

CAPÍTULO 17

Tripanosomiosis

Paula Natalia Magistrello

Introducción

La enfermedad de Chagas-Mazza, también conocida como Tripanosomiosis americana, es una parasitosis hemática e hística producida por un protozoo flagelado, *Trypanosoma cruzi*, y transmitida a los humanos por distintas vías: la vía vectorial, a partir de las deyecciones de artrópodos insectos, hemípteros, hematófagos, de la familia de los triatominos, de los cuales, el de importancia en nuestro país es *Triatoma infestans*; y la vía no vectorial, que incluye transmisión vertical o transplacentaria, connatal (en el momento del parto), transfusional, trasplante de órganos, manipulación de sangre y animales infectados y la vía oral.

En 1909 el médico brasileño Carlos Justiniano das Chagas, trabajando en el Estado de Minas Gerais en Brasil, descubrió los vectores infectados y al protozoo que causa la enfermedad, al que llamó *Trypanosoma cruzi* en homenaje a su maestro Oswaldo Cruz. Logró identificar todos los elementos de la cadena epidemiológica de la enfermedad: el transmisor, el parásito, los reservorios, y las manifestaciones de la enfermedad en el hombre. También planteó la hipótesis del control de los triatominos como medida de prevención.

En nuestro país, Salvador Mazza, médico e investigador argentino, dedicó casi toda su vida al estudio de la Tripanosomiosis y otras enfermedades endémicas. Ayudó a fundar la “Misión de Estudios de Patología Regional Argentina” (MEPRA), y describió los vectores y reservorios de *T. cruzi* en las Provincias de Jujuy, Salta y Tucumán.

Esta enfermedad cursa con una primera fase aguda, seguida por una fase crónica que se divide a su vez en fase crónica sin patología demostrada (antes llamada latente o indeterminada) y fase crónica con patología demostrada.

Debido a las complicaciones en la salud de un alto porcentaje de las personas infectadas, a las consecuencias sociales, laborales y al alto costo para los servicios de salud el manejo de sus complicaciones, representa un grave problema de salud pública en nuestro continente y requiere un abordaje interdisciplinario.

Agente etiológico - Ubicación taxonómica

Reino: Protista

Subreino: Protozoa

Phylum: Sarcomastigophora

Clase: Zoomastigina

Orden: Kinetoplastidos

Familia: Trypanosomatideos

Géneros: *Trypanosoma*

Especie: *Trypanpsoma cruzi*

Se considera que esta especie incluye un conjunto de cepas parasitarias con diferencias en su patogenicidad, que circulan entre reservorios animales, humanos y vectores tanto domiciliarios como silvestres.

Trypanosoma cruzi como miembro de la familia Trypanosomatidae, posee un flagelo que emerge de una invaginación llamada bolsillo flagelar, un cuerpo paraflagelar y un kinetoplasto único.

El kinetoplasto es un DNA particular, altamente concentrado y organizado en maxicírculos y minicírculos, formando una red fibrosa, que contiene de 20-30 % del DNA total. Presenta una única mitocondria que recorre toda la célula.

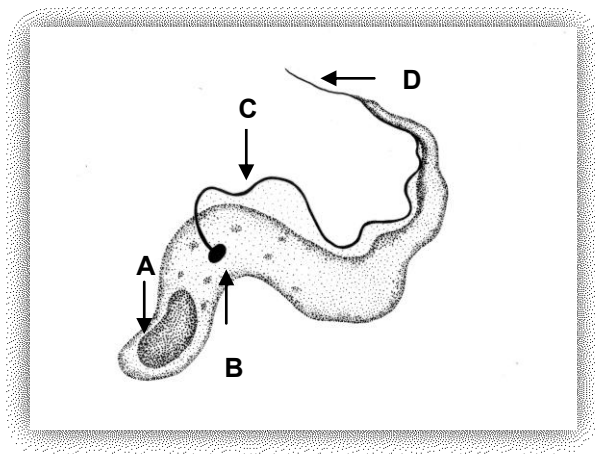
La superficie celular de los tripanosomátidos está compuesta por 3 estructuras: Glicocálix, bicapa lipídica y los microtúbulos subpeliculares. Los glicoconjugados se encuentran uniformemente distribuidos sobre la superficie del cuerpo celular y del flagelo. La bicapa lipídica contiene proteínas, excepto en áreas muy especializadas como el bolsillo flagelar y la base del flagelo. Los microtúbulos subpeliculares localizados debajo de la membrana plasmática constituyen el citoesqueleto de estos parásitos y se encuentran conectados con el retículo endoplásmico. Presentan organelas características como los reservosomas que son compartimentos prelisosomales, localizados en la región posterior del parásito, que estarían involucrados en el almacenaje de macromoléculas que se utilizan en la metacicloogénesis. Los glicosomas contienen enzimas involucradas en la oxidación de aminoácidos y lípidos, y los ácidocalcisomas, organelas acídicas concentran calcio y se observan al microscopio electrónico como vesículas vacías rodeadas por material electrodensito periférico.

Existen cuatro formas parasitarias que mantienen en la naturaleza el ciclo de vida y se encuentran distribuidas en dos grupos de hospedadores, el vector invertebrado y los hospedadores mamíferos, incluido el hombre.

Las formas parasitarias son las siguientes:

a) Epimastigote: se encuentra en el vector invertebrado, donde se multiplica en intestino y se puede obtener en cultivos. (Fig 1)

Fig. 1
Epimastigote de *T. cruzi*
A: Núcleo
B: Kinetoplasto
C: Membrana ondulante
D: Flagelo



Es la forma replicativa, no infectiva para el hombre u otros mamíferos. Mide 20 a 25 μ de largo, de aspecto fusiforme y con el kinetoplasto ubicado en la posición anterior, cercano al núcleo, el flagelo forma una pequeña membrana ondulante. (Fig. 2)

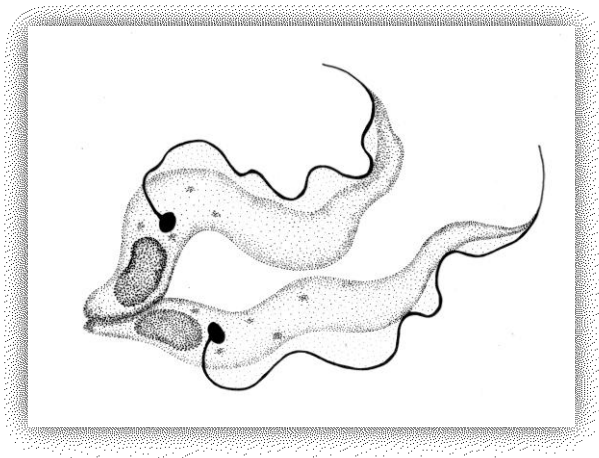
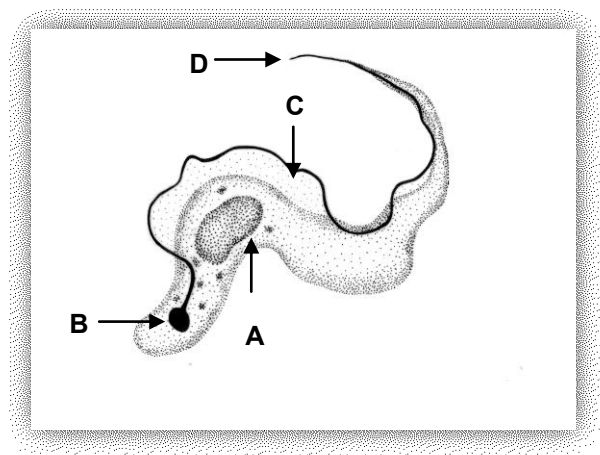


Fig. 2
Epimastigote
Forma replicativa

b) Tripomastigote metacíclico: es la forma no replicativa e infectiva, producto de la diferenciación de los epimastigotes en la porción distal del intestino del vector. Se deposita con las heces del triatomino, para luego, penetrar por mucosas o solución de continuidad en el hospedador, pudiendo así infectar a las células. Su forma es alargada y mide de 20 a 25 μ de longitud. Posee un núcleo grande cerca del centro del protozoo y en la porción posterior, se observa el kinetoplasto, casi siempre esférico, grande, característica que lo diferencia de otras especies de tripanosomas. A lo largo del cuerpo del parásito se observa una membrana ondulante bordeada por un flagelo, el cual surge libremente en el extremo anterior. (Fig. 3)

Fig. 3
Tripomastigote metacíclico
A: Núcleo
B: Kinetoplasto
C: Membrana ondulante
D: Flagelo



c) Amastigote: Surge de la diferenciación de los tripomastigotes tanto metacíclicos como sanguíneos.

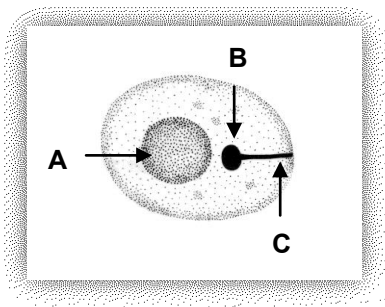


Fig. 4
Amastigote
A: Núcleo
B: Kinetoplasto
C: Flagelo

Es la forma replicativa intracelular en el hospedador vertebrado, se divide por fisión binaria y posee la capacidad de infectar otras células. Su forma es redondeada u ovalada, mide de 2 a 6 μ , presenta un gran núcleo, kinetoplasto y su flagelo está internalizado. (Fig. 4)

d) Tripomastigote sanguíneo: se produce a partir del amastigote, es la forma no replicativa que puede pasar a otras células y constituye la forma infectiva para el vector triatomino y los mamíferos. (Fig. 5)

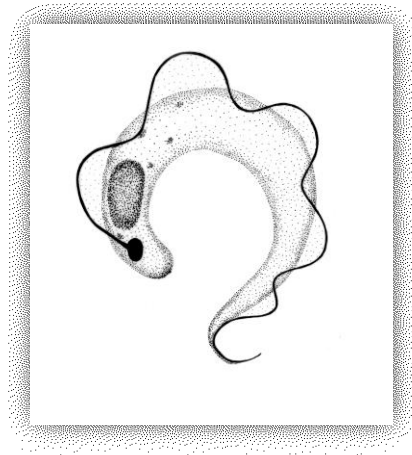


Fig. 5
Tripomastigote sanguíneo

Además de las diferentes morfologías de *T. cruzi* en el transcurso de su ciclo vital, presenta una amplia diversidad biológica, bioquímica y genética que permitió clasificar a las diferentes cepas en unidades taxonómicas discretas (UTDs), de acuerdo con marcadores moleculares, genéticos e inmunológicos. Las UTDs se definen como conjuntos de poblaciones que son genéticamente más similares entre sí que a cualquier otra población, identificables por marcadores moleculares comunes. En la actualidad son 6: TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV y TcVI.

Por otra parte, se han identificado tres zimodemos, Z1, Z2 y Z3. El Z2 está relacionado al ciclo de transmisión doméstica, mientras que Z1 y Z3 al ciclo silvestre.

Epidemiología

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se calcula que unos 10 millones de personas están infectadas a nivel mundial; y más de 25 millones están en riesgo de adquirir la enfermedad.

En el continente americano esta enfermedad existe desde tiempos remotos. Se hallaron evidencias en comunidades que habitaron el extremo norte de Chile hace más de 2000 años.

Si bien la enfermedad de Chagas se encuentra principalmente en América Latina, donde es endémica en 21 países, en las últimas décadas se ha observado una mayor frecuencia de casos en Estados Unidos, Canadá, muchos países europeos y algunos del Pacífico Occidental, debido especialmente a la movilidad de la población entre América Latina y el resto del mundo. En muchos casos este aumento en la frecuencia se ha dado a través de transfusiones sanguíneas. En los países europeos se estima que alrededor del 2 % de los inmigrantes latinos están infectados con *T. cruzi*, quienes podrían ser dadores de sangre. En Estados Unidos, se documentaron cinco casos de infección por *T. cruzi* asociados a transfusiones de sangre desde la década de los ochenta, y entre 2006 y 2011 se reportaron 1.459 donaciones seropositivas

para *T. cruzi*. Con la tamización en bancos de sangre en Latinoamérica desde 1993, se ha disminuido la prevalencia de la infección por esta vía.

En Argentina, se detectaron los primeros casos agudos hacia 1933, siendo un país endémico para esta enfermedad. Según datos de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) se calcula que existen alrededor de 1,5 millones de infectados, de los que un 30% podrían presentar alteraciones cardíacas de distinto grado a lo largo de su vida. (Tabla 1)

Tabla 1: Datos OPS año 2010 en Argentina. (WHO 2015)

Fuente: WHO, *Weekly epidemiological record*, 2015 (6), 90:33-44

Datos	Año 2010
Población	41.343.000
Número de infectados	1.505.235
Nuevos casos anuales de transmisión vectorial	1.078
Casos de Chagas congénito (anual)	1.457
Mujeres con serología positiva, entre 15 y 44 años	211.102
Tasa de prevalencia	3,64
Población expuesta en zonas endémicas	2.242.528.000
Incidencia /100 nacidos vivos	0,21
Prevalencia en donantes en bancos de sangre	3,1

En cuanto a la transmisión vectorial, existen diferentes niveles de riesgo según la provincia, habiendo provincias de alto riesgo: Chaco, Formosa, Santiago del Estero, La Rioja, Salta, Mendoza y San Juan; provincias de mediano riesgo: Córdoba, Tucumán, San Luis, Catamarca, Santa Fe, Corrientes y Misiones; otras de bajo riesgo como: Jujuy, Neuquén, Río Negro, La Pampa y Entre Ríos; mientras que las provincias de Buenos Aires, Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego se consideran sin riesgo de transmisión vectorial.

En zonas endémicas no tratadas con insecticidas, la mayoría de los nuevos casos se produce antes de los 14 años; y en su mayor parte en menores de 5 años.

En zonas endémicas, las características de las viviendas, revestidas con barro o adobe que se agrietan, el uso de cuadros u objetos fijos, la poca iluminación y reducción de las ventanas que generan semipenumbra, son factores que favorecen a la proliferación del vector. A esto se le suma la convivencia con animales domésticos y el almacenamiento de alimentos que atrae a los transmisores silvestres. Esta vía da lugar a la infección del 90%, siendo desde el punto de

vista sanitario, la forma de transmisión más importante, de la que dependerá el riesgo de transmisión por otras vías, como la vía vertical, a través de la placenta en la segunda mitad gestacional, la vía connatal, la vía transfusional (ya que *T. cruzi* puede mantenerse viable 18 meses a 4°C), por trasplante de órganos, especialmente renal, por manipulación de sangre y animales infectados (accidentes de laboratorio) y por vía oral.

En nuestro país, se han realizado estudios sobre prevalencia de infección en embarazadas en maternidades públicas y la misma oscila entre el 1 y el 13%.

La enfermedad de Chagas agudo vertical se encuentra bajo vigilancia clínica desde el año 2000. La mayoría de las embarazadas infectadas en fase crónica son asintomáticas y la transmisión transplacentaria en esta fase se calcula entre un 3 a 10% según las diferentes regiones. Se estima que la vía vertical de infección es la vía más frecuente en la generación de nuevos casos.

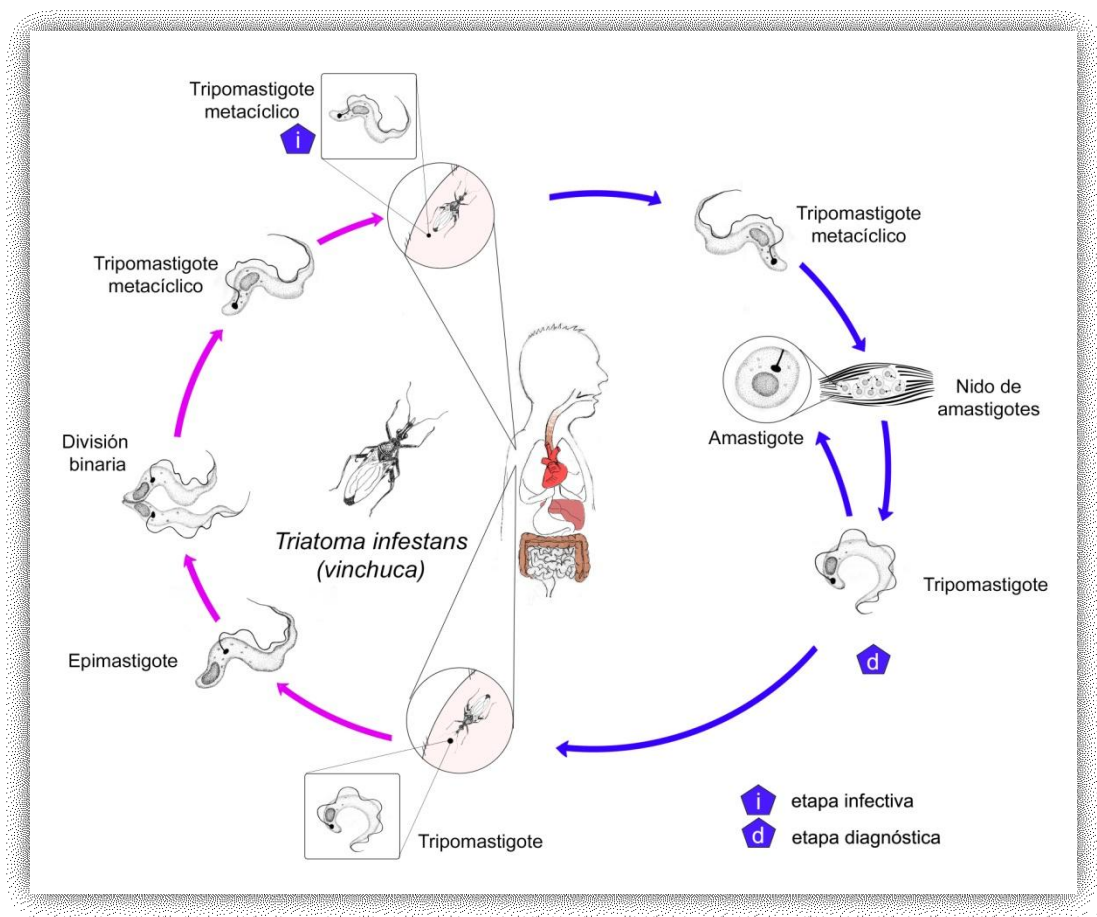
En cuanto a la infección a través de leche materna, hay muy pocas evidencias para afirmar esta vía. Se ha descrito un solo caso, pero debe señalarse que la madre poseía heridas sangrantes en los pezones, por lo que la vía oral de infección no pudo ser descartada. Estudios realizados por Mazza y Medina López, refieren el hallazgo de tripomastigotes en leche materna de mujeres cursando fase aguda, sin embargo, otros autores no pudieron confirmarlo. En modelos experimentales donde alimentaron crías libres de infección con ratones hembra cursando fase aguda, un bajo número de crías adquirieron el parásito a través de la lactancia. Por lo expuesto anteriormente, y teniendo en cuenta que la mayoría de las madres se encuentran en fase crónica (con baja parasitemia), tener enfermedad de Chagas no debe ser considerado una contraindicación para la lactancia.

La transmisión por vía oral en América Latina ha causado brotes, en su mayoría asociados al consumo de bebidas preparadas a base de frutas u otros vegetales contaminados con las heces de triatominos o secreciones de mamíferos infectados. De 1000 casos de infección aguda reportada, 900 se relacionaron con transmisión por vía oral en distintas regiones de Brasil, Venezuela, Colombia, Bolivia, Guyana Francesa, Argentina y Ecuador. En Brasil se calcula que la transmisión a través de los alimentos causa hasta un 70% de los casos, principalmente en la Cuenca Amazónica, registrándose, alrededor de 587 casos, seguido por Venezuela con 199, Colombia con 49 casos confirmados y 31 casos sospechosos, Bolivia con 14, Guyana Francesa con 9 y Argentina con 2 casos descriptos en Chaco (un caso por leche materna y el segundo por consumo de carne de animal mal cocida).

Ciclo evolutivo

El vector es un insecto hematófago de la familia Reduviidae, subfamilia Triatominae, siendo tres géneros: *Rhodnius*, *Triatoma* y *Panstrongylus*, los de mayor importancia epidemiológica. En nuestro país se considera que existen 17 especies de triatominos que difieren en relevancia epidemiológica según su hábitat y densidad poblacional, siendo *Triatoma infestans* el más importante, por su amplia distribución geográfica y por ser la única de las especies que posee hábitos intradomiciliarios.

El vector da lugar al comienzo del ciclo, cuando se alimenta de la sangre del hombre u otro mamífero infectado con tripomastigotes sanguíneos de *T. cruzi*, que pasan al intestino del triatomino donde sufren transformaciones a lo largo del tubo digestivo dando epimastigotes que, por fisión binaria, se multiplican y en pocos días se encuentran como tripomastigotes metacíclicos en la porción distal del intestino. Los triatomínos infectados, al picar nuevamente al hombre u otros mamíferos y luego de ingerir sangre en abundante cantidad, defecan sobre la piel o mucosas, depositando tripomastigotes metacíclicos infectantes. Las deyecciones pueden contaminar el sitio de picadura, cuando el vector las arrastra con sus patas, o penetrar a este sitio u otra zona lesionada de la piel si el sujeto frota la zona, penetrando los parásitos al tejido. También pueden llegar a la conjuntiva al ser depositadas en la hendidura palpebral, o cuando el paciente las lleva con sus manos hacia la mucosa o a la conjuntiva ocular.



Una vez que los tripomastigotes metacíclicos entran al organismo, son fagocitados por macrófagos cercanos al sitio de penetración, donde en su citoplasma se transforman a amastigotes que, por fisión binaria, se multiplican activamente, diferenciándose luego a tripomastigotes que al llegar a un número elevado, rompen la célula y por vía sanguínea y linfática se distribuyen por todo el organismo, invadiendo distintos órganos, preferentemente músculo estriado con tropismo especial por tejido cardíaco, penetrando en las células y transformándose nuevamente en amastigotes.

El ciclo se completa cuando un triatomino se alimenta de la sangre de un mamífero infectado cursando parasitemia.

El período prepatente (la aparición de parásitos circulantes desde el momento en que se produce la infección) es de 7 a 14 días.

Patogenia y respuesta inmunitaria

Se han propuesto tres teorías principales que explican los mecanismos patogénicos del parásito:

a) Daño directo: dado por la lesión directa que produce el parásito al invadir las células y el proceso inflamatorio localizado. La invasión celular, replicación y muerte de las células y la liberación de los parásitos y reinfección de otras células genera daños irreversibles en los órganos afectados, como corazón, esófago y colon. Las alteraciones que se observan en la fase crónica se dan debido a que, con el paso del tiempo, las zonas afectadas se extienden comprometiéndose las células del sistema nervioso periférico que inervan dichos órganos.

b) Teoría autoinmunitaria: en pacientes crónicos se describieron anticuerpos circulantes que reaccionan contra proteínas de tejido conectivo, endocardio, laminina y proteínas de músculo estriado, etc, ya que existen epitopes compartidos por el hospedador y el parásito. Estos anticuerpos serían los causantes del proceso crónico de la afección, activando procesos inmunológicos humorales y celulares.

c) Teoría neurógena: el daño provocado por el parásito, se observa principalmente en las células del sistema parasimpático que inerva los órganos afectados, dando una estimulación simpática excesiva que a través del tiempo causa una lesión irreversible debida a sobrecarga de trabajo.

En cuanto a la respuesta inmunitaria, como resultado de la invasión primaria, se genera una respuesta inmune con producción primero de IgM y luego de IgG circulantes, subclases 1, 2 y 3, las cuales pueden perdurar durante toda la vida del individuo. Se ha demostrado que los títulos elevados de anticuerpos no se relacionan de manera directa con la gravedad de la enfermedad.

Los macrófagos activados son importantes como defensa en la fase temprana de la infección y en algunos individuos, también lo son las células natural killer (NK). Ambos se asocian para controlar la infección. Los macrófagos secretan IL-12, lo que aumenta la producción de $INF\gamma$ y $TNF\alpha$ lo que lleva al control de la parasitemia. También se ha descrito inmunidad celular mediada por linfocitos CD4+ y CD8+.

El tripomastigote infectivo, puede contrarrestar el sistema de complemento mediante una glucoproteína presente en la membrana que interfiere en la actividad de la C3 convertasa, bloqueando la lisis del parásito.

Una vez dentro de la célula del hospedador, el tripomastigote evade los mecanismos lisosomales y escapa de la vacuola fagocítica hacia el citoplasma, donde se diferencia en amastigote.

En el torrente circulatorio los tripomastigotes evaden la respuesta inmune mediante el fenómeno de capping, liberándose de los anticuerpos que se adhieren a su superficie.

El juego entre respuesta y evasión determina el control de la parasitosis, lo que preserva al hospedador de la muerte y asegura la persistencia parasitaria.

Cuadro clínico

La enfermedad involucra una fase aguda y una fase crónica, en esta última se diferencia en fase crónica sin patología demostrada y fase crónica con patología demostrada.

La fase aguda comienza en el momento de adquirir la infección a partir de las diferentes vías. Frecuentemente cursa de forma asintomática, por ello es importante considerar la enfermedad de Chagas en todo individuo con antecedentes epidemiológicos, como permanencia en área rural endémica, haber recibido transfusiones o nacido de una madre infectada. En el caso de los pacientes sintomáticos, los síntomas desaparecen entre 4 a 8 semanas.

La lesión primaria en la infección vectorial, denominada chagoma de inoculación, se desarrolla en la puerta de entrada del parásito, donde aparece un nódulo inflamatorio, blando, con piel seca donde la placa central se vuelve necrótica o hemorrágica, indolora, con edema local y acompañada de infarto ganglionar de la región. Posteriormente la lesión se cubre por una costra dura. Cuando la infección se produce por conjuntiva ocular, puede observarse con alta frecuencia el complejo oftalmoganglionar o signo de Romaña (edema uni o bipalpebral, en general unilateral, acompañado en algunos casos por edema facial, conjuntivitis, queratitis y dacriocistitis). La diseminación de los parásitos puede ocurrir por vía linfática y hemática, dando lugar a compromiso ganglionar, con endurecimiento de los ganglios periféricos cercanos al sitio de infección. Las adenopatías persisten largo tiempo, mientras que el signo de Romaña y el chagoma pueden desaparecer entre 3 a 4 semanas. Al aparecer la parasitemia se presenta con malestar general, fiebre, de intensidad variable, que puede ser intermitente o continua, dolores musculares, epistaxis, cefalea, escalofrío, anorexia, hepatoesplenomegalia o esplenomegalia, anemia, edema, manifestaciones cardíacas y exantemas. En niños menores de 6 años, puede darse afección de sistema nervioso central (meningoencefalitis) que es letal en un 50% de los casos.

Los niños con infección vertical, son en un 90% de los casos, asintomáticos, y en los que presentan síntomas, las manifestaciones clínicas más frecuentes son hepatomegalia, esplenomegalia, ictericia, prematuridad, bajo peso, anemia y taquicardia persistente.

En el caso particular de pacientes inmunocomprometidos, donde existe la posibilidad de que una infección crónica se reactive (forma reagudizada) o que adquieran la infección aguda por diferentes vías de transmisión, el cuadro clínico puede ser muy grave con síndrome febril prolongado y meningoencefalitis y/o granuloma cerebral, seguido en orden de frecuencia por manifestaciones cardiológicas (miocarditis, arritmias, insuficiencia cardíaca). En pacientes con diferentes tipos de trasplantes, son muy frecuentes lesiones como la paniculitis aguda en brazos, piernas y abdomen. En personas con infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH)/SIDA y con infección crónica por *T. cruzi*, la reactivación se iniciaría cuando los recuentos de CD4 son inferiores a 200 células/mm³, al igual que para otras enfermedades oportunistas.

La fase crónica sin patología demostrada es una fase silente, posterior a la fase aguda, donde puede haber parasitemia baja, ocasional, pero no se evidencian lesiones orgánicas compatibles (cardíaca o digestiva) que sean clínicamente evidentes o detectables por estudios

complementarios. Debe instruirse a estos pacientes sobre la importancia del seguimiento y control periódico a largo plazo, en forma anual, así como señalar que no deben donar sangre. Se estima que el 30% de las personas cursando esta fase tendrán daño cardíaco, digestivo o neurológico en un período entre 10 y 30 años.

En la fase crónica con patología demostrada existen alteraciones en corazón y músculo liso, principalmente esófago y colon, siendo la afección cardíaca en esta fase la forma más frecuente de la enfermedad de Chagas, manifestándose como alteraciones de la conducción, que propician bloqueos completos o incompletos de alguna de las ramas del haz de His, en ocasiones con bloqueos completos del nodo auriculoventricular. También pueden desarrollarse valvulopatías y arritmias. El corazón sufre una dilatación progresiva que lleva a una cardiomegalia visible en radiografía y en ECG. Se observan alteraciones del complejo QRS y de las ondas P y T. Puede ocurrir muerte súbita sin haber desarrollado insuficiencia cardíaca congestiva o la miocarditis progresar hasta producir insuficiencia.

Diagnóstico

En fase aguda, debido al alto nivel de parasitemia, se realiza el diagnóstico demostrando la presencia del parásito por métodos parasitológicos directos basados en técnicas de concentración, que tienen la ventaja de poder realizarse en laboratorios de baja complejidad, a saber: gota fresca, gota gruesa, extendido, método de Strout, micrométodo con capilares (técnica de microhematocrito), micrométodo con microtubos, Xenodiagnóstico. (Foto 1 y 2)

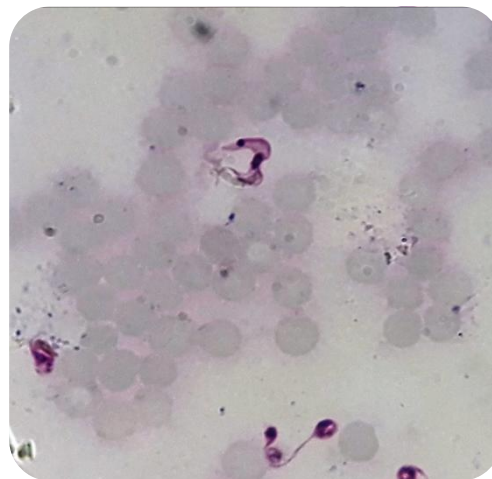
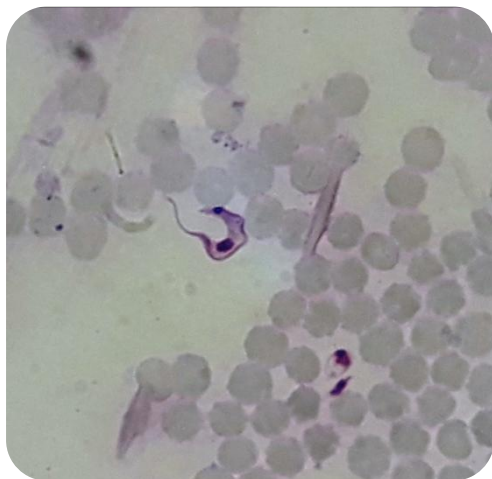


Foto 1

Foto 2

Tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi* (1000x)
Coloración de May Grunwald - Giemsa

Gota fresca: Se coloca una gota de sangre periférica sin coagulante en el centro del preparado entre cubreobjetos y portaobjetos y se observa al microscopio con 400x. Se visualiza un desplazamiento de hematíes como consecuencia de los movimientos activos de los de los tripomastigotes de *T. cruzi*.

Frotis: Se realizan frotis de sangre periférica sin anticoagulante y luego se colorea con Giemsa o May Grunwald Giemsa. Se observan al microscopio con 400x y 1000x los tripomastigotes en forma de C o S entre los hematíes. Estos presentan un kinetoplasto grande de color azul que sobresale de los márgenes del parásito en el extremo posterior con una membrana ondulante que termina en un flagelo libre. (Fotos 1 y 2)

Gota gruesa: Se colocan 2 o 3 gotas de sangre periférica sin anticoagulante en un portaobjetos y con un alfiler se realizan movimientos circulares para desfibrinar. Se deja secar 1 hora en estufa a 37°C y se colorea con Giemsa o May Grunwald Giemsa. Se observa al microscopio con 400x y 1000x. Se observan los tripomastigotes en un campo sin hematíes.

Método de Strout: Es un método de concentración de parásitos para lo cual se colocan en un tubo 3-5 ml de sangre periférica sin anticoagulante. Se centrifuga y se transfiere el suero con la capa de blancos a otro tubo, se centrifuga y se observa el sedimento en fresco.

Microstrout: Se cargan 8 capilares heparinizados de hematocrito, se sellan con plastilina o bien se cierran con calor. Se centrifugan 1 a 2 minutos a 4500 rpm. Cortar los capilares 1 a 2 mm por debajo del "buffy coat" descartando el paquete globular. Se descarga el plasma de cada capilar sobre portaobjetos, se colocan cubreobjetos y se observa al microscopio recorriendo todo el preparado con aumentos de 100x y 400x.

Cultivos: Se utilizan 30 ml de sangre recogida con heparina en días alternos. Los tripomastigotes contenidos en la sangre evolucionan a epimastigote en los medios de cultivos utilizados que pueden ser el NNN (Novy-McNeal-Nicolle) o bien el medio de LIT (Liver Infusion Tryptose) suplementado con un 20 % de suero bovino fetal. Posee una sensibilidad entre 40 a 50%. Se siguen los cultivos hasta los 60 días

Inoculaciones en animales: Se inoculan a ratones con 2 ml de sangre por vía intraperitoneal. Se sacrifican a los 60 días y se efectúan impresiones de corazón que luego se colorean con Giemsa o May Grunwald Giemsa.

Xenodiagnóstico: Para realizar la prueba, se colocan ninfas del tercer estadio estériles (libres de *T. cruzi*) de vinchucas ayunadas por 15 días en cajitas de madera, cerradas con tul y con un papel de filtro plegado embebido en agua. Las cajitas de madera se colocan sobre el antebrazo y muslos para que piquen al paciente por 45 minutos. (Foto 3 y 4)

A partir del día 30 y 60 para descartar, se examinan las deyecciones de los insectos para ver si contienen las formas metacíclicas del *T. cruzi*, y también se puede presionar el abdomen y observar al microscopio la presencia del parásito.



Foto 3



Foto 4

Cajas de madera: Xenodiagnóstico

Este método hoy se encuentra en desuso, y ha sido reemplazado por la técnica de PCR (reacción en cadena por la enzima polimerasa) que permite la amplificación de fragmentos de ADN del parásito, pero requiere infraestructura de mayor complejidad en comparación a los métodos antes vistos, puede ser positiva en pacientes con infección aguda y crónica.

En la etapa crónica (con o sin patología demostrada) se efectúa el diagnóstico observando la respuesta inmunológica. Se realizan dos pruebas serológicas normatizadas que posean fundamento distinto, trabajando sobre la misma muestra de suero. Pueden emplearse pruebas de aglutinación de partículas (por ejemplo Hemaglutinación indirecta, HAI), ELISA, IFI (Inmunofluorescencia indirecta). Para considerar el diagnóstico como definitivo el resultado de ambas pruebas debe ser coincidente (ambas reactivas o ambas no reactivas). En caso de discordancia se deberá realizar una tercera prueba con otro fundamento, o derivarla a un centro de referencia.

En el estudio particular de la enfermedad de Chagas vertical, las medidas de control clínico deben comenzar antes del nacimiento del bebé, estudiando a toda mujer embarazada a través de dos pruebas serológicas en paralelo (diagnóstico de fase crónica). Toda mujer que llegue al parto sin este estudio, debe realizarse el mismo durante su internación en el centro asistencial, verificando el resultado antes del alta. Si la mujer presenta serología reactiva, la misma deberá ser estudiada y evaluada; y se estudiará al recién nacido en los primeros meses de vida por métodos moleculares (PCR) en caso de estar disponibles, o bien por métodos directos. Si el resultado parasitológico es positivo, se deberá realizar el tratamiento etiológico, y en caso de ser no detectable por PCR o de no observarse parasitemia, una vez que desarrolle su sistema inmunológico, a partir de los 10 meses, se realizan métodos serológicos para completar el estudio, confirmando o descartando la infección vertical. No se recomienda el estudio por serología antes de los 8 meses de vida, dado que un resultado reactivo en dicho período, puede ser debido a una transferencia de anticuerpos maternos (ya que las IgG maternas pueden permanecer elevadas por mucho tiempo y atravesar la placenta) y no a una infección trasplacentaria. Una vez que se descarte la infección vertical por métodos serológicos (a partir de los 10 meses) el niño podrá ser dado de alta de seguimiento, y en el caso de confirmarse la misma, el niño deberá ser tratado.

Para que se produzca la infección transplacentaria debe existir parasitemia en la embarazada. Como *T. cruzi* genera en el hospedador una infección persistente, puede hallarse en sangre tanto en fase aguda como crónica, por lo que una embarazada puede transmitir el parásito en cualquier fase de la infección y además una madre infectada puede transmitir la infección en uno o más de sus embarazos.

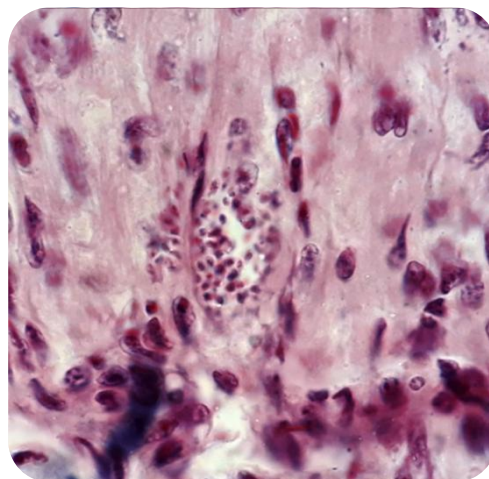
El diagnóstico de infección por *T. cruzi* en toda mujer en edad fértil, obliga al estudio y evaluación de toda su descendencia.

Prevención

Las medidas de prevención deben contemplar la interrupción de todas las formas de transmisión de la enfermedad, siendo de gran importancia la educación a la población, mejora de viviendas y sus entornos, así como también la capacitación y el compromiso de los distintos agentes involucrados en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los pacientes para evitar casos futuros. Se debe cumplir la ley nacional 26.281, para la detección precoz de la enfermedad de Chagas y su tratamiento, que declara obligatorio en todo el territorio de la República Argentina la realización de los estudios para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas: en la mujer embarazada y durante los primeros días de vida, a todo hijo nacido de una madre que padezca la enfermedad de Chagas, y en el resto de los hijos de la madre infectada.

Se ha implementado el control a través del diagnóstico en bancos de sangre, y es importante también controlar a donantes y receptores de órganos. (Foto 5)

Foto 5
Nido de amastigotes (1000x)
Amastigotes en fibra muscular cardíaca



En cuanto a las medidas de control sobre el vector, en la década de 1990 se realizaron campañas de fumigación y aplicación de pinturas con insecticidas. Dichas medidas han tenido éxito en nuestro país y otros como Brasil y Chile, encontrándose una disminución de los índices de infección de hasta un 87%, reduciéndose a un 96% la incidencia de casos agudos en 10 años.

Para evitar la transmisión oral se deben tener en cuenta las recomendaciones generales para la prevención de infecciones alimentarias, que incluyen la educación a las poblaciones de riesgo, implementar buenas prácticas en el procesamiento de los alimentos, desde la cosecha hasta su llegada al consumidor, la pasteurización o tratamiento químico de bebidas y alimentos

para la eliminación del agente infeccioso, y el desarrollo de técnicas para la detección temprana y la inhibición de la actividad del agente infeccioso antes de llegar al consumidor. La implementación de estas recomendaciones para la transmisión oral de *T. cruzi* se ve dificultada por el complejo acceso a las áreas selváticas, rurales o periurbanas donde se generan los brotes.

A las medidas antes descritas, se les suma el estudio de nuevas drogas que podrían ser utilizadas para un tratamiento eficaz además del desarrollo de vacunas, que aún no han dado resultados del todo satisfactorios.

Tratamiento

Las drogas utilizadas son nifurtimox y benznidazol, son drogas nitroheterocíclicas con actividad *in vitro* e *in vivo* contra *T. cruzi*, efectivas en fase aguda, tanto en niños como en adultos, y con efectividad en la fase crónica aún en discusión. Es aceptado que la respuesta terapéutica en niños es buena, por lo que se recomienda tratar a los pacientes pediátricos independientemente de la etapa de la enfermedad en la que se encuentren, siendo la curación en estos pacientes mayor al 80%.

Nifurtimox: 10 - 15 mg/kg/día, dividido en tres tomas, con un máximo de 720 mg diarios. Efectos adversos: principalmente es la falta de apetito y pérdida de peso, trastornos gastrointestinales como náuseas y vómitos, alteraciones en sistema nervioso central y periférico, dando excitación psíquica, insomnio y polineuritis.

Benznidazol: 5 – 8 mg/kg/día, dividido en 2 tomas, con un máximo de 300 mg diarios. Efectos adversos: reacciones cutáneas, principalmente eczema y prurito, trastornos gastrointestinales y polineuropatías, vértigo, síndrome febril, cefaleas.

Los efectos adversos con el uso de ambas drogas, son más frecuentes en pacientes adultos, mientras que son leves y raros en los niños.

Referencias

- Altcheh J., Moscatelli G., Moroni S., Garcia Bournissen F., Freilij H. Adverse Events After the Use of Benznidazole in Infants and Children With Chagas Disease. *Pediatrics*, 2011; 127(1):212-8.
- Becerril Flores MA., Romero Cabello R. *Parasitología Médica, de las moléculas a la enfermedad*, 4ta edición. México. Ed. Mc Graw Hill-Interamericana, 2014
- Botero D., Restrepo M. *Parasitosis Humanas*. 5ta edición. C.I.B. Medellín, Colombia, 2012.
- Duffy T, Cura CI, Ramirez JC, Abate T, Cayo NM, et al. Analytical Performance of a Multiplex Real-Time PCR Assay Using TaqMan Probes for Quantification of *Trypanosoma cruzi* Satellite DNA in Blood Samples. *PLoS Negl Trop Dis*, 2013; 7(1):e2000. doi:10.1371/journal.pntd.0002000

- García Bournissen F, Moroni S, Marson ME, Moscatelli G, Mastrantonio G, Bisio M *et al.* Limited infant exposure to benznidazole through breast milk during maternal treatment for Chagas disease. *Arch Dis Child*, 2014; 0:1–5. doi:10.1136/archdischild-2014-306358.
- Gutiérrez Sotelo O. Disautonomía y enfermedad de chagas. *Rev. Costarricense de Cardiología*, 2018; 20(3):16-8.
- Ministerio de Salud Instituto Nacional de Parasitología "Dr Mario Fatała Chabén". Normas para el diagnóstico de la Infección por *Trypanosoma cruzi*. 2012
- Ministerio de Salud Algoritmos de diagnóstico y tratamiento para el control de las infecciones perinatales por VIH, sífilis, hepatitis B y Chagas. Iniciativa ETMI-PLUS. Argentina 2022
- Ministerio de Salud Curso sobre Enfermedades Vectoriales para Agentes Comunitarios en Ambiente y Salud. Módulo V: Chagas. 2022
- Moscatelli G, Moroni S, García-Bournissen F, Ballering G, Bisio M, Freilij H, *et al.* Prevention of congenital Chagas through treatment of girls and women of childbearing age. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 2015; 110(4):507-9.
- Muñoz Casas del Valle P. Tratamiento y seguimiento de la enfermedad de Chagas en pacientes inmunocomprometidos. *Rev Chilena Infectol*, 2017; 34(1):67-8.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS) Guía para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Chagas. 2018. ISBN: 978-92-75-32043-3.
- Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud (OMS). Síntesis de evidencia: Guía para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Chagas. *Rev Panam Salud Publica*, 2020; 44:e28. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.28>.
- Pérez Yanez LM, Gutiérrez López A, Rodríguez Blanco S, Gil Sarduy A. Enfermedad de Chagas. Amenaza en sombras para los corazones de la América Latina. *Rev Cubana de Medicina*, 2017; 56(1):50-68.
- Rueda K, Trujillo JE, Carranza JC, Vallejo GA. Transmisión oral de *Trypanosoma cruzi*: una nueva situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países suramericanos. *Biomédica*, 2014; 34:631-41.
- Saredi NG. Manual práctico de Parasitología Médica. 2da Edición, Buenos Aires, Argentina. Laboratorio Andrómaco, 2008.
- Storino RA. y col. Chagas en el siglo XXI, De la enfermedad a la problemática social. Buenos Aires, Argentina. Ed. Librería Akadia, 2010.
- Xavier SCdC, Roque ALR, Bilac D, de Araujo VAL, Neto SFdC, *et al.* Distantiae Transmission of *Trypanosoma cruzi*: A New Epidemiological Feature of Acute Chagas Disease in Brazil. *PLoS Negl Trop Di*, 2014; 8(5):e2878. doi:10.1371/journal.pntd.0002878
- Zabala JP. Historia de la enfermedad de Chagas en Argentina: evolución conceptual, institucional y política. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*, Rio de Janeiro, 2009; 16 (1): 57-74.

Caso clínico 1

Se presenta a la consulta un bebé de 1 mes de vida, hijo de madre cursando enfermedad de Chagas crónico confirmado por serología, quien vive en Buenos Aires desde el año 2003 y es oriunda de una zona rural de la provincia de Salta, donde aún reside el resto de su familia.

Preguntas

a) ¿Qué muestra solicita para realizar diagnóstico de enfermedad de Chagas en este bebé de 1 mes? Explique el método diagnóstico que emplearía. ¿Por qué?

b) El bebé de la pregunta a) resulta positivo, con lo cual cursa enfermedad de Chagas vertical, la mamá refiere que sus hermanos no fueron estudiados al nacer y tienen 2 y 5 años. ¿Qué conducta debe adoptarse frente a esta situación? Describa los métodos empleados para realizar el diagnóstico y la explicación de sus posibles resultados.

c) Teniendo en cuenta que los familiares de la mamá del bebé continúan viviendo en Salta, y considerando la posible vía de infección vectorial ¿Qué medidas de prevención le comunicaría para que puedan adoptar?

Caso clínico 2

Usted comienza a trabajar en un laboratorio de análisis clínicos y le encargan realizar el algoritmo para el estudio de enfermedad de Chagas vertical, con el fin de actualizar el manual de procedimientos de dicho laboratorio. Para llevarlo a cabo, tenga en cuenta a la madre y al recién nacido.

Trypanosoma rangeli

Este parásito flagelado del continente americano, afecta en particular a animales domésticos y selváticos. Se han descrito casos de infección humana, pero no causa enfermedad. Su importancia radica en que puede confundirse con *T. cruzi* al estudiar muestras sanguíneas ya que se solapan las áreas endémicas de ambas parasitosis.

Trypanosoma rangeli mide aproximadamente 30 μ de longitud y posee una membrana ondulante más desarrollada que *T. cruzi*. Presenta un pequeño kinetoplasto subterminal que permite diferenciarlo de aquel.

La transmisión se produce principalmente por la picadura de *Rhodnius prolixus* y la mayoría de los casos humanos se han informado en Venezuela, Colombia, Panamá, Guatemala, El Salvador y raras veces en Brasil.

Tripanosomiosis africana

Introducción

La tripanosomiosis africana, conocida también como enfermedad del sueño por producir graves afecciones de sistema nervioso central (SNC), se encuentra restringida al continente africano y es producida por parásitos clasificados en el subgénero *Trypanozoon*. Las especies se agrupan e identifican por isoenzimas y características de su DNA, distinguiéndose dos subespecies patógenas para el hombre, que se diferencian por la gravedad del cuadro clínico que producen y por la región del continente africano en donde se encuentran. La parasitosis se transmite por tres especies de *Glossina*: *G. palpalis*, *G. tachinoides* y *G. morsitans* (mosca tsé-tsé). (Fig. 1)

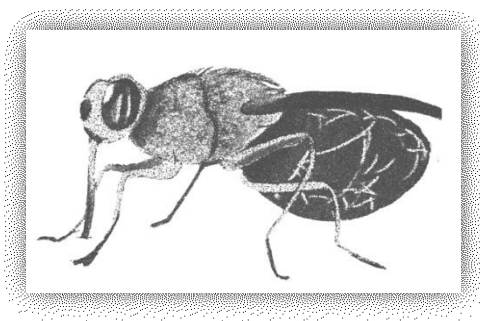
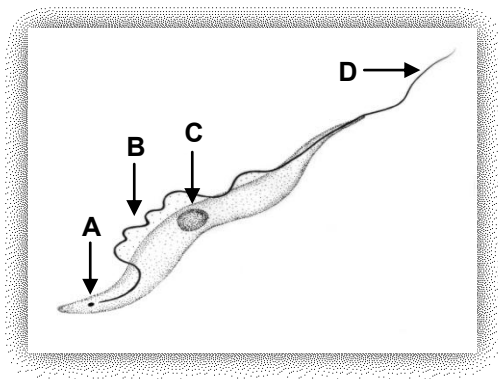


Fig. 1
Género *Glossina*

Agente etiológico

La tripanosomiosis africana es producida por un protozoo flagelado del género *Trypanosoma*. *Trypanosoma brucei rhodesiense* causa la forma más virulenta de la enfermedad, se encuentra principalmente en las regiones del este y sur de África, y en el centro y oeste se presenta *Trypanosoma brucei gambiense*. Existe otra subespecie que afecta a los mamíferos reservorios, salvajes y domésticos, pero no infecta al humano, denominada *Trypanosoma brucei brucei*. Los parásitos son polimórficos, algunos alargados y otros redondeados, miden entre 15 a 45 μ , poseen movimientos rápidos y continuos, pudiendo detectarse en sangre, líquidos tisulares o linfa de las personas infectadas. El tripomastigote tiene un núcleo central y un kinetoplasto puntiforme ubicado en el extremo posterior. Presenta una membrana ondulante, que es ancha y más notoria que en *T. cruzi* y un flagelo libre en el extremo anterior. En algunos casos se pueden observar granulaciones que se tiñen de azul pálido, conocidas como gránulos de volutina. (Fig. 2)

Fig. 2
Tripomastigote de *T. brucei brucei*
A: Kinetoplasto
B: Membrana ondulante
C: Núcleo
D: Flagelo



Ciclo de vida

Los tripomastigotes circulantes en la sangre de los mamíferos infectados, sirven como fuente de infección para los vectores, moscas picadoras del género *Glossina*, donde se reproducen activamente en el intestino medio y posterior, hallándose tripomastigotes y epimastigotes. Luego de 10 a 15 días de una intensa multiplicación por fisión binaria, los parásitos migran a las glándulas salivares, donde se adhieren al epitelio y se multiplican nuevamente. Las moscas, que pueden ser tanto hembras como machos, inyectan con la saliva a las formas infectivas, tripomastigotes metacíclicos que alcanzan la sangre del hospedador, en donde se multiplican, se transforman en circulantes, y alcanzan otros fluidos (linfa, LCR). Todo el ciclo transcurre fuera de las células de los hospedadores y la reproducción es siempre por fisión binaria.

Manifestaciones clínicas

La forma clínica dada por *T. brucei gambiense* es de curso crónico, progresa lentamente durante varios años. En la fase temprana de la infección, que tiene un período de incubación de unos días a unas semanas, cursa con síntomas inespecíficos como fiebre intermitente, esplenomegalia, linfadenomegalia y en ocasiones en el sitio de la picadura se produce el chancro de inoculación; además pueden presentarse mialgias y fatiga sin causa aparente. Luego la infección puede ser controlada por el sistema inmunitario o evolucionar a una invasión de tejido linfático. A medida que el parásito invade el SNC en la fase crónica, hay deterioro mental progresivo, falta de coordinación, ataxia, que pueden aparecer tras unos meses después. Los pacientes experimentan somnolencia progresiva y dejan de alimentarse y hablar, llegando a un estado de coma si no se instaura el tratamiento. En los estados finales se observa un importante deterioro mental, incontinencia urinaria y/o fecal, convulsiones, hemiplejía, conduciendo a coma y muerte.

La enfermedad causada por *T. brucei rhodesiense*, la mayoría de las veces se presenta en forma aguda, con síntomas graves que producen la muerte en pocos días o semanas. Aparece fiebre y parasitemia a los pocos días de la infección, se presenta con linfadenitis en particular submaxilares, axilares o inguinales. Se observan similares signos y síntomas de afectación del SNC que para *T. brucei gambiense*, pero progresa con gran rapidez.

Diagnóstico

El mismo consiste en la observación directa o previa concentración del parásito en sangre, LCR, médula ósea y aspirado del chancro inicial o de ganglio linfático. (Foto 1 y 2)



Foto 1

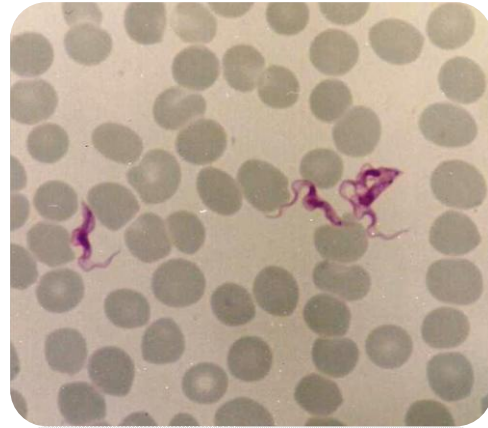


Foto 2

Tripomastigote de *Trypanosoma brucei*

Cuando no es posible observar parásitos por estos métodos, se pueden utilizar cultivos o inoculaciones en animales, detección de antígenos o DNA por PCR y pruebas serológicas.

Referencias

- Becerril Flores MA., Romero Cabello R. Parasitología Médica, de las moléculas a la enfermedad, 4ta edición. México.Ed. Mc Graw Hill-Interamericana, 2014
- Botero D., Restrepo M. Parasitosis Humanas. 5ta edición. C.I.B. Medellín, Colombia, 2012.