

PID 10043

Estudio comparativo del tiempo de tránsito intestinal con marcadores radiopacos en pacientes seropositivos y seronegativos para la enfermedad de Chaga

Arca, Manuel*; Sañudo, Juan Antonio**; Parra, Eduardo***, Oliva, Martín***, Díaz Vélez, Lucio***; García Pinasco, Oscar***; Arca, Manuel (h)*; Arca, Francisco****; Viera, M. Noelia***; Jourdan, Romina; Enriquez, Rosa; Giqueaux, Carolina; Fernández, Evangelina; Olivo, Jorge

AUTORES: *Cátedra de Bioquímica, **Cátedra de Clínica Quirúrgica, ****Cátedra de Biofísica, Facultad de Ciencias de la Salud, UNER. Concepción del Uruguay (Argentina). ***Hospital J. J. de Urquiza. Concepción del Uruguay (Argentina)

CONTACTO: manuelalbertoarca@yahoo.com.ar, noe_saeki@hotmail.com, rocac@fcs.uner.edu.ar

Resumen

La enfermedad de Chagas afecta el sistema digestivo en un 10 a 15% de los casos. En el período crónico, dentro de los megasíndromes digestivos, el megacolon es más frecuente en Argentina. Este estudio intentó determinar el tiempo de tránsito colorrectal en pacientes seropositivos y seronegativos para la enfermedad de Chagas y así efectuar una comparación entre los mismos y evaluar si existen diferencias significativas. Fueron incluidos pacientes seropositivos y seronegativos para la Enfermedad de Chagas, a los cuales se les realizó examen físico, electrocardiograma, ecocardiograma, RX de tórax y extracción de sangre para realizar diagnóstico serológico actual con Hemaglutinación indirecta, ELISA e Inmunofluorescencia. Para la determinación del tiempo de tránsito colónico se emplearon 24 marcadores radiopacos Sitzmarks administrados y al 5to. día se realizó RX simple de abdomen de pie. Se consideró anormal al encontrarse 5 o más radiomarcadores en la RX.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, Tránsito intestinal, Tránsito colorrectal, Marcadores radiopacos

Comparative study of intestinal transit time in seropositive and seronegative patients for Chagas disease by using radiopaque markers

Abstract

Chagas disease affects the digestive system in a 10 to 15% of cases. In the chronic phase, within the digestive mega syndroms, the megacolon is more common in Argentina. This study attempted to determine the colorectal transit time of patients seropositive and seronegative for Chagas disease and thus a comparison between them in order to assess whether there are significant differences. Seropositive and seronegative for Chagas disease patients were included, in which patients underwent physical examination, electrocardiogram, echocardiogram, CXR (chest x-rays) and blood collection for current serological diagnosis with indirect hemagglutination, ELISA and immunofluorescence. 24 Sitzmarks radiopaque markers were administered for the determination of colonic transit time and at the 5th day plain standing abdominal x-rays were performed. It was considered to be abnormal 5 + radiotracers in the x-rays.

Key words: Chagas disease, intestinal transit, colorectal transit, radiopaque markers

1. Introducción

La enfermedad de Chagas es una enfermedad potencialmente mortal producida por *Trypanosoma cruzi*, un parásito que en nuestro medio se transmite principalmente a través de las heces del insecto hematófago *Triatoma infestans*, conocido popularmente como “vinchuca”.

Según la OMS, el Chagas es la enfermedad tropical más frecuente de América Latina, donde se estiman 8 millones de infectados, con una incidencia anual de 40 mil casos de transmisión vectorial y 12 mil decesos anuales. En Argentina se estiman entre 1,5 y 2 millones de infectados de los cuales 300 mil presentarían cardiopatías y 7,3 millones de individuos viven con riesgo de infección, con mayor prevalencia en las provincias del norte del país. Anualmente nacen 1.300 niños con Chagas congénito y fallecen alrededor de 1.200 personas a causa de esta enfermedad.

Nuestro país es considerado endémico debido a que se encuentran triatóminos domésticos infectados con *Tripanosoma cruzi*. En el año 2012 y en el marco de la semana de conmemoración del 50° aniversario de la vigencia del Plan Nacional de Chagas, Entre Ríos recibió la recertificación de la interrupción de la transmisión vectorial y transfusional de Chagas, status alcanzado que representa un logro en el control de la enfermedad que fuera otorgado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS). La recertificación implica que en los últimos cinco años no se han encontrado triatóminos infectados con *T. cruzi* ni se han reportado casos de infección aguda, y tampoco se han registrado casos de transmisión por vía transfusional de la enfermedad.

El estudio de la Enfermedad de Chagas en el Hospital J. J. de Urquiza tuvo sus orígenes en el año 1978. En esa época los insectos remitidos principalmente desde zonas rurales al Laboratorio del Hospital eran caracterizados con el fin de identificar triatomíneos, y también eran realizados estudios serológicos elementales.

Ante la necesidad de contar con un centro que coordinara el estudio de la enfermedad se creó el Laboratorio de Referencia para la Enfermedad de Chagas en junio de 1980, que cubría la demanda de los de los Departamentos Colón, Concordia, Gualeguaychú, Gualeguay, Tala y Feliciano. En dicho año se formó el recurso humano Bioquímico en el Instituto Nacional de Diagnóstico e Investigación de la Enfermedad de Chagas “Dr. Mario Fatała Chaben” para el montaje de técnicas de mayor complejidad caracterizadas por una mayor sensibilidad y especificidad. Esto permitió implementar técnicas de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), Hemaglutinación Indirecta (HAI) con GR sensibilizados por el bioquímico, e incorporar métodos directos para detectar infección aguda: Strout, Microhematocrito y Gota fresca. A partir de entonces se comenzó a estudiar en forma sistemática tanto al vector como a los pacientes y sus familiares. Como resultado de un estudio de 2.145 triatomíneos realizado en el Servicio, se encontró que la casi totalidad (99,45%) correspondieron a *Triatoma infestans*, los cuales estaban infectados con *T. cruzi* en una proporción del 7,2%. En esa misma época se incorporó rutinariamente la investigación de Chagas en Banco de Sangre, con este fin se capacitó a Médicos, Bioquímicos, Técnicos en Laboratorio, Técnicos en Electrocardiografía, etc.

En el año 1981 se realizaron dos cursos sobre Enfermedad de Chagas para Argentina y países limítrofes, donde se premiaron a los dos mejores trabajos que presentaron, con un subsidio del Banco Interamericano de Desarrollo para apoyo en el establecimiento de un Laboratorio para estudio de la Enfermedad de Chagas. Uno de los ganadores fue el Bioquímico de nuestro Hospital y de esta manera se incorporó al Laboratorio de Chagas un microscopio de epifluorescencia de última generación para la época, pipetas automáticas, un electrocardiógrafo bicanal, estufas y otros recursos que aún se encuentran en funcionamiento. La Subsecretaría de Salud Pública de la Provincia de Entre Ríos completó el equipamiento mediante la provisión de un lector para Elisa, centrifugas, microscopio de contraste de fases y campo oscuro, espectrofotómetros y baños termostáticos.

Con el correr de los años el Laboratorio comenzó a participar en programas de Control de Calidad externos organizados por el Instituto “Fatała Chaben”, requisito obligatorio para pertenecer a la Red

de Laboratorios de Referencia en Enfermedad de Chagas. El servicio definió y sostuvo como su política de funcionamiento la aplicación de las técnicas de diagnóstico de vanguardia disponibles, y en la actualidad se puede destacar la realización de HAI con dos tipos de antígenos lisados distintos, Elisa con dos tipos de antígenos lisados, Elisa recombinante con antígenos citoplasmáticos y de membrana, Inmunofluorescencia, Gota gruesa, Gota fresca, Strout, Microhematocrito, y la posibilidad de derivar muestras para PCR a la Universidad Nacional de La Plata.

Los esfuerzos dedicados a combatir y erradicar el vector y a fortalecer la detección de la enfermedad resultaron en una disminución de la seroprevalencia del mal de Chagas desde el año 1978 en adelante. Según resultados publicados con anterioridad por este mismo Servicio en el Departamento Uruguay hubo un marcado descenso desde valores de 6.3% en 1978 hasta 1.9% en el 1995. En ese período se compararon datos de distintos Departamentos llegando a la conclusión que el valor promedio más bajo correspondió al nuestro (3,1%), seguido por Concordia con 3,4%. Detrás se ubicaron Gualeguaychú 5,3 %, Tala y Gualeguay con 6% y por último Feliciano e Islas del Ibicuy. Debido a trabajos destinados a la eliminación del Vector, control serológico en Banco de Sangre, control de embarazadas y estudio de los RN de madres chagásicas, la seroprevalencia fue disminuyendo hasta alcanzar un valor de 1.24% en el año 1996 con más de 80.000 sueros estudiados. Resultados similares fueron reportados desde el Banco de Sangre del Hospital.

Los individuos que van a desarrollar la enfermedad la expresan entre 15 y 30 años después de la entrada del parásito al organismo, los trastornos del tubo digestivo se producirán por degeneración visceral parasimpática dejando en consecuencia cuadros de megaesófago y megacolon.

Algunos describen anomalías en la función esofágica de todos los pacientes chagásicos en etapa indeterminada. Rezende señala el hallazgo de disperistalsis a nivel del colon que podría condicionar constipación.

La disfunción del SNA (Sistema nervioso Autónomo) se presenta en el 30% de los pacientes chagásicos crónicos. La principal característica de la enfermedad de Chagas es la desnutrición neuronal provocada por el parásito, que afecta tanto al sistema nervioso central como al periférico.

Los pacientes chagásicos que se encuentran en fase crónica pueden presentar alteraciones principalmente en el esófago y/o en el colon sigmoide y recto. En un número apreciable de estos pacientes se encuentran asociadas las dilataciones de estos órganos, y también pueden asociarse a cardiopatías.

El impacto de la enfermedad de Chagas en el tracto digestivo es considerada como muy importante en grandes extensiones del área endémica de la enfermedad. Fritz Koberle, demostró que es la denervación intramural de los plexos del sistema nervioso mioentérico, específicamente los parasimpáticos es el fenómeno básico de la afectación digestiva. Esta denervación es más intensa en la fase aguda, ocurriendo de manera sistemática y universal, en conexión con lesiones inflamatorias en la proximidad con los plexos afectados.

Esta denervación neurovegetativa periférica fue comprobada por medio del conteo de número de neuronas en el tubo digestivo, tanto en pacientes como en modelos experimentales.

Si bien existe dilatación solo en la porción proximal y terminal del tubo digestivo, se ha comprobado denervación en grados variables en todo su trayecto. En países como Brasil y otros, el compromiso de esófago es más frecuente; en cambio tanto en el nuestro como Chile, la afectación del colon es más importante.

En realidad, como han demostrado algunos autores, las megaformaciones, cuando se las busca de manera apropiada, existen tanto en Chile como en Argentina, y no solamente en Brasil.

En regiones endémicas de Argentina, el megacolon parece ser más frecuente que el megaesófago. Lo mismo ocurre en el Departamento Artigas, en la República Oriental del Uruguay.

La colopatía chagásica es una afección bastante frecuente, que sigue en importancia a la cardiopatía y esofagopatía. Afecta preferentemente al sigmoide y el recto, aunque puede afectar todo el intestino

grueso. La asociación con megaesófago es muy frecuente. Se manifiesta tardíamente en relación al megaesófago, siendo más frecuente después de los 30 años de edad. Otro aspecto importante es que suele manifestarse inicialmente con sus complicaciones, o sea, el vólvulo de sigmoide y el fecaloma. Hay alteraciones manométricas de la motilidad, así como hiperreactividad a los colinérgicos.

Parece estar demostrado que el segmento responsable de la dilatación del sigmoides es el recto y que tanto la incoordinación motora rectosigmoidea como la acalasia del esfínter interno del ano son elementos importantes entre las alteraciones motoras, que son consecuencia de la denervación intrínseca causada por la enfermedad.

La enfermedad de Chagas en el tracto digestivo, aunque no sea tan importante desde el punto de vista médico-social, provoca gran sufrimiento a los afectados, resultando en desnutrición para los casos de megaesófago avanzado, así como muerte en los pacientes con megacolon, por la ocurrencia frecuente de vólvulos. Hay variaciones regionales en cuanto a la asociación de compromiso digestivo con la cardiopatía chagásica, en proporciones que van desde el 20 al 60%. El diagnóstico de la enfermedad de Chagas en el aparato digestivo en sus etapas iniciales es de gran importancia para adoptar el manejo adecuado del paciente.

Existen formas leves de disfunción digestiva en gran porcentaje de los pacientes que no muestran patología manifiesta en los estudios del aparato digestivo.

La muestra de los individuos estudiados en este trabajo comprende a pacientes seropositivos y seronegativos, resultantes de aplicar los ensayos de Hemoaglutinación Indirecta (HAI) e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) en el laboratorio Regional de Chagas y Zoonosis del Hospital Justo José de Urquiza desde 1978 hasta 1985 inclusive.

2. Hipótesis

No está estudiada en nuestro medio la comparación del tránsito colorrectal en individuos sanos con enfermos chagásicos crónicos.

Existe una asociación entre el tránsito colorrectal y la enfermedad crónica de Chagas que diferencia a individuos sanos de pacientes infectados.

3. Justificación

Los argumentos que justifican la realización del estudio comparativo entre voluntarios sanos y enfermos chagásicos crónicos son los siguientes:

1. La enfermedad de Chagas es un importante problema de salud.
2. La historia natural de la enfermedad es bien conocida.
3. Puede ser detectable en un estadio temprano.
4. El tratamiento en un estadio temprano es más beneficioso que en un estadio tardío.
5. El tamizaje con las pruebas a aplicar es apto para la detección temprana.
6. Los tests a aplicar son todos aceptables.
7. Los intervalos para repetir los tests están bien determinados.
8. Hay adecuados sistemas de salud en el medio que pueden satisfacer la demanda clínica que resultaría del estudio.
9. Los riesgos son menores que los beneficios.
10. Existe un equilibrio entre costo-beneficio.
11. Evitar complicaciones de vólvulo, perforación, obstrucción de colon.

4. Objetivos

a. De investigación:

- Determinar el tiempo de tránsito colorrectal en pacientes seropositivos y seronegativos para la enfermedad de Chagas y así efectuar una comparación entre los mismos y evaluar si existen diferencias significativas.

- Estudiar la función cardíaca, mediante ECG, ECO DOPLER, RX.

b. De extensión:

- Contribuir a disminuir la morbimortalidad en la población del Departamento Uruguay, provincia de Entre Ríos, a través del diagnóstico de alteraciones del tránsito colorrectal., y la patología cardíaca.

Generales:

- Difundir las medidas sanitarias y recomendaciones tendientes a prevenir la enfermedad de Chagas.

- Contribuir a disminuir la morbimortalidad en la población del Departamento Uruguay, provincia de Entre Ríos.

Específicos:

1. Determinar la frecuencia de los diferentes patrones de tiempo de tránsito colorrectal total y segmentario con marcadores radiopacos en pacientes seronegativos del Departamento Uruguay, provincia de entre Ríos, evaluados por el Servicio de Chagas y Zoonosis del Hospital J. J. de Urquiza.
2. Determinar la frecuencia de los diferentes patrones de tiempo de tránsito colorrectal total y segmentario con marcadores radiopacos en pacientes seropositivos del Departamento Uruguay, provincia de entre Ríos, evaluados por el Servicio de Chagas y Zoonosis del Hospital J. J. de Urquiza.
3. Comparar estadísticamente los resultados encontrados entre seronegativos y seropositivos.

5. Marco teórico y antecedentes del tema

La tripanosomiasis americana, conocida como enfermedad de Chagas fue descrita en Minas Gerais, Brasil, en 1909, por Carlos Ribeiro Justiniano Chagas (1).

La enfermedad de Chagas es una zoonosis vectorial de carácter crónico en hospederos inmunocompetentes, y oportunista en inmunocomprometidos. Dado su evolución, esta enfermedad cursa hacia la cronicidad en personas inmunocompetentes pasando por tres etapas: aguda, latente y crónica, pudiendo causar la muerte en diferentes etapas de la infección. Diez a 15% de los enfermos presentan discapacidad como consecuencia de los daños cardíacos o digestivos.

Actualmente, ocupa el cuarto lugar de importancia como carga de enfermedad (AVAD) en las Américas, después de las enfermedades respiratorias, las diarreas y el SIDA. Dado que no existe una vacuna eficaz para prevenir la enfermedad, las estrategias de control están focalizadas a disminuir la transmisión, principalmente vectorial, por tratarse de la forma de transmisión más importante.

Actualmente, la infección se encuentra en forma natural en el continente americano, desde el sur de California paralelo 43 latitud norte, hasta Latinoamérica, región central de Argentina paralelo 49 de latitud sur, zona donde habita el vector biológico. Afecta a 17 países, con no menos de 12 millones de personas infectadas, procedentes de las áreas urbanas y peri-urbanas.

Mecanismos de transmisión: Vectorial, Transplacentario, Transfusional, Trasplante de órganos, Accidentes de laboratorio, Transmisión oral (por alimentos contaminados con el parásito), Jeringas de uso en drogadictos.

6. Estudios del vector

Características taxonómicas

Reino: Animal

Tipo: Artrópodos (son articulados con exoesqueleto quitinoso)

S/tipo: Traqueados

Clase: Insectos (tres pares de patas y dos pares de alas)

Orden: Hemíptera – El par de alas se divide en dos porciones: una quitinizada y otra membranosa (Hemíélitro que forma una x perfecta); otra característica importante es que tienen pico (aparato chupador compuesto por 4 estiletes que a medida que chupan sangre en el caso de los Hematófagos, segregan saliva como anticoagulante).

Hemípteros: se dividen según si hábito alimentario en Fitófagos, Entomófagos y Hematófagos.

Fitófagos: son la mayoría de los Hemípteros, están muy difundidos. Se alimentan de vegetales; tiene pico recto dividido en 4 segmentos largos, generalmente su largo total supera en mucho el largo de la cabeza.

Entomófagos: se alimentan de hemolinfa de insectos, no son dañinas para el hombre, pero cuando son atacadas, se defienden produciendo una picadura muy dolorosa. Tienen pico curvo, corto, aproximadamente del largo de la cabeza, trisegmentado y grueso. Se los llama comúnmente predadores.

Hematófagos: son la mayoría dentro de los Hemípteros. Se alimentan de sangre, en casos extremos pueden practicar canibalismo o coprofagia. Tienen pico mixto, es decir, parte curvo y parte recto; es fino y trisegmentado; su largo es aproximadamente igual al de la cabeza.

Familia: Reduviidae

Cabeza libre, no insertada en el tórax; con conexivo, las alas tienen nervaduras que forman largas células longitudinales. Pronoto dividido en anterior y posterior.

Subfamilia: Triatominae

Son Hematófagos. Se alimentan solo de sangre de vertebrados para completar su ciclo.

Géneros: Triatoma. Pastrongylus. Rhodnius. Psamolestes.

Estos son los géneros más comunes como vectores de la Enfermedad de Chagas en nuestro país. Se diferencian por la forma de la cabeza, implantación de las antenas y ojos.

Especie: se han descrito hasta la fecha alrededor de 120 especies de Triatominos correspondientes a los 4 géneros enunciados, la gran mayoría pertenecen a Triatomas dentro de ellos predominan los de hábitos silvestres que son de bajo riesgo de transmisión de Trypanosoma cruzi al hombre.

En nuestra zona de Entre Ríos tenemos las siguientes especies: Triatoma infestans, Triatoma rubrovaria, Triatoma platensis. Siendo el Triatoma Infestans el 99% de la población estudiada. Por lo tanto dedicaremos nuestro esfuerzo en la caracterización del mismo.

Organización externa del Triatoma Infestans

Caracterización: Está compuesto por 3 regiones: cabeza – tórax – abdomen.

La cabeza es cilíndrica, los ojos compuestos y ocelos están implantados en la parte posterior, los tubérculos anteníferos nacen de la parte media de la cabeza y el pico o rostro se implanta en el extremo anterior, su longitud es similar a la de la cabeza, es trisegmentado mixto, a cada segmento de lo denomina artejo, el primer artejo es curvo y corto, el segundo artejo es recto y es el más largo, el tercer artejo es recto y corto. Visto globalmente el pico se ve recto plegado por debajo de la cabeza.

Otras características que ayudan a diferenciar el *Triatoma infestans* es que el pronoto es negro al igual que el escutelo y generalmente el tejido conéxico que forma su borde externo es de color negro con manchas amarillas.

La base de las patas tiene una zona clara donde se implanta el fémur en la zona de la coxa y trocánter, que resalta del color negro de las patas.

En la forma adulta mide 2,5 a 3 centímetros de largo, pero todos los estadios de crecimiento son potencialmente transmisores, siendo los tres últimos estadios en los que se alimentan más frecuentemente para poder mudar y alcanzar el estado adulto.

7. Estudios de la vivienda

Relación entre la vivienda y la infestación por el vector

En el siguiente cuadro podemos comprobar la relación del tipo de vivienda con la infestación por vinchucas domiciliarias, dado la calidad del material utilizado en su construcción tiene influencias en la densidad de la población de las vinchucas. Además, la infestación es mayor cuando la vivienda es más precaria.

Tipo de viviendas por regiones de nuestro país: se puede observar que en las zonas del Noroeste y Nordeste es donde se encuentra el mayor porcentaje de viviendas precarias, coincidiendo con los mayores índices de infestación y con las zonas de mayor prevalencia de enfermos chagásicos.

TABLA 1. Viviendas deficitarias según región. Año 2010

Región	Viviendas deficitarias ⁽¹⁾ %
Total del país	16,4
Cuyo ⁽²⁾	13,3
Metropolitana ⁽³⁾	13,6
Nordeste ⁽⁴⁾	38,0
Noroeste ⁽⁵⁾	31,1
Pampeana ⁽⁶⁾	11,2
Patagónica ⁽⁷⁾	12,4

1. Incluye casas tipo B y a las viviendas precarias

2. Mendoza, San Juan y San Luis

3. Ciudad autónoma de Buenos Aires y 24 partidos del Gran Buenos Aires

4. Chaco, Corrientes, Formosa y Misiones

5. Catamarca, Jujuy, La Rioja, Salta, Santiago del Estero y Tucumán

6. Interior de la provincia de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos, La Pampa y Santa Fe.

7. Chubut, Neuquén, Río Negro, Santa Cruz y Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur

FUENTE: INDEC. Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2010.

TABLA 2. Variables e indicadores de contexto de las viviendas “seropositivas” y “seronegativas” para la enfermedad de Chagas de los pacientes estudiados en el presente trabajo

Periodo	% de triatomas
1980 -1990	89
1991 -2001	9
1902 -2011	2

Los estudios sobre los triatomíneos de la región que se presentan seguidamente corresponden a las confirmaciones de triatomíneos sobre el total de las denuncia de su presencia realizadas espontáneamente por la población.

Hábitat

En nuestra zona y considerando la gran predominancia de *Triatoma Infestans*, con su característica facilidad para adaptarse al domicilio, lo encontramos en su mayoría acantonados en galpones de producción de pollos parrilleros y de ponedoras. Los Triatomas estudiados en nuestro Laboratorio, fueron encontrados en la zona rural, principalmente dentro de los galpones de cría de parrilleros, dentro de ellos, los lugares habituales donde fueron encontrados son:

- a) las bolsas de arpillera o plastillera que protegen las ventanas del galpón.
- b) las esquinas, sobre todo los galpones que tienen como pared chapas de cartón asfáltico, que en esta zona es muy común.
- c) el techo que se construye con tijeras de Eucalipto que poseen corteza que se despega con el tiempo, allí es común encontrarlas y también en los techos construidos con la chapa de cartón asfáltica. Se introducen en las imperfecciones de la chapa donde es difícil encontrarlas.

Alimentación y ciclo evolutivo del vector

Son hematófagos, necesitando sangre de Vertebrados para completar su ciclo. A pesar de haber alrededor de 120 especies de Triatominos, siendo todos potencialmente vectores de la enfermedad de Chagas sólo son muy pocos los vectores activos teniendo que reunir algunas condiciones básicas, como ser:

1. adaptarse a la vivienda del hombre
2. corto tiempo entre alimentación y defecación
3. ser altamente hematófago

El aparato chupador tiene cuatro estiletes que a medida que chupa la sangre, segrega saliva con anticoagulante. Por un conducto del estilete sube la sangre, y por el otro se segrega saliva con anticoagulante, siendo la parte externa la perforante. El pico o aparato chupador, está constituido por estos 4 estiletes que están replegados por debajo de la cabeza.

En el momento de alimentarse, emergen pues los estiletes cuya secreción contiene componentes proteicos con propiedad anticoagulante y anestésico, hace que la picadura sea indolora, que es la diferencia con la picadura de otros insectos, pero sí es levemente pruriginosa, posiblemente por los componentes proteicos de la saliva.

Se alimenta hasta completar su capacidad, en el caso del *Triatoma Infestans* 0,20 gramos aproximadamente, cuando se trata de ninfas de cuarto estadio o adulto, existiendo especies con gran capacidad que pueden chupar hasta 4 gramos, es decir 20 veces más, como el *Dipetalogaster maximus* especie mexicana, esto la haría interesante para técnicas de investigación indirecta de parásitos en sangre (Xenodiagnóstico) debido a su gran capacidad.

La succión de sangre se completa en 15 minutos aproximadamente hasta quedar atiborrada de sangre, esto inmediatamente induce a la evacuación intestinal y orina, pues tiene que eliminar el agua en exceso por los tubos de Malpighi. Los Tripanosomas van tanto por la vía digestiva y orina (Tubos de Malpighi por secreción. Lacombe Inst. Brasil). Gira 180° cuando termina de alimentarse y defeca encima o cerca de la picadura, el rascado favorece la entrada del parásito a través de la piel.

La periodicidad de alimentación depende de la actividad biológica del insecto y las condiciones de temperatura, a mayor temperatura requiere mayor periodicidad en los intervalos que normalmente son de 10 a 15 días.

Esto explica la mayor periodicidad del verano en nuestra zona comparada con el invierno. Tienen una extraordinaria capacidad de supervivencia, soportando ayunos prolongados de hasta 180 días cuando las condiciones alimentarias son adversas, llegando en casos extremos a la coprofagia y el canibalismo en algunas especies. Los Triatomos son hematófagos estrictos, siendo la sangre el elemento **indispensable** para producir la muda y pasar de los estados I al V y llegar al estadio adulto.

El ciclo biológico se completa en 110 días: los huevos tienen corion con un opérculo que salta para nacer, el color cambia del blanco al rosado en el momento de nacer, el estado de embrión es de 7 días. El 1er. estadio es de 10 días, el 2do. de 15, el 3ro. de 60 días, este es el que más se alimenta en proporción pudiendo duplicar su peso con la alimentación, el 4to. y 5to. de 40 a 60 días a pesar que pueden quedar como 5to, estadio hasta dos años. La evolución de huevo - adulto se completa de 3 a 8 meses, dependiente del medio ambiente. La hembra adulta una vez fecundada tiene capacidad para poner de 150 a 250 huevos con un alto índice de fertilidad (mayor del 90%). La Hembra se diferencia del macho por la presencia del poro genital en la extremidad posterior del abdomen.

La transformación de la larva a insecto adulto se realiza mediante el crecimiento que se produce en el intervalo de cada una de las 5 mudas, perdiendo el tegumento anterior y mediante la hormona de crecimiento (ECDISONA) en el período de formación del nuevo tegumento.

Los Triatomos jóvenes tienen semejante morfología al adulto, diferenciándose puesto que la aillas y aparato genital no están completos. El adulto tiene la particularidad que a pesar de sus alas, tiene un vuelo corto y torpido, que generalmente se realiza de noche. Es importante que todos los estados de ninfas y sobre todo los del tercer estadio que son los más activos, caracterizarlos correctamente, como pertenecientes a Triatomos, puesto que en reiteradas oportunidades hemos comprobado su descarte, no dándoles la importancia del adulto por creer que no son vectores de la enfermedad de Chagas (ver figuras).

8. Estudios serológicos

Chagas en período latente o crónico

El diagnóstico se basa fundamentalmente en el hallazgo de anticuerpos anti Trypanosoma cruzi en sangre. Por lo tanto, el elemento de diagnóstico es la serología. El diagnóstico serológico de certeza se logra usando pruebas de alta confiabilidad cuyo resultado sea concordante de por lo menos dos de ellas, practicadas en forma simultánea, de acuerdo a las recomendaciones de OMS. Las reacciones a utilizar deben combinar el uso de antígenos de membrana y citoplasmáticos, siendo aconsejable que una de ellas se la IFI.

El diagnóstico parasitológico es en general de poca utilidad, debido a la baja sensibilidad, por lo tanto no se aconseja su realización, salvo ante dudas diagnósticas.

En nuestro laboratorio, a todo paciente con pedido de serología, se le realiza de rutina:

- Hemoaglutinación Indirecta (usa antígenos citoplasmáticos de T. cruzi), Suero fresco (libre de hemólisis e inactivados a 56 °C durante 30'; en diluciones de 1/6, 1/12, 1/24, 1/48).

- Aglutinación Indirecta (usa antígeno de membrana rada de T. cruzi), suero fresco (libre de hemólisis, sin inactivar y tratado con Mercaptoetanol 1/100, según indica el fabricante, en diluciones de 1/512. Se

repite la técnica usando las diluciones antes indicadas y agregando 1/1024, 1/2048 y 1/4096, pues por encima de ese título no hemos encontrados sueros reactivos).

- Test de Inmunofluorescencia Indirecta (TIF): (usa antígeno de membrada de *T. cruzi*). Se utiliza suero fresco libre de hemólisis e inactivado a 56 °C durante 30', en diluciones 1/30, 1/60; realizadas con buffer de pH = 7,2.

Con la utilización de estas técnicas combinamos el uso de antígenos citoplasmáticos y de membrana, haciendo en caso de resultados discordantes de la serología, una nueva toma de muestra del paciente y definiendo su resultado con el TIF, que es la técnica de referencia en la serología.

Detalle de la técnica de Hemoaglutinación utilizada:

Se hace un detalle particular de esta técnica, pues utilizamos diluciones del suero distintas a las indicadas por el fabricante, debido a que así se ahorra reactivo y tenemos la dilución 1/12, que para nuestro laboratorio es considerada como positiva. Esto se fijó después de realizar en paralelo 21.500 sueros con TIF. Además, esta técnica simplificada, fue utilizada en catastro de grandes poblaciones y en serología de banco de sangre.

Técnica: se divide la placa en sentido longitudinal al medio, quedando cuatro pocillos de cada lado de la división, se codifica en los laterales extremos los sueros a realizar dejando las tres últimas hileras de pocillos de la derecha para suero negativo y dos positivos, uno débil y otro fuerte; de tal manera que podemos realizar 21 sueros.

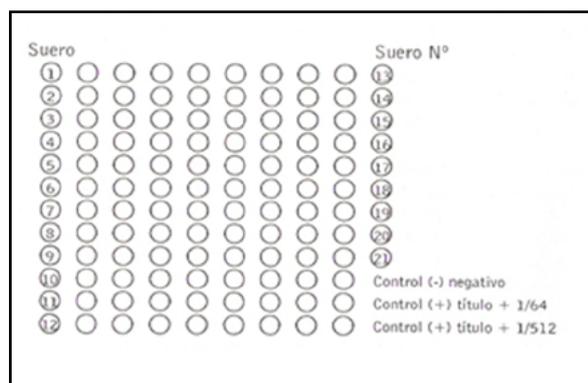


FIGURA 1. Esquema de la técnica de Hemoaglutinación

Se coloca en el primer pocillo, de los cuatro correspondientes a cada suero, 50 UI de Buffer con pipeta automática y los tres restantes 20 UI de Buffer, luego se le agrega al primer pocillo (el de 50 UI) 10 UI del suero correspondiente con pipeta automática, cargando así los 21 sueros. Teniendo especial cuidado en enjuagar los tips cada vez con Buffer, cargando y descargando con la pipeta automática tres veces, cada vez que se carga un nuevo suero o bien usar tips para cada muestra. Luego se procesan de igual manera los testigo, así en el primer pocillo tenemos una dilución 1/6. Se descartan 20 UI y se pasa 20 UI al segundo pocillo (que tenía 20 UI de Buffer), quedando una dilución 1/12. De esta, con la misma pipeta se carga y descarga cinco veces y se pasan 20 UI al tercer pocillo y luego de igual manera la cuarto, descartando 20 UI.

Así se obtienen las diluciones 1/6, 1/12, 1/24 y 1/48, quedando en cada pocillo un volumen igual a 20 UI. Se le agrega al pocillo N° 1 20UI de glóbulos rojos no sensibilizados y en los pocillos restantes (N° 2, 3 y 4) 20 UI de glóbulos rojos sensibilizados (antígeno). Una vez cargado el antígeno se golpean las

paredes laterales para homogeneizarlo y se dejan 5' en agitador mecánico. Las placas se colocan a temperatura ambiente en mesada de mármol sobre trapo de algodón húmedo (descarga la corriente estática de las placas) 2 horas en reposo y luego se realiza la lectura comparando el manto de hematíes formado en cada disolución con respecto a los sueros controles.

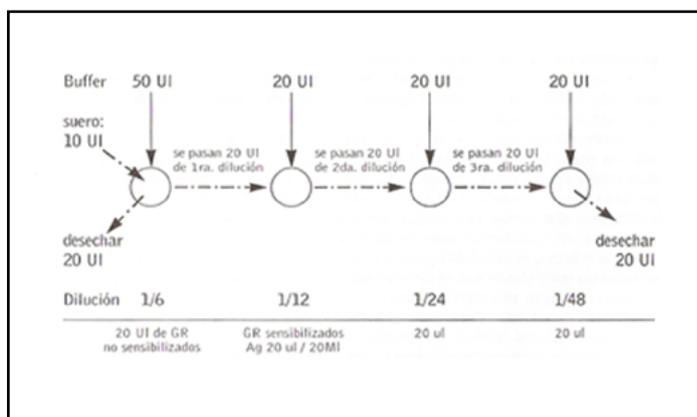


FIGURA 2. Esquemáticamente consideramos los cuatro pocillos correspondientes a un suero, sería:

Consideramos reacción positiva a los títulos 1/12 o superiores, en donde la 1ª disolución no tenga aglutinación, es decir el control inespecífico que se realiza con los glóbulos rojos utilizado sin pegado de antígeno (G. R. no sensibilizados). Si en esta disolución 1/6 hubiera aglutinación, descartamos la validez de la reacción, pues nos está indicando la presencia de anticuerpos inespecíficos que reaccionan contra los antígenos propios de los glóbulos rojos utilizados.

Estudio serológicos en bancos de sangre:

Es universalmente aceptado el mecanismo de transmisión de la enfermedad de Chagas mediante transfusión de sangre, siendo este el segundo en importancia luego de la vía entomológica (mediada por el insecto vector).

La importancia de esta vía reside en que la mayoría de los individuos con serología positiva para Chagas, tiene parásitos circulantes, tal como lo demuestran los trabajos realizados por Cerisola, Schenone, Mao Kelt, etc; que comprobaron que aproximadamente el 50% tienen parásitos circulantes. A pesar de esto, el índice no supera el 15%, lo que demostraría que no todas las transfusiones con sangre de dadores serológicamente positivos llevan a una infección chagásica post transfusional. Es decir, el índice de transmisión oscila entre 12 y 15% de las transfusiones con sangre de chagásicos crónicos, produciendo la infección.

Los estudios serológicos realizados a todo dador de sangre son: Hemoaglutinación indirecta, Aglutinación directa sin 2 Me, TIF, Elisa.

Si cualquiera de las reacciones diera positiva, se descarta la sangre. Como norma general, una vez obtenido el suero de los dadores se realiza Hemoaglutinación indirecta y Aglutinación directa con suero inactiva 30' a 56 °C. Estas reacciones son rápidas, ya que a las dos horas se le puede informar al servicio de Hemoterapia el resultado para que realice la transfusión. Se toma el título 1/12 para HAI y 1/32 para AD para descartar una sangre, luego se realiza el TIF para confirmar diagnóstico.

Al paciente con serología positiva se lo cita nuevamente para el estudio clínico y repetir la serología completa, como la realizada para el período crónico. Si no se pudiera realizar una serología confiable en un servicio de Hemoterapia, se puede tomar como medida profiláctica el tratamiento de la sangre con cristal violeta al 1/4000. Este mecanismo de transmisión tan importante puede ser cortado de modo

radical, tomando las precauciones de realizar una serología confiable a todo dador de sangre y ante la imposibilidad de hacerlo, tomar las medidas profilácticas.

Revisando las estadísticas de Bancos de sangre en distintas provincias y acoplados a ello al número de transfusiones que realizan, es esta la vía una importante red de amplificación de la enfermedad, pues hace que se extienda a poblaciones que no poseían, es el caso del sur de nuestro país, que se ve agravado por el cada vez más importante movimiento de población en busca de trabajo. A esto se le suma el movimiento migratorio de los países limítrofes, que generalmente son de bajos recursos. Este movimiento migratorio interno y externo explicaría el 6% de serología positiva en Bancos de sangre de Capital Federal, que evidentemente no son casos autóctonos.

TABLA 5. Prevalencia de sangre infectada con *Trypanosoma cruzi* en el Banco de Sangre del Hospital J. J. de Urquiza. Estadísticas anuales. Período 1996 – 2010

Categoría	1996		
	Total	Reactivas	Seropositividad %
Alternadoras	40	-	-
Consultorio Externo Hombres	1240	55	4.43
Consultorio Externo Mujeres	1882	68	3.61
Embarazadas	17819	99	0.55
Hemoterapia	17409	121	0.70
Jóvenes menores de 21 años	1032	35	3.39
Medicina Preventiva	378	4	1.05
Otros Laboratorios Hospitalarios ⁽¹⁾	384	176	45.83
Pacientes derivados ⁽²⁾	232	145	62.50
Personal Salud Pública	382	2	0.52
Pre-laborales	1014	7	0.69
Servicio penitenciario	809	12	1.48
Total ⁽³⁾	42005	403	1.64

(1) Confirmación de sueros remitidos de otros laboratorios hospitalarios

(2) Controles de pacientes derivados

(3) Excluidos los sueros derivados por otros laboratorios hospitalarios para confirmación y los controles de pacientes derivados

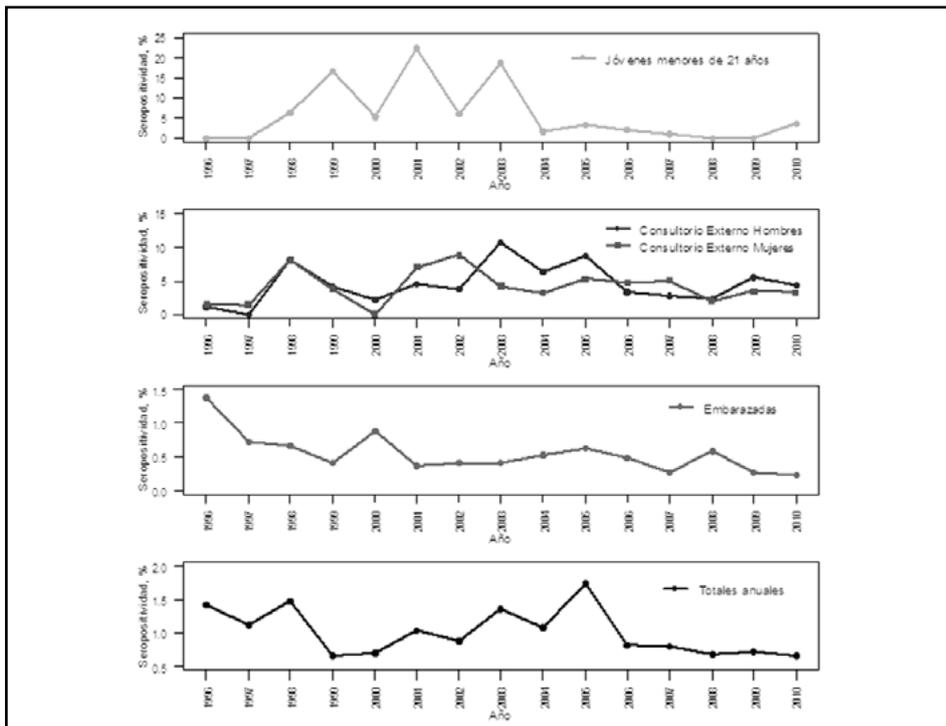


GRÁFICO 1. Evolución de la seropositividad de sangre infectada con *Trypanosoma cruzi* en el Banco de Sangre del Hospital J. J. de Urquiza. Totales anuales y categorías más significativas. Período 1996 – 2010

TABLA 12. Prevalencia de seropositividad por departamento:

Departamento	% Seropositividad	Positivos/Totales
Uruguay	3,1	2063/67298
Feliciano	6,7	75/1195
Gauleguaychú	5,6	680/12740
Rosario del Tala	6,4	62/1030
Gauleguay	6,8	601/9308
Islas	5,9	10/165
Concordia	3,3	63/1870

Más de 100.000 sueros fueron analizados a lo largo de una intensa investigación de seroprevalencia de la enfermedad de Chagas, y que se prolongará por 22 años en el departamento Uruguay de la provincia de Entre Ríos.

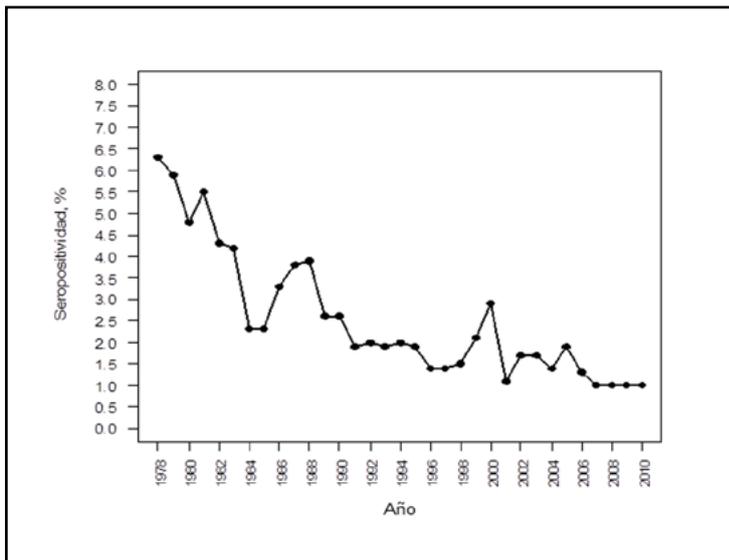


GRÁFICO 2. Evolución de la Seropositividad en el departamento Uruguay. Período 1978-2010

Como puede observarse en el Gráfico 2, durante el período 1978 – 2010 se produjo un descenso de la seropositividad en el departamento Uruguay de más de 5 puntos porcentuales (de 6,3% en 1978 al 1,0% en 2010)

A partir de 1980 se procedió a controlar en forma sistemática los distintos bancos de sangre del Departamento Uruguay, tanto sobre los donadores que se presentan voluntariamente como sobre la sangre que habría de utilizarse para transfusiones.

En todos estos casos se utilizaron las técnicas de HAI, IFI y ELISA. A partir de 1983 se comenzó a utilizar la planilla para exclusión del Donante de riesgo.

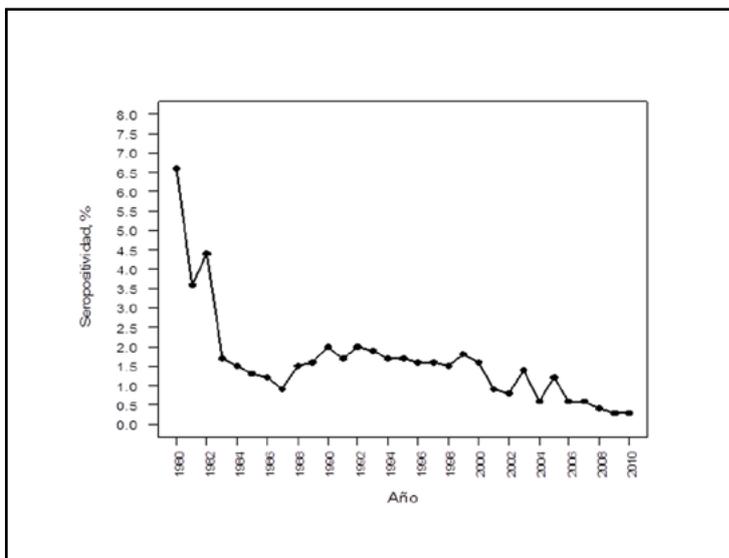


GRÁFICO 3. Evolución de la Seropositividad en donadores de sangre. Período 1980-2010

Durante el período 1980 – 2010 se produjo un descenso de la seropositividad en donadores de sangre de más de 6 puntos porcentuales (de 6,6% en 1978 al 0,3% en 2010).

9. Metodología

Fueron incluidos pacientes seropositivos y seronegativos para la Enfermedad de Chagas, a los cuales se le realizó examen físico, electrocardiograma ecocardiograma, RX de tórax y extracción de sangre para realizar diagnóstico serológico actual con Hemaglutinación indirecta, ELISA e Inmunofluorescencia

Para la determinación del tiempo de tránsito colónico se emplearán 24 marcadores radiopacos Sitzmarks administrados el día 0' con posterior realización de RX simple de abdomen de pié al quinto día.

Se considerará anormal cuando se encuentren 5 o más radiomarcadores en la RX de abdomen del día quinto.

1. Herramienta de investigación:

Se diseñó una planilla con la herramienta de Office Access ®. A continuación se detallan ilustran los campos que la constituyen y las opciones desplegadas de cada una.

The screenshot shows a Microsoft Access form titled 'Paciente'. It is organized into several panes:

- Datos de Paciente:** Includes fields for 'Numero', 'Apellido y Nombres', 'Fecha de Nacimiento', 'Sexo', 'Domicilio', 'Barrio', 'Hijos', 'Teléfono', 'Nivel de Educación', 'Ocupación', 'Condición Laboral', 'Tipo de Trabajo', 'Domicilio de Trabajo', and 'Teléfono del Trabajo'.
- Enfermedad:** Includes 'Fecha Primer Diagnóstico', 'Tiempo de permanencia en el área endémica', 'Forma de Contagio', 'Clasificación', 'Tratamiento parasitológico', 'Cardioestimulador implantable', 'Teleradiografía de tórax', 'Electrocardiograma', 'Marcapasos', 'Anormalidad Ecocardiograma', and 'Doppler Tíular Positivo'.
- Laboratorio:** Includes checkboxes for 'Diabético', 'Anémico', and 'Insuficiencia Renal', along with input fields for 'HAI', 'TIF', 'Elixa', and 'NtroBNP'.
- Procedencia:** Includes dropdowns for 'Localidad', 'Area', and 'Tipo de Vivienda'.
- Residencia Actual:** Includes dropdowns for 'Localidad', 'Area', 'Tipo de Vivienda', and 'Animales Domésticos', along with checkboxes for 'Corales y Chaderos', 'Disposición de Basura', 'Agua Corriente', and 'Baño Instalado'.
- Evaluación Digestiva - Cantidad de Anillos:** Includes a 'Realizado' checkbox and input fields for 'Colon Ascendente', 'Colon Transverso', 'Colon Descendente', 'Colon Sigmoido', and 'Recto'.
- Tratamiento Cardiológico:** Includes a 'Droga' dropdown and a 'Registro' section.

FIGURA 4. Vista general. Pantalla principal con los campos a llenar

10. Resultados

Se estudiaron un total de 152 pacientes (82 masculinos, 70 femeninos) con serología positiva para ECH por las tres técnicas y 42 pacientes con serología negativa, RX de tórax , TCR , ECG y ECO normales. Ninguno de los pacientes control presentó sintomatología clínica asociada a ECH.

En 4 de los 82 pacientes masculinos evaluados se detectó TCR patológico, mientras que fueron 15 pacientes femeninos con. 15 con TCR patológico. Del total de los pacientes evaluados (152) hubo 19 TCR patológicos (12.5%). 79 % fueron mujeres y el 21 % hombres.

De los 19 TCR patológicos, 10 tenían más de 15 marcadores distribuidos en colon izquierdo y derecho; 7 tenían más de 10 distribuidos en colon izquierdo y derecho y recto sigmoide; y 2 tenían más de 5 marcadores distribuidos en colon derecho, izquierdo y recto sigmoide.

Rango etéreo

De un total de 83 pacientes controlados, 8 de los cuales no poseen información sobre su edad. De los 75 pacientes restantes, la mayoría de ellos se encuentran comprendidos entre los 40 y 70 años (Gráfico 4. Distribución de edades en pacientes controlados)

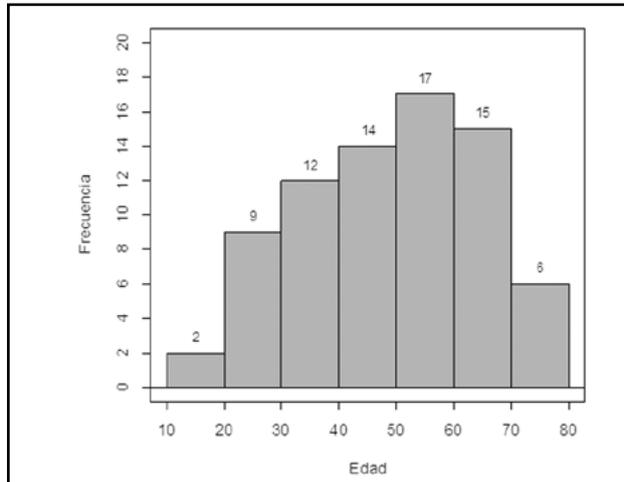


GRÁFICO 4. Distribución de edades en pacientes controlados

El 91,6 % (n= 76) de los pacientes resultaron seropositivos mediante la aplicación de la prueba de ELISA.

TABLA 15. Resultados de estudios complementarios realizados

Estudios digestivos – Control de Anillos radiopacos						
Se observan		No se observan		Sin estudio		Proporción de positivos
n	%	n	%	n	%	(IC 95%)
17	20,5	53	63,8	13	15,7	(0.127, 0.310)
Estudios cardiológicos – Electrocardiograma						
EGC Patológico		EGC Normal		Sin EGC		Proporción de positivos
n	%	n	%	n	%	(IC 95%)
18	21,7	54	65,1	11	13,2	(0.137, 0.323)
Radiografía de Tórax						
Rx Anormal		Rx Normal		Sin Rx		Proporción de positivos
n	%	n	%	n	%	(IC 95%)
19	22,9	54	65,1	10	12,0	(0.147, 0.337)
Ecocardiograma 2D y Modo M						
Anormal		Normal		Sin estudio		Proporción de positivos
n	%	n	%	n	%	(IC 95%)
17	20,5	55	66,3	11	13,2	(0.127, 0.310)
Pruebas de Esfuerzo graduado						
Insuficiente		Normal		Sin Prueba		Proporción de positivos
n	%	n	%	n	%	(IC 95%)
17	20,5	55	66,3	11	13,2	(0.127, 0.310)

Se realizó un análisis multifactorial para datos combinados con las variables anteriores y la edad. Para el mismo se excluyeron aquellos pacientes que no tenían todos los estudios realizados y/o no se tenía registro de su edad (n=58). Se obtuvieron los siguientes resultados:

TABLA 16. Autovectores según dimensiones

	Dimensión 1	Dimensión 2	Dimensión 3	Dimensión 4
Variabilidad	3.654	1.146	0.919	0.792
Variabilidad %	52.20	16.37	13.13	11.31
Variabilidad acumulada %	52.20	68.57	81.70	93.01

A su vez, las variables que contribuyeron significativamente a la dimensión 1 fueron, los estudios cardiológicos, Rx Tórax, Ecocardiograma y Pruebas de esfuerzo graduado. A la dimensión 2 contribuyeron significativamente los estudios gastrológicos y el sexo del paciente.

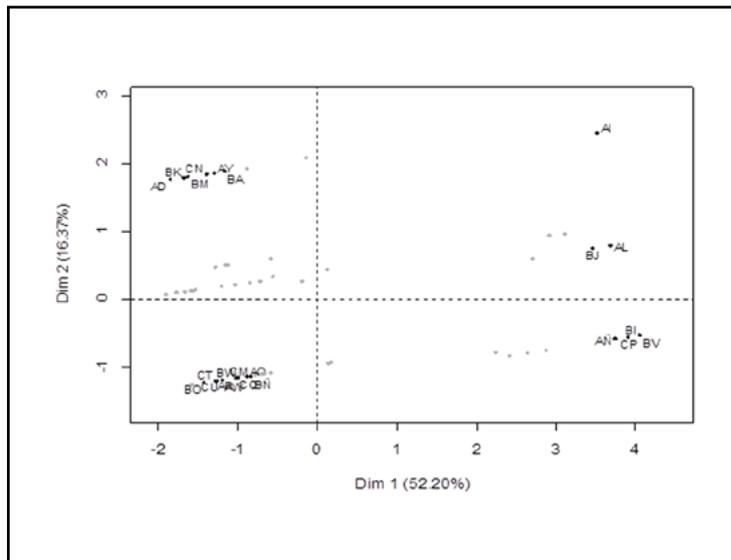


GRÁFICO 5. Análisis factorial para datos combinados, por categorías

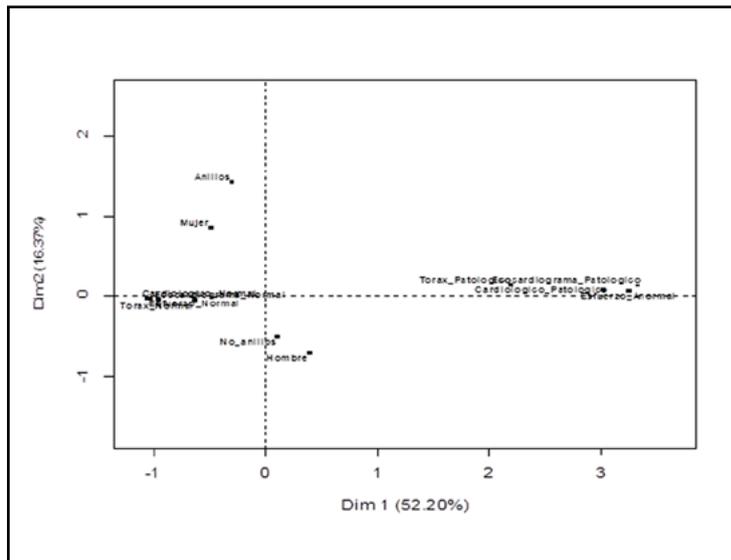


GRÁFICO 6. Análisis factorial para datos combinados, por casos

En el gráfico anterior se observan en negro los casos que tienen una alta calidad de representación ($\cos^2 > 0.8$). Los restantes se hallan grisados.

Se observan los distintos individuos seropositivos agrupados según su respuesta a cada una de las variables. Los grupos 1 y 2 corresponden, respectivamente, a hombres y mujeres cuyos estudios están dentro de valores normales. En el grupo 3 se encuentran hombres cuyos estudios gastroológicos son normales, el electrocardiograma es patológico y el desempeño en las pruebas de esfuerzo es insuficiente y presentan Rx de tórax o Ecocardiograma patológico (estudio gastroológico normal y tres de los restantes estudios no). En tanto el grupo 4 también son hombres que presentan estudios gastroológicos normales y el resto de los estudios mal. El grupo 5 está compuesto por hombres y mujeres que presentaron 4 de 5 estudios anormales. El grupo 6 corresponde a mujeres que presentan sólo patología gastroológica. Finalmente, en el grupo 7 se encuentra una mujer cuyos estudios resultaron ser todos positivos (único caso).

12. Referencias bibliográficas

- CONSEJO DE INVESTIGACIÓN UNER – Sec. De Investigaciones Tecnológicas y de formación de RRHH: “II Jornada de comunicación científica de la UNER” – Paraná – 02 de Noviembre de 1993 – Facultad de Servicio Social y C. Económicas.
- DOCUMENTO – Presidencia del Senado de la Nación – Dr. José E. Lauritto (Diputado de la Nación) “Declaración de interés Nacional al proyecto en estudio” – 2006.
- BRANDARIZ, SILVIA B. – “Diagnóstico serológico y molecular en la enfermedad de Chagas. Rol del *Trypanosoma Cruzi* en la evolución de la miocardiopatía chagásica” Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica – Laboratorio de biología molecular de la enfermedad de Chagas – Instituto de Investigación en Ingeniería genética y Biología molecular (INGEBI-CONICET) 2005.
- BRENER, ZIGMAN y col. “*Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*” Guanabara Koogan – 2daº Edição. 17 “Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo *Trypanosoma Cruzi*” (Alejandro O- Luque – Anis Rassi) 344-378.
- PONCE, CARLOS y col. – “La enfermedad de Chagas transfusional en Honduras y otros países de América Central” Rev. Medicina (Bs. As.) 1999; 59 (Supl. II): 135-137.
- SCHMUNIS, GABIREL y col. “Risk for Transfusion-Transmitted Infectious Diseases in Central and South America” – Reprinted from Emerging Infectious Disease vol. 4. Nº 1: 5-11. January-March 1998.
- ARCA, MANUEL “La enfermedad de Chagas en la provincia de Entre Ríos” – Publicación UNER y Fundación Bioquímica Argentina – 2000.
- MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ – An international Journal of Biological and Biomedical Research. Vol 96(5) July 2001. Pg. 593-749.
- MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ – An international Journal of Biological and Biomedical Research. Vol 99(2) March 2004. Pg. 119-237.
- WENER APT. B.; Heitmman Ingrid y col. “Part. I: Introducción y epidemiología” Comité de Parasitología, Departamento de enfermedades Emergentes y Re-emergentes, Ministerio de Salud de Chile. Rev. Clín. Infect. 2008; 25(3): 190-193.
- WENER APT. B.; Heitmman Ingrid y col. “Part. II: Enfermedad de Chagas en el adulto, infancia y adolescencia” Comité de Parasitología, Departamento de enfermedades Emergentes y Re-emergentes, Ministerio de Salud de Chile. Rev. Clín. Infect. 2008; 25(3): 194-199.
- WENER APT. B.; Heitmman Ingrid y col. “Part. IV: Tratamiento antiparasitario de la enfermedad de chagas” Comité de Parasitología, Departamento de enfermedades Emergentes y Re-emergentes, Ministerio de Salud de Chile. Rev. Clín. Infect. 2008; 25(3): 190-193.
- WERNER B., *Guías clínicas de la enfermedad de Chagas. Parte II. Enfermedad de Chagas en el adulto, la infancia y adolescencia*, Rev Chil Infect 2008; 25 (3): 194-199.
- REIS NETO JS et al. Rev. Bras. Coloproct. 2004.
- BRENER, ZIGMAN y col. “*Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*” Guanabara Koogan – 2daº Edição. 17 “Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo *Trypanosoma Cruzi*” (Alejandro O- Luque – Anis Rassi) 344-378.
- ARCA, M. (2000) “La enfermedad de Chagas en la provincia de Entre Ríos” – Publicación UNER y Fundación Bioquímica Argentina.