tanto in vitro, como en el hombre, han demostrado que la infección aguda por T. cruzi causa severa inmunosupresión en el hospedero. Una de las principales alteraciones seria la intensa depresión en la producción de interleucina-2 (IL-2) por células T. También fue demostrado que los T. cruzi tienen la capacidad de inducir disminución en la expresión de moléculas de superficie CD3+, CD4+ y CD8+ así como receptores de IL-2. Estas moléculas son fundamentales para la activación eficaz del sistema inmunológico. (16)

#### 5. PATOLOGIA:

La lesión inicial aparece en el sitio por el cual entraron los parásitos. Estos invaden las células del sistema reticuloendotelial. Pueden también invadir otras células como las adiposas y fibras musculares del tejido subcutáneo. Por acción mecánica se destruyen las células y los parásitos se liberan para atacar otras. Ocurre allí una reacción inflamatoria con infiltrado leucocitario.

A partir del sitio de entrada hay invasión a los ganglios regionales, los cuales por la reacción inflamatoria, se bloquean y aumentan de tamaño. A partir de ellos se producen invasiones a otros órganos, como pulmones, bazo, hígado, médula ósea, corazón, tubo digestivo, suprarrenales y cerebro. Diferentes tipos de células, principalmente histiocitos fijos, sufren destrucción debido a la reproducción intracelular de los parásitos. Esta etapa aguda tiene baja mortalidad.(15,19).

Después de la fase aguda ocurre una respuesta inmune con baja parasitemia, que constituye el período latente o indeterminado, con una duración media de 10 años.

En la fase crónica, la patología principal ocurre a nivel del corazón. En las fibras musculares de este órgano existe multiplicación de los parásitos, los que forman nidos o acúmulos de amastigotes intracelulares o pseudoquistes. La reacción inflamatoria se manifiesta por miocarditis, en esta fase se encuentran pocos parásitos pero hay una reacción de hipersensibilidad. El corazón termina en una gran cardiomegalia, con hipertrofia ventricular y dilatación de las cavidades, especialmente del corazón derecho.

A nivel del sistema de conducción existen alteraciones lo que origina bloqueos de rama. En pacientes con compromiso del tubo digestivo se presentan megalias. (17)

## 6. MANIFESTACIONES CLINICAS.

La forma aguda de la enfermedad es poco frecuente y se presenta principalmente en niños, los síntomas clínicos durante la fase aguda son leves o no existen. Esta rara presentación se observa en niños de las áreas endémicas, particularmente en los que tienen de 0 a 2 años. (3,10).

En el sitio de entrada del parásito aparece una lesión primaria que se conoce con el nombre de Chagoma de inoculación, que consiste en una reacción inflamatoria de forma nodular, generalmente indolora, que más tarde se vuelve erisipeloide, con una zona central necrótica o hemorrágica. Aparece luego edema localizado que se extiende hacia los ganglios regionales. En la forma aguda es muy característica la presencia del signo de Romaña, consiste en una reacción inflamatoria oftalmoganglionar con edema palpebral uni o bilateral, casi siempre acompañado de edema facial y conjuntivitis. Al extenderse la infección existe compromiso de los ganglios linfáticos, generalmente aquellos de la región del cuello y submaxilares. Cuando la infección se disemina hay linfadenopatía generalizada y los ganglios aumentan de tamaño y son duros e indoloros.

En el período de parasitemia se presenta fiebre elevada que puede ser intermitente o continua, en algunas ocasiones precedida de escalofrío. Otros síntomas generales que relata el paciente son

inapetencia, malestar general, dolores musculares, cefalea y en algunas ocasiones exantema morbiliforme. Además de los ganglios linfáticos puede existir invasión a diferentes órganos. Con frecuencia ocurre hepato y esplenomegalia debido al daño producido por el parásito al entrar al sistema reticuloendotelial de éstos órganos. Por la invasión a la médula ósea, en donde ocurre gran parasitismo intracelular, se produce anemia no muy acentuada. El parásito puede invadir los pulmones y posteriormente el corazón, en algunos casos llega a producir meningoencefalitis. Cuando ataca el corazón en la forma aguda de la enfermedad ocurre miocarditis aguda, que puede llevar al paciente a la muerte súbita, en algunos casos lo hace después de haber originado una insuficiencia cardiaca congestiva. Muchos pacientes pasan la etapa aguda y entran en una fase de latencia, generalmente asintomática. Otros pueden llegar a la curación aparente. Después del período de latencia que puede durar muchos años, la mayoría de las infecciones pasan lentamente a la etapa crónica, en la cual se desarrollan lesiones de preferencia a nivel miocárdico.(14,17,19)

## 7. DIAGNOSTICO:

En la fase aguda de la enfermedad se debe hacer diagnóstico diferencial con varias enfermedades febriles. Es importante la historia epidemiológica, antecedentes de residencia en una región endémica de tripanosomiasis, la historia clínica detallada. La enfermedad de Chagas congénita y aguda debe diferenciarse de Toxoplasmosis, Sífilis, enfermedad hemolítica y cuadros sépticos. Cuando la infección

es reciente, especialmente en la fase aguda, es importante buscar los parásitos circulantes. Los resultados negativos no excluyen la infección, debido a que en la mayoría de los pacientes la parasitemia es muy baja.

En los extendidos y gotas gruesas coloreadas se estudia su morfología característica. Para la tinción de muestras de sangre o médula ósea se usan los mismos colorantes que para la malaria.

**a. Xenodiagnóstico:**

Este método utiliza el vector natural criado en el laboratorio y libre de infección. Los pacientes sospechosos se hacen picar por ninfas de estos insectos, los parásitos entran con la ingestión de sangre y se reproducen en el tubo digestivo, después de 10 a 14 días se buscan en las materias fecales de los triatomíneos. Se hacen lecturas a los 30, 60 y 90 días. La efectividad aproximadamente es de 85% en las formas agudas, 80% en las congénitas y 49% en las crónicas (17).

**b. Inoculaciones:**

Se utilizan especialmente en ratones, sirven para aislar el parásito de la sangre, LCR y tejidos macerados (17).

**c. Cultivos:**

Sirven para el estudio de sangre periférica, LCR o fragmentos de tejidos. Estos son menos sensibles que el xenodiagnóstico (17).

**d. Métodos Serológicos:**

Son los de mayor utilidad para el diagnóstico, cuando no existe parasitemia. La presencia de anticuerpos es una evidencia indirecta de que el paciente se ha infectado con T. cruzi. La prueba más utilizada es la reacción de fijación del complemento, la especificidad de esta prueba es cercana al 100%, la sensibilidad varía entre 20 y 40% en la fase aguda, estas pruebas detectan anticuerpos IgG o IgM. (4,6,17).

**i. HEMAGLUTINACION INDIRECTA (HIA):** Esta reacción es más sensible que la fijación del complemento y ha tomado gran importancia debido a que es útil en ambas fases de la enfermedad por su alta especificidad y sensibilidad, además de la sencillez de la técnica. Se utilizan glóbulos rojos tamizados a los cuales se les adhiere un antígeno de tipo proteico o una fracción de polisacáridos, El micrométodo semicuantitativo se utiliza como prueba inicial de selección en grupos de sueros anticomplementarios que ocurre en la fijación del complemento. (6,16,17,19)

**ii. ELISA:** La prueba de ELISA detecta anticuerpos T. cruzi, con mayor especificidad y sensibilidad.

**iii. INMUNOFLUORECENCIA INDIRECTA (IFI):** Tiene la ventaja de ser sencilla y positiva más precisamente. Utiliza como antígeno T. Cruzi fijado en la preparación, en sus formas tripó y epimastigote. Puede mostrar reacciones cruzadas con otros protozoarios, la prueba esta indicada para la infección congénita y fase aguda, con ella es posible detectar anticuerpos tanto IgG como IgM (19).

iv. **FACTOR EVI:** Esta detecta anticuerpos circulantes que reaccionan con el endotelio (E), vasos sanguíneos (V) y el intersticio (I), lo cual se denomina factor EVI, se encuentra una alta correlación con individuos que presentan problemas cardiacos.(17)

v. **ANTIGENO VERTIDO DE LA FASE AGUDA (SAPA):** Es vertido en un medio de cultivo para el estado de trypomastigote del parásito y se encuentra también en la sangre de ratones con infección aguda. Este antígeno fue clonado y caracterizado y tiene varias bandas de proteínas con un peso molecular aparente de 160 a 200 kilo daltons. Es detectado por inmunoglobulinas del plasma de ratones infectados y en sobrenadante de cultivo de trypomastigotes, que reaccionan con anticuerpos frente a SAPA (8). SAPA es uno de los principales antígenos para detectar la enfermedad de Chagas en su fase aguda, detecta inmunoglobulinas (IgG e IgM). La IgM puede ser detectada en infecciones fetales, y la IgG en infecciones después del nacimiento.

#### 8. TRATAMIENTO:

En este momento solo se dispone de dos drogas, que se distribuyen comercialmente y que poseen actividad para matar al parásito. Una de ellas es el Nifurtimox, y pertenece al grupo de los derivados de Nitrofuranos. Su mecanismo de acción se ejerce sobre ciertas enzimas indispensable para el metabolismo del parásito. La dosis recomendada para niños es de 15 a 20 mg/kg/día. En los adolescentes hasta los 16 años, de 12.5 a 15 mg/kg/día. La duración

del tratamiento es de 60 a 90 días. Los niños por lo general presentan poca reacción de intolerancia.

El benzonidazol debe ser usado en la dosis de 5 a 7 mg/kg/día, durante 60 días. Dosis mayores pueden llegar a producir polineuropatía periférica.

El control de tratamiento se hace mediante estudios de xenodiagnósticos y pruebas serológicas.(4,14,17,19)

#### 9. PROFILAXIS:

La Trypanosomiasis Americana, como otras enfermedades parasitarias, constituye un serio problema socioeconómico en Latinoamérica ya que condiciona el mejoramiento de la vivienda, el control de los redúvidos vectores por medio de insecticidas y la educación para la salud en todos los niveles. La profilaxis individual consiste en evitar la picadura del insecto transmisor. Se debiera llevar control de las transfusiones sanguíneas en los Bancos de Sangre.(1)

## VI. METODOLOGIA

### 1. TIPO DE INVESTIGACION:

Estudio descriptivo transversal.

### 2. POBLACION A ESTUDIAR:

Pacientes menores de 10 años que consultaron al Hospital Regional de Zacapa con fiebre y linfadenopatía.

### 3. TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Fueron todos aquellos paciente que asistieron a la consulta externa del Hospital Regional de Zacapa con fiebre y linfadenopatía durante el mes de abril de 1998.

### 5. CRITERIOS DE INCLUSION:

- a. Pacientes que asistieron a la consulta externa del Hospital Regional de Zacapa.
- b. Pacientes menores de 10 años.
- c. Pacientes de ambos sexos.
- d. Pacientes que presentaron fiebre y linfadenopatía.
- e. Pacientes residentes en el departamento de Zacapa.

### 5. CRITERIOS DE EXCLUSION:

- a. Pacientes mayores de 10 años.
- b. Pacientes que consultaron por otras patologías.

## 6. VARIABLES:

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Escala de Medición	Unidad de Medida
Edad	Tiempo que una Persona ha vivido Desde su Nacimiento.	Años o meses referidos por la madre.	Intervalos	Años Meses.
Sexo	Constitución orgánica que distingue al hombre de la mujer.	Masculino Femenino	Nominal	Masculino Femenino
Diagnóstico Serológico	Se hace a través del suero buscando anticuerpos	HIA ELISA IFI	Nominal	Positivo Negativo
Estadío Clínico	Las formas en que pueden presentarse la enfermedad.	Aguda	Ordinal	Aguda

Características Epidemiológicas.	Condiciones de las personas en las que se puede desarrollar la enfermedad	Procedencia Conoce el vector. Picadura por el vector. Transfusión de sangre. Condición de la vivienda. Posee animales.	Numérica	Porcentaje.
Enfermedad de Chagas	Infección causada por el protozooario hemoflagelado <u>T. cruzi.</u>	Positiva Negativa	Nominal	Positiva Negativa

## 7. PROCEDIMIENTO PARA RECOLECTAR LA INFORMACION.

Fueron captados todos los pacientes que llegaron a la consulta externa del Hospital Regional de Zacapa con fiebre y linfadenopatía, se les realizó una historia clínica breve, se examinó a los pacientes para detectar fiebre y linfadenopatía. Los pacientes que presentaron dichos signos se les pasó la boleta de recolección de datos.

Los pacientes fueron evaluados de lunes a viernes. Las muestras de sangre se depositaron en frascos estériles, sin

anticoagulante. Luego se separo el suero por centrifugación. Los sueros se congelaron bajo normas de bioseguridad, se congelaron a  $-70^{\circ}$  C hasta el momento de su análisis, Los sueros fueron traídos al Laboratorio Multidisciplinario de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Dicho procedimiento se realizo por cuatro semanas, al tener todas las muestras se procesaron.

## 8. PLAN DE ANALISIS

Con los sueros de todos los pacientes se hizo una prueba de tamizaje (HIA). Considerandose positivo todos los sueros con un titulo de 1:16 o mas. Posteriormente se les hicieron las pruebas ELISA, IFI, para confirmar diagnóstico.

## 9. CONSIDERACIONES ETICAS

Se les explico a los padres el procedimiento y se les pedio su consentimiento para extraer las muestras de sangre.

### a. TECNICA DE HEMAGLUTINACION INDIRECTA

La Hemaglutinación indirecta se hizo con reactivos comerciales de la casa Wiener Lab. (Chagatest-HAI).

Reconstituyente HAI: Solución fisiológica tamponada a PH 7

Antígeno HIA: Liofilizado de glóbulos rojos de carnero sensibilizados con antígenos citoplasmáticos de T. cruzi.

GR no sensibilizados: Suspensión al 1% de eritrocitos de carnero no sensibilizados, para control de heterofilia.

Buffer HIA : Solución fisiológica tamponada con fosfatos a Ph 7.5 con colorante inerte.

Solución Proteica: Solución de albúmina bovina al 10%.

1. Con microgotero de 25ul colocar una gota de Diluyente de Sueros HIA en todos los pocillos a usar de la policubeta.
2. Tomar una alcuata de cada suero a ensayar con microdilutores de 25 ul (uno para cada muestra) y colocar en los pocillos de la columna. Se utilizarán tantas hileras horizontales como sueros deban procesarse.
3. Realizar diluciones a partir de la columna 1 (dilución  $\frac{1}{2}$ ), pasando los microdilutores a la columna 2 (dilución  $\frac{1}{4}$ ) y así sucesivamente hasta la columna 6 (dilución  $\frac{1}{64}$ ).  
Si se procesan más de 8 sueros, se utilizarán las columnas 7 a 12, realizando las diluciones de la manera antes descritas.
4. Colocar en las columnas 1 y 2 (diluciones  $\frac{1}{2}$  y  $\frac{1}{4}$ ) una gota (25ul) de GR no sensibilizados, para control de heterofilia. Hacer lo mismo en la columna 7 y 8 en caso de ser empleadas.
5. En el resto de los pocillos, agregar una gota (25ul) de Antígeno HIA.
6. Agitar la policubeta con los dedos en las paredes laterales, durante 30 segundos por lo menos.
7. Dejar en reposo, al resguardo de vibraciones, durante 90 minutos.
8. A partir de los 90 minutos, leer.

Se puede aumentar la nitidez de la apreciación leyendo sobre un espejo, iluminando la placa desde arriba e interponiendo un papel blanco y traslúcido entre la policubeta y la fuente de luz.

Se considerara positiva toda aquella muestra con un título de anticuerpos arriba de 1:16 detectado por el método de Hemaglutinacion Indirecta (16,18)

#### **b. TECNICA ELISA**

1. Sensibilizar los pozos de la placa con antígeno, de (10 ug/ml), la dilución se hace con buffer carbonato pH 9.6.
2. Dejar en reposo en cámara húmeda por 18 horas, a 4° C.
3. Decantar el contenido de antígeno y lavar los pozos 3 veces con 200 ul c/u de solución de lavado al 5%, dejando 1' c/vez. Decantar la placa en una toalla absorbente.
4. Colocar 100ul. De las muestras de pacientes a la dilución probada ó en diluciones para titular (un pozo por paciente) y los controles conocidos: Positivo y Negativo. Colocar la placa en una cámara húmeda é incubar al tiempo probado ó probar a 37° C ó según la temperatura que se desee.
5. Repetir el paso No. 3.
6. Colocar 100 ul. a c/pozo de conjugado IgG anti Humano fosfatasa alcalina ó IgM (según sea el trabajo) a la dilución indicada, probada ó a diferentes diluciones por probar. Incubar como el paso No 4.
7. Repetir el paso No. 3
8. Colocar 100 ul a c/pozo de sustrato fosfatasa alcalina (1 pastilla de PNP para 5 ml de buffer sustrato). Incubar 30 min. Ó más según el caso, a temperatura ambiente y en la obscuridad.

9. Leer la placa en el lector de ELISA filtro 405 nm.

#### **c. PREPARACION DE ANTIGENOS DE T. CRUZI PARA INMUNOFLUORESCENCIA**

1. Cultivo puro del parásito en medio líquido o di-fasico.
2. Poner 10 cc en un tubo esteril.
3. Observar al microscopio dejar una concentración más o menos entre 10 y 20 parásitos por campo de 25 X.
4. Agregar 2 gotas de formalina.
5. Lavar 3 veces con Pbs 7.4.
6. Colocar 1 gota en cada uno de los pozos del portaobjetos y dejar secar a 37 grados.
7. Congelar a -70 grados C. para conservar.

#### **10. RECURSOS:**

##### **a. HUMANOS**

Médico revisor

Médico asesor

Personal del laboratorio multidisciplinario

Personal bibliotecario

Personal Administrativo del Hospital Regional de Zacapa

Personal de Laboratorio del Hospital Regional de Zacapa.

Personal de Unidad de Tesis, USAC.

##### **b. MATERIALES**

Ficha clínica  
Equipo de laboratorio  
Jeringas  
Algodón y Alcohol  
Hielera  
Camilla  
Papel  
Reactivos para las pruebas.  
Transporte.  
Materiales de escritorio.

**c. ECONOMICOS**

Transporte	Q. 180.00
Estancia en Zacapa	Q. 400.00
Alimentación	Q. 200.00
Utiles de Escritorio	Q. 25.00
Fotocopias	Q. 40.00
Alquiler Internet	Q. 50.00
Tinta para impresora	Q. 40.00
Impresión de Tesis	Q. 1,200.00
Jeringas, algodón y alcohol	Q. 120.00
Reactivos para realizar HIA	Q. 464.00

El Laboratorio Multidisciplinario proporciono los reactivos y materiales para las pruebas de ELISA e IFI.

## VII. PRESENTACION, ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

## CUADRO No. 1

Relación entre el conocimiento del vector y seropositividad en los pacientes febriles menores de 10 años que consultaron al Hospital Regional de Zacapa durante el mes de abril de 1998.

CONOCE EL VECTOR	CASOS POSITIVOS		CASOS NEGATIVOS		TOTAL	
	No.	%	No.	%	No.	%
SI LA CONOCE	8	10%	51	62%	59	72%
NO LA CONOCE	4	5%	19	23%	23	28%
<b>TOTAL</b>	<b>12</b>	<b>15%</b>	<b>70</b>	<b>85%</b>	<b>82</b>	<b>100%</b>

FUENTE: Boletas de recolección de datos.

El cuadro No. 1 nos muestra el conocimiento del vector por la población estudiada. El 72% conoce el vector pero la mayoría desconoce la enfermedad o el mecanismo por el cual causa la infección, por lo que no se toman las medidas adecuadas para el control y prevención de dicha enfermedad. Además el hecho de conocer el vector, indica que la condiciones de vivienda son aptas para la proliferación y que el riesgo de adquirir la infección es grande.

## CUADRO No. 2

Relación entre seropositividad y antecedentes de picadura del vector en pacientes febriles menores de 10 años y que consultaron al Hospital Regional de Zacapa durante el mes de abril de 1998.

PICADOS POR EL VECTOR	CASOS POSITIVOS		CASOS NEGATIVOS		TOTAL	
	No.	%	No.	%	No.	%
SI FUE PICADO	1	1%	1	1%	2	2%
NO FUE PICADO	11	14%	69	84%	80	98%
<b>TOTAL</b>	<b>12</b>	<b>15%</b>	<b>70</b>	<b>85%</b>	<b>82</b>	<b>100%</b>

FUENTE: Boletas de recolección de datos.

En relación a la picadura del vector el 2% respondió que había sido picado por la "chinche", de los cuales un paciente resultó ser positivo para la enfermedad de Chagas, esto nos demuestra lo que refiere la literatura que el vector pica durante el sueño y elimina sus heces con los parásitos al momento de picar, por lo que las personas no perciben la presencia del vector.(1,2,14,17)

## CUADRO No. 3

Relación entre seropositividad y condiciones de la vivienda en pacientes febriles menores de 10 años y que consultaron al Hospital Regional de Zacapa durante el mes de abril de 1998.

TIPO DE VIVIENDA	CASOS POSITIVOS	CASOS NEGATIVOS	TOTAL	
			No.	%
Apropiada para la proliferación del vector	7	38	45	55%
NO apropiada para la proliferación del vector	5	32	37	45%
<b>TOTAL</b>	<b>12</b>	<b>70</b>	<b>82</b>	<b>100%</b>

FUENTE: Boletas de recolección de datos.

La condición de la vivienda juega un papel importante en el habitat del vector, ya que las viviendas con paredes y techos agrietados, mal ventilados y con poca iluminación permiten que esta sea apropiada para la proliferación del vector (2). Se encontró que el 55% tenía una vivienda apropiada para la proliferación del vector, las cuales constituían viviendas con paredes de adobe, barro, paja y bajareque; con techo de teja, paja, palma y lamina. Y se tomó como

viviendas no apropiadas para la proliferación del vector aquellas con paredes de block sin grietas, ventiladas, con techo de terraza o lamina, y sin agujeros entre la pared y el techo.

Cabe destacar que aunque no hay diferencia entre las viviendas apropiadas para la proliferación del vector, de los casos positivos y negativos, es debido a que no todos los vectores estan infectados, pero existe el riesgo de adquirir la enfermedad.

#### CUADRO No. 4

Relación entre seropositividad y la presencia de animales domésticos en pacientes febriles menores de 10 años y que consultaron al Hospital Regional de Zacapa durante el mes de abril de 1998.

POSEEN ANIMALES	CASOS POSITIVOS	CASOS NEGATIVOS	TOTAL	
			No.	%
Si poseen animales	10	55	65	79%
No poseen animales	2	15	17	21%
<b>TOTAL</b>	<b>12</b>	<b>70</b>	<b>82</b>	<b>100%</b>

FUENTE: Boletas de recolección de datos.

De los casos positivos 10 poseen animales domésticos y junto con los casos negativos hacen un total de 79%. La presencia de animales domésticos es otro factor importante para que se produzca la infección ya que el vector se alimenta tanto del hombre como de los animales domésticos y estos viven en las mismas habitaciones (1,2,11), además algunos animales mamíferos juegan el papel de reservorios de la enfermedad. Dentro de los animales más importantes que poseen los pacientes, se incluyen el perro, el gato y las gallinas.

## CUADRO No. 5

Relación entre la sintomatología y la enfermedad de Chagas en los 82 pacientes menores de 10 años que consultaron al Hospital Regional de Zacapa durante el mes de abril de 1998.

SINTOMATOLOGIA	CASOS POSITIVOS	CASOS NEGATIVOS	TOTAL	
			No.	%
Relacionada con la enfermedad	12	45	57	70%
NO Relacionada con la enfermedad	0	25	25	30%
<b>TOTAL</b>	<b>12</b>	<b>70</b>	<b>82</b>	<b>100%</b>

FUENTE: Boletas de recolección de datos.

El cuadro No. 5 explica la relación de la sintomatología con la enfermedad de Chagas y se encontró que de los 12 casos positivos todos tenían relación entre la sintomatología y la enfermedad. Lo que nos demuestra la importancia de investigar a todos los pacientes que presenten signos y síntomas relacionados con la enfermedad de Chagas, y de realizar pruebas serológicas para hacer diagnóstico y tratarla.

Respecto a los 45 niños negativos que presentan síntomas similares a la enfermedad de Chagas aguda, probablemente algunos sean seronegativos debido a la inmunodepresión que se desarrolla en esta etapa, en donde los métodos parasitológicos como los hemocultivos son más sensibles, sin embargo la dificultad en la toma de la muestra para este tipo de estudio dificulta el empleo de esta técnica, además podrían estar infectados por algún otro parásito como Toxoplasma gondii que puede presentar sintomatología similar.

## CUADRO No. 6

Relación entre seropositividad y manifestaciones clínicas en 82 pacientes menores de 10 años y que consultaron al Hospital Regional de Zacapa durante el mes de abril de 1998.

MANIFESTACIONES CLINICAS	CASOS POSITIVOS	CASOS NEGATIVOS	TOTAL	
			No.	%
Fiebre	12	70	82	100%
Adenopatía	Cervical	70	82	100%
	Submaxilar	5	34	44%
	Inguinal	1	9	11%
Hepatomegalia	1	3	4	5%
Esplenomegalia	0	0	0	0%
Exantema	1	0	1	1%

FUENTE: Boletas de recolección de datos.

Las manifestaciones clínicas de los casos en estudio fueron fiebre que se presentó en el 100% de los pacientes, así como adenopatía la cual podía presentarse en diferentes regiones, cervical, submaxilar, inguinal y retroauricular, también se encontró hepatomegalia en uno de los casos positivos y en 3 de los casos que

fueron negativos. Otro signo característico de la enfermedad de Chagas, es el exantema el cual se presentó en 1 paciente positivo para las pruebas serológicas. Todas estas manifestaciones son las que frecuentemente se describen como características de presentación de la enfermedad de Chagas en la fase aguda. (17)

Los pacientes serologicamente negativos presentan también síntomas y signos similares a los de infección aguda por T. cruzi, por lo que es necesario investigar otras enfermedades infecciosas.

### CUADRO No. 7

Relación entre 12 pacientes positivos para HIA y las pruebas serológicas de ELISA IgG e IgM en el Hospital Regional de Zacapa durante el mes de abril de 1998.

PACIENTES	HIA	ELISA IgG	ELISA IgM
Paciente No. 2	+ (1:32)	+	-
Paciente No. 9	+ (1:32)	+	-
Paciente No. 10	+ (1:64)	+	+
Paciente No. 18	+ (1:16)	+	-
Paciente No. 31	+ (1:16)	-	+
Paciente No. 39	+ (1:16)	+	+
Paciente No. 42	+ (1:32)	+	-
Paciente No. 45	+ (1:64)	+	+
Paciente No. 66	+ (1:32)	+	-
Paciente No. 79	+ (1:16)	-	+
Paciente No. 80	+ (1:16)	+	+
Paciente No. 81	+ (1:32)	+	+

FUENTE: Boletas de recolección de datos.

### CUADRO No. 8

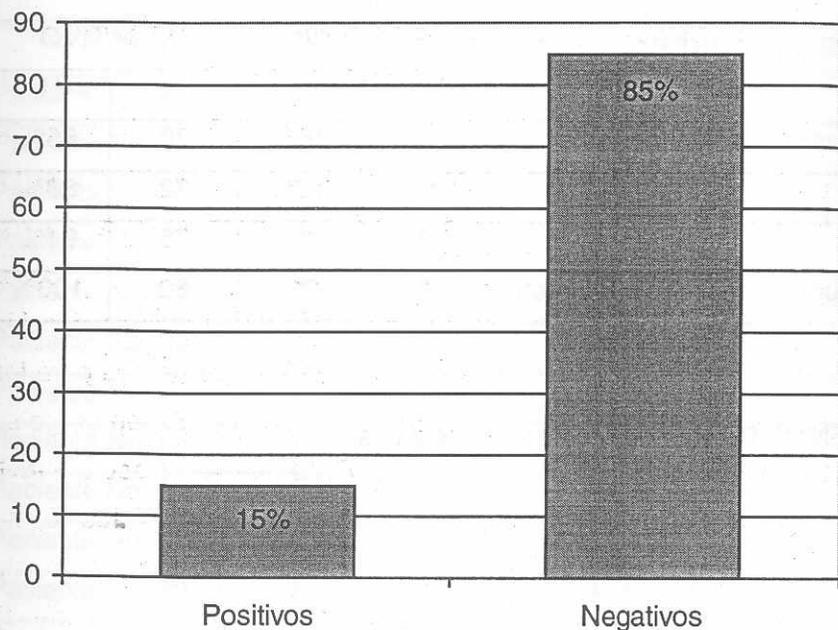
Resultado de las pruebas serológicas de 82 pacientes menores de 10 años que consultaron al Hospital Regional de Zacapa durante el mes de abril de 1998.

PRUEBA SEROLOGICA		POSITIVO		NEGATIVO	
		No.	%	No.	%
Hemaglutinación Indirecta		12	15%	70	85%
ELISA	IgG	10	12%	72	88%
	IgM	7	9%	75	91%
Inmunofluorescencia Indirecta		0	0%	82	100%

FUENTE: Boletas de recolección de datos.

### CUADRO No. 9

Porcentaje de positividad para Enfermedad de Chagas en 82 pacientes febriles menores de 10 años que consultaron al Hospital Regional de Zacapa durante el mes de abril de 1998.



FUENTE: Boletas de recolección de datos.

### ANALISIS CUADROS 7, 8 y 9:

Durante la fase aguda la enfermedad de Chagas puede pasar desapercibida a menos que se hagan pruebas para detectar al paciente infectado. Se han utilizado métodos parasitológicos los cuales son de alta especificidad pero en nuestro medio no se tiene equipo y personal especializado para realizar estas pruebas, por lo que se utilizan métodos serológicos en este caso HIA, ELISA IgG, IgM e IFI como una buena alternativa diagnóstica. (2,16,17)

La hemaglutinación indirecta se uso como prueba de tamizaje en los 82 pacientes, se considero positiva toda aquella muestra con un título de anticuerpos arriba de 1:16 en este caso el 15% de los pacientes fueron positivos, en esta etapa aguda de la enfermedad, los pacientes demuestran severa inmunosupresión y una baja producción de interleukina 2 por los linfocitos T por lo que los anticuerpos para los parásitos u otros antígenos no pueden ser detectados. Sin embargo se induce una masiva producción de células B, por lo que se secreta IgG. (9,11,13). La IgM se presenta en casi todas las células B no restringidas, la cual es producida con rapidez como respuesta inmunológica primaria, aparece días o semanas despues de la exposicion al antígeno, por lo tanto sugiere exposición reciente en la mayoría de los casos. (6,16)

Por esta razón se utilizaron las pruebas para confirmar el diagnóstico, que en este caso fueron ELISA IgG e IgM. Además de realizar IFI.

Para ELISA IgG se encontró un 12% de pacientes positivos, para IgM un 9% de seropositividad y para IFI no se registró positividad.

Según recomendaciones de la OMS deben de emplearse dos pruebas conjuntas para hacer diagnóstico. De los 12 sueros positivos en la prueba de tamizaje HIA, 10 de los casos fueron confirmados por la técnica ELISA IgG y con la prueba ELISA IgM se confirmaron 2 casos positivos, además otros 5 casos que ya habían sido positivos para HIA y ELISA IgG. (cuadro No. 9)

Encontrándose un 15% de positividad para el estudio.

## VIII. CONCLUSIONES

1. La infección de T. cruzi tiene una alta incidencia en los niños que consultaron al Hospital Regional de Zacapa por lo que el diagnóstico de la infección aguda puede establecerse detectando anticuerpos específicos anti T. cruzi.
2. El diagnóstico de la enfermedad de Chagas aguda puede establecerse por los métodos serológicos HIA y ELISA IgG e IgM.
3. Las condiciones de la vivienda y la presencia de animales domésticos son un factor predisponente de gran importancia para la transmisión de la enfermedad de Chagas.
4. En la población estudiada se encontró relación entre la sintomatología y la etapa aguda de la enfermedad de Chagas.

## IX. RECOMENDACIONES

1. Continuar con estudios a los casos positivos detectados y dar tratamiento medico.
2. Dar seguimiento serológico a los casos diagnosticados.
3. Desarrollar medidas de prevención y control de la enfermedad de Chagas.
4. Iniciar programas de educación a la población para que se conozca le enfermedad, los síntomas, las formas de transmisión.
5. Iniciar con el tratamiento de los casos detectados en el menor tiempo posible.
6. Iniciar programas de educación a fin de que la población se percate de que esta enfermedad afecta tanto a niños como personas adultas.
7. Coordinar conjuntamente con el ministerio de salud, la inspección de las viviendas para determinar la presencia del vector y su eliminación.

## X. RESUMEN

En el presente estudio se investigó la incidencia de T. cruzi en niños menores de 10 años con fiebre y linfadenopatía que consultaron al Hospital Regional de Zacapa. Se analizaron 82 muestras a las cuales se les realizaron las pruebas serológicas de HIA, ELISA e IFI. A los 82 pacientes se les pasó una boleta epidemiológica para evaluar conocimientos sobre el vector, condiciones de la vivienda y relación entre las manifestaciones clínicas y la enfermedad.

El estudio demostró que el 72% conoce el vector aunque desconoce la enfermedad. Se encontró que el 55% posee viviendas apropiadas para la proliferación del vector y el 79% poseen animales domésticos. Se encontró una relación de 70% entre la sintomatología y la enfermedad de Chagas, de los cuales el 15% tenían serología positiva.

En este estudio se detectó el 15% de positividad para las pruebas de HIA y ELISA IgG e IgM. Estos resultados ponen en alerta para que se realicen más estudios en niños en áreas endémicas y poder dar tratamiento y controlar la enfermedad.

## XII. BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar F. PARASITOLOGIA DE AGUILAR; *Tripanosoma cruzi*. 3ª. Edición. Guatemala 1991. Pag 245-261.
2. Atias, Antonio, PARASITOLOGIA CLINICA; Enfermedad de Chagas; 3ª. Edición. Santiago de Chile 1991. Pag. 84-85, 255-267.
3. A De Munyck; JOURNAL OF TROPICAL PEDIATRICS; Predictive Value of Specific Sign and Symptomas for the Diagnosis of Acute Chagas' Disiase in Children. Volumen 32. Octubre 1986. Pag 230-233.
4. Behrman, Richard E.; TRATADO DE PEDIATRIA DE NELSON; *Tripanosomiasis Americana*. Volumen II. 14ª. Edición Editioial Interamericana, Mexico D.F. Pag 1073-1088.
5. Behar Alberto. Y col. CUADERNOS MEDICOS SOCIALES; Estado Actual de la Enfermedade de Chagas en Poblacion de Area Endemica. No. 71. Universidad Fransisco Marroquin. Julio 1995. Pag 69-70.
6. De Jawetz, Meinick y Adelbera. MICROBIOLOGIA MEDICA: *Trypanosoma*. 14ª. Edición. Editorial el Manual Moderno, Mexico D.F. 1992. Pag 367 y 383.
7. Freld R. Opperdoes. PARASITOLOGIA COUSRSE Biol. 2272; *Trypanosomiasis American or Chagas' Disease*. International Institute of Cellular and Molecular Pathology. Uneversité Catholique de Louvaim. Avenue Hippocrate 74-75 Brussels, Belgium. INTERNET.

8. Gilberto Ascencio. Alemán, RELEVANCE OF ANTIBODIES TO TRYPANOSOMA CRUZI; Kirt, Sstockholm, Sweden. 1992.
9. JICA, Varios autores. ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS; Conferencia de proyecto para la Investigacion de enfermedades Tropicales. Editor Dr. Yuichiro Tabaru. Informe No. 3 1994.
10. Jimenez Cardoso, Enedina. REVISTA DE INFECCIONES PEDIATRICAS No 3; Prevalencia de Infeccion por T. cruzi en niños asintomaticos. Volumen 8. Mexico D.F. Julio - septiembre 1995. Pag 2-7.
11. K. Petro and H, Elsen. PARASITOLOGY TODAY; Chagas Disease A model por the study of Inmune Disease. Volumne 5. No. 4. Columbia Steet Seattle USA. 1989. Pag 112-115
12. Matta, Rios Vivian L. TRANSMICION CONGENITA EVOLUCION FISIOFATOLOGICA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN CHIQUIMULA. Cuadernos de Investigacion. USAC 1997 Pag 2-10
13. Monrroy Carlota. SEROLOGY IN CHAGAS DISEASE A COMPARATIVE STUDY IN HUMAN AND EXPERIMENTAL INFECTIONS; The parasite. The karolinska International Reseach Traing Program Kirt. Stockholm Sweden 1990.
14. Peter Georges M, D.colb. REDBOOK; Enfermedades Infecciosas en Pediatría. 22ª. Edición Editorial Panamericana. 1992. pag. 420-422.
15. Robbins, Contra, Kumar. PATOLOGIA FUNCIONAL Y ESTRUCTURAL; Enfermedad de Chagas Volumen I, 4ª Edición, Editorial Interamericana de España. España 1990. Paginas 431-434.
16. Stites Daniel P. INMUNOLOGIA BASICA Y CLINICA: Aglutinacion. 7ª. Edición. Editorial El Manual Moderno, Mexico D. F. 1991. Pag 280-281.
17. Velez, Hernan A. FUNDAMENTOS DE MEDICINA ENFERMEDADES INFECCIOSAS; Tripanosomiasis. 4ª. Edición. Corporacion para Investigaciones Biologicas. Medellin Colombia 1994. Pag. 217-221.
18. Villagran Carmen. ENSAYO INMUNOENZIMATICO DE CHAGAS CONGENITO TB Y CISTICERCOSIS; Infeccion por T, cruzi en Embarazadas y Recien Nacidos de los hospitales de Area Endemica. Cuadernos de Investigacion. USAC. No. 5-90. Pag. 97.
19. Wyngaarden, J. Y Smith L. TRATADO DE MEDICINA INTERNA DE CECIL; Enfermedad de Chagas Aguda. Volumen II. 18ª. Edición. Editorial Inteamericana, Mexico D.F. 1991. Pag. 2058 y 2068.