



UNIVERSIDAD VERACRUZANA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL

“SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A *Trypanosoma cruzi* EN PERROS DE COMUNIDADES RURALES DEL MUNICIPIO DE LA ANTIGUA, VERACRUZ, MÉXICO”

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MAESTRO EN CIENCIA ANIMAL

PRESENTA:

MVZ. MARÍA EUGENIA RUIZ AGUILAR

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Belisario Domínguez Mancera

Co-DIRECTOR:

Dra. Dora Romero Salas

Director externo

Dr. Zeferino García Vázquez

VERACRUZ, VER.

MARZO, 2015

“SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A *Trypanosoma cruzi* EN PERROS DE COMUNIDADES RURALES DEL MUNICIPIO DE LA ANTIGUA, VERACRUZ, MÉXICO”

POR

María Eugenia Ruíz Aguilar

Tesis propuesta al Colegio de Profesores del Posgrado de la

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la

Universidad Veracruzana

Como requerimiento parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

Marzo 2015

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	iv
INSTITUCIONES DONDE SE DESARROLLÓ LA INVESTIGACIÓN.....	v
RECONOCIMIENTO DE BECA.....	vi
RECONOCIMIENTOS.....	vii
ÍNDICE.....	viii
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii

DEDICATORIA

Con todo mi cariño y mi amor a los mejores papás del mundo Ignacio Ruiz y Maribel Aguilar, a mi hermana Ximena, que gracias a ellos soy todo lo que soy ahora, mis principios, mis valores, mi carácter, mi perseverancia, gracias por todo el amor y cariño.

A mis amigos y a las personas que la vida me ha puesto en el camino.

A todos ustedes gracias por hacer lo posible para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando lo necesitaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento. Los quiero

A mis compañeros de maestría, simplemente los mejores compañeros que pude haber tenido, siempre unidos y apoyándonos cuando lo necesitábamos. Sin duda alguna de las mejores etapas que he tenido en mi vida.

En especial a Mago y Marisa por el apoyo que siempre tuve de ustedes para realizar el proyecto, por toda la ayuda con el muestreo y por no dejarme solita y Jesús Colorado por la ayuda brindada, la paciencia y apoyo en la redacción. Muchas gracias

Esta tesis se desarrolló en las instalaciones de la Universidad Veracruzana en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia bajo la supervisión de la Dra. Dora Romero Salas y en el laboratorio de Enfermedades Transmitidas por Vectores perteneciente al Centro de Investigación en el Instituto Nacional de Salud Pública Sobre Enfermedades Infecciosas bajo la supervisión del Dr. Celso Ramos García y del Ing. Cruz Portugal García.

La autora del presente trabajo fue beneficiada con una beca para estudiar el programa de Maestría en Ciencia Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana. El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) aportó los recursos de manutención en el periodo comprendido de agosto 2012 a julio de 2014, con número de becario: 279737.

RECONOCIMIENTOS

A la Universidad Veracruzana. Por ser la institución que me abrió sus puertas para mi formación profesional.

Al programa de Maestría en Ciencia Animal. Por permitirme obtener el grado, así como también llevar a cabo mi proyecto y desarrollo profesional

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Por ser la casa que me formó académicamente y apoyarme en la realización de este trabajo.

Al **Laboratorio de Parasitología**, a cargo de la **Dra. Dora Romero Salas**, por brindarme las puertas para la realización de este proyecto, gracias a usted y su equipo de trabajo.

Al **Dr. Belisario Domínguez Mancera**. Gracias por todos aquellos momentos en que me brindó su apoyo, conocimiento y tiempo; siempre le estaré agradecida.

A mi Co-Directora **Dra. Dora Romero Salas**. Gracias por la confianza y por todo el apoyo que me brindó para la realización de mi proyecto y ayudarme a ser una mejor profesionista.

A mi Director externo **Dr. Zeferino García Vázquez**. Gracias por su tiempo y dedicación para la realización de este trabajo.

Al **Dr. Celso Ramos García** y al **Ing. Cruz Portugal García**. Por sus conocimientos, paciencia y tiempo brindados en el **Instituto Nacional de Salud Pública** durante todo este camino, gracias por siempre preocuparse en este proyecto y brindarme todo su apoyo desinteresadamente.

A la **Dra. Anabel Cruz Romero**. Por brindarme tiempo, consejos y apoyo en la realización de este proyecto.

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES.....	3
1.1.1 Morfología	3
1.1.2 Clasificación Taxonómica	4
1.2 Hospederos.....	5
1.3 Vectores.....	5
1.4 Ciclo biológico	6
1.5 Epidemiología de los Triatóminos	7
1.6 Epidemiología de la Enfermedad de Chagas	7
1.7 Mecanismos de Transmisión de la Enfermedad de Chagas	8
1.7.1 Vectorial.....	8
1.7.2 Transfusión sanguínea.....	8
1.7.3 Transmisión congénita.....	8
1.7.4 Trasplantes de órganos	9
1.7.5 Transmisión oral.....	9
1.7.6 Accidentes en el laboratorio de investigación	9
1.8 Fases clínicas de la Enfermedad de Chagas	9
1.8.1 Fase aguda.....	10
1.8.2 Fase indeterminada	11
1.8.3 Fase crónica.....	11
1.9 Formas Clínicas de la Enfermedad de Chagas en perros	11
1.10 Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas	13
1.11 Distribución de la Enfermedad de Chagas a nivel mundial	13
1.12 Distribución de la Enfermedad de Chagas en México.....	14
1.13 Estudios sobre la Enfermedad de Chagas en los perros en Sudamérica ..	15
1.14 Estudios sobre la Enfermedad de Chagas en perros en la República Mexicana	17
JUSTIFICACIÓN.....	20
OBJETIVO GENERAL.....	22
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
2. MATERIAL Y MÉTODOS	23

2.1	Diseño del estudio	23
2.2	Lugar de estudio.....	23
2.3	Selección de los animales	23
2.4	Tamaño de la muestra.....	23
2.5	Toma de muestra sanguínea	24
2.6	Técnicas para el diagnóstico serológico en los perros	24
2.6.1	Ensayo Inmuno Enzimático (ELISA)	24
2.6.2	Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)	25
2.8	Determinación de la seroprevalencia	26
2.9	Determinación de la Razón de Momios (RM)	26
2.10	Análisis estadístico	27
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
3.1	Seroprevalencia de anticuerpos contra <i>T.cruzi</i> mediante le técnica de ELISA....	28
3.2	Determinación de factores de riesgo.....	33
	ANEXO	38

LISTA DE CUADROS

CUADRO 1.	Clasificación taxonómica.....	6
CUADRO 2.	Seroprevalencia de anticuerpos contra T. cruzi mediante la prueba tamiz de ELISA en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz.....	28
CUADRO 3.	Seroprevalencia de anticuerpos contra T. cruzi mediante la prueba tamiz de ELISA en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz, acuerdo a la edad.....	29
CUADRO 4.	Seroprevalencia de anticuerpos contra T. cruzi mediante la prueba tamiz de ELISA en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz, de acuerdo al género.....	29
CUADRO 5.	Seroprevalencia de anticuerpos contra T. cruzi mediante la prueba confirmatoria de IFI en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz.....	30
CUADRO 6.	Seroprevalencia de anticuerpos contra T. cruzi mediante la prueba confirmatoria de IFI en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz, acuerdo a la edad.....	32
CUADRO 7.	Análisis bivariado para determinar factores de riesgo asociados a T. cruzi en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz.....	32
CUADRO 8.	Modelo de regresión logística para determinar factores de riesgo asociados a T. cruzi en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz.....	34

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Morfología <i>Trypanosoma. Cruzi</i>	4
FIGURA 2.	Distribución de triatóminos en la República Mexicana.....	5
FIGURA 3.	Ciclo biológico de <i>Trypanosoma cruzi</i>	6
FIGURA 4.	Signo temprano de Romaña.....	10
FIGURA 5.	Consunción y atrofia de grandes masas musculares.....	12
FIGURA 6.	Megacolon y vejiga distendida.....	13
FIGURA 7.	Distribución de la Enfermedad de Chagas a nivel mundial.....	14

RESUMEN

Ruiz Aguilar María Eugenia. MCA, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana. Marzo 2015. **Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a *Trypanosoma cruzi* en perros de comunidades rurales del municipio de la Antigua, Veracruz, México.** Director Dr. Belisario Domínguez Mancera, Co-Directora Dra. Dora Romero Salas.

La enfermedad de Chagas es una enfermedad zoonótica causada por *Trypanosoma cruzi*, la cual es transmitida por chinches del género *Triatoma dimidiata* considerada como el principal vector en Veracruz. Los perros en las comunidades rurales de las zonas endémicas son los principales hospederos y pueden servir de centinelas en los programas de vigilancia de esta enfermedad. El presente estudio se realizó para determinar la presencia de *T. cruzi* en perros de comunidades rurales en el municipio de la Antigua, Veracruz, México. Se utilizó el programa Win Episcope Ver 2.0 para determinar el tamaño de muestra ($n=340$), utilizando el 50% de seroprevalencia, 95% de confianza, y un margen de error de 5%. Se seleccionaron perros procedentes de 10 localidades en el municipio de La Antigua, Veracruz durante febrero a octubre de 2013. Para la identificación de anticuerpos contra *T. cruzi* se utilizó el diagnóstico de ELISA como prueba tamiz y como confirmatoria IFI. Los datos fueron analizados con estadística descriptiva utilizando el programa STATA, versión 11.0. Los resultados obtenidos por ELISA fueron: seroprevalencia general de 19.4% (66/340; IC95% 15.4-24.1), las localidades con mayor seroprevalencia específicas fueron La Posta, con 52.9% (18/34; IC95% 35.4-69.8), José Ingenieros y San Pancho con 38.2% (13/34; IC95%: 22.6 a 56.3). Las localidades con menor seroprevalencia fueron Hatillo y Playa Oriente, con el 2.9% (1/34; IC95%:0.1-17.0). Los resultados obtenidos por IFI fueron: seroprevalencia general de 9.4% (32/340; IC95% 6.6-13.1), las localidades con mayor seroprevalencia específica fueron La Antigua y José Ingenieros con 20.6% (7/34; IC95% 9.3–38.4) respectivamente y La Posta 14.7% (5/34; IC95%: 5.5 – 31.8). Las localidades con menor seroprevalencia fueron Hatillo y Playa Oriente, con el 2.9% (1/34; IC95%:0.1-17.0). Debido a que se trata de una zoonosis de importancia en países tropicales, y a la gran convivencia de los perros con los humanos, especialmente los niños, se considera de gran importancia realizar estudios que permitan conocer el estado de salud de las mascotas y sobre todo en zonas rurales marginadas. En esta investigación se pudo evidenciar que los perros de las comunidades rurales del municipio de la Antigua están infectados con *T. cruzi*.

ABSTRACT

Ruiz Aguilar, María Eugenia. Master of Animal Science degree, School of Veterinary Medicine and Animal Husbandry, University of Veracruz. Veracruz, Mexico, March 2015. **Seroprevalence and risk factors associated with *Trypanosoma Cruzi* in dogs from rural communities in La Antigua, Veracruz, Mexico.** Director Dr. Belisario Domínguez Mancera, Co-Director Dr. Dora Romero Salas, External Director Zeferino García Vázquez.

Chagas disease is a zoonotic disease caused by *Trypanosoma cruzi*, which is transmitted by bugs of the genus *Triatoma dimidiata* considered as the main vector in Veracruz. Dogs from rural communities in endemic areas are the main hosts and can serve as sentinels in monitoring programs for this disease. The present study was performed to determine the presence of *Trypanosoma cruzi* in dogs from rural communities in the municipality of Antigua, Veracruz, Mexico. Win Episcope Ver 2.0 program was used to determine the sample size ("n" = 340) using 50% seroprevalence 95% confidence level and a margin of error of 5%. Dogs from 10 different locations were selected in La Antigua, Veracruz from February to October 2013. Serum was obtained from blood samples for individual tests by ELISA for antibodies against *Trypanosoma cruzi* and IFI as a confirmatory test. Data was analyzed with descriptive statistics using STATA software, version 11.0. ELISA results were: overall seroprevalence 19.5% (66/340; 95% CI 15.4-24.1), localities with the highest seroprevalence were La Posta, with 52.9% (18/34; 95% CI 35.4-69.8), José Ingenieros and San Pancho with 38.2% (13 / 34; 95% CI: 22.6 to 56.3). Localities with low seroprevalence were Hatillo and Playa Oriente with 2.9% (1/34; 95% CI: 0.1-17.0). In the other hand, IFI results were: overall seroprevalence of 9.4% (32/340; 95% CI 6.6-13.1) and localities with high seroprevalence were José Ingenieros 20.6% (7/34; 95% CI 9.3-38.4), La Antigua 20.6% (7/34; 95% CI: 9.3-38.4) and La Posta 14.7% (5/34; 95% CI: 5.5 - 31.8). Localities with low seroprevalence were Hatillo and Playa Oriente with 2.9% (1/34; 95% CI: 0.1-17.0). Since it is an important zoonosis in tropical countries, and in rural areas several dogs live in close interaction with families, especially children, it is necessary to continue with this type of studies. The results of this research showed that dogs from rural communities in the municipality of La Antigua are infected with *Trypanosoma cruzi*.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas (EC) es una parasitosis zoonótica de gran importancia ya que es considerada como un problema de salud, económica y laboral en la población, afecta a la mayoría de los países de América Latina en donde la enfermedad es endémica (Berrizbeitia *et al.*, 2013). El agente causal de la EC es el *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), un protozoo que pertenece al Orden *Kinetoplastida*, Familia *Trypanosomatidae*, Género *Trypanosoma* (Schofield y Galvão, 2009). Entre los estudios más recientes del continente americano, reportan que aproximadamente entre 7 y 10 millones de personas están infectadas con *T. cruzi* y se presentan aproximadamente 50.000 nuevos casos anualmente; afecta principalmente en áreas rurales y recientemente se ha observado un aumento importante en áreas urbanas y periurbanas (Senior, 2007; WHO, 2011).

En México, la seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* es de 1.6%, encontrándose casos seropositivos en la República Mexicana. A partir de datos recientes colectados en el Censo Nacional (INEGI, 2010), se demostró que la población del país es de 112.3 millones de habitantes, de los cuales aproximadamente 1.79 millones pueden estar infectados con *T. cruzi* (Galaviz *et al.*, 2009).

La importancia que resalta la EC y el agente etiológico de *T. cruzi*, se encuentra en la naturaleza de la enfermedad que afecta no sólo a humanos, sino también a gran diversidad de animales silvestres, sinantrópicos y domésticos; entre ellos los armadillos, roedores, marsupiales, y perros. La infección de estos reservorios puede ocurrir por ingesta de triatóminos contaminados o por sus heces cuando este parásitose alimenta de ellos en la naturaleza. Los perros se consideran un indicador de la transmisión activa, ya que los cánidos infectados y la presencia de vectores incrementan el factor de riesgo para las personas; así mismo, la presencia de un perro infectado y la presencia de un triatomino en una vivienda, incrementa el riesgo de la infección en niños (Gurtler *et al.*, 1996; Caliari *et al.*, 2002). Los reservorios, como componentes asociados al ciclo de transmisión de esta parasitosis, cumplen igualmente esta dinámica (Webster *et al.*, 2007).

Desde que fue descubierta la EC, también fue descubierto casi a la brevedad que los perros son reservorios importantes del *T. cruzi*, ya que en la mayoría están presentes

como compañía y guardia en los hogares, especialmente en zonas rurales, en estas áreas los perros entran y salen con mucha facilidad de la vivienda, debido a la construcción precaria del material con el cual se encuentran construidas. En las épocas más críticas de frío o lluvias, los perros buscan una zona de refugio y si estos se encuentra en una zona endémica con triatóminos hematófagos, al entrar al interior de la casa, tienen una alta probabilidad de contagiarse y llevar consigo una chinche que pueda estar infectada con *T. cruzi*, lo cual puede ser un factor de riesgo en la transmisión de la EC para el hombre (Gurtler et al., 2007).

Estudios reportados desde México hasta Argentina han demostrado seroprevalencias en perros que van desde 1% hasta 50%, con mayor frecuencia en estos animales víctimas de la infección, lo que ayuda a la proliferación y amplificación de la infección para los vectores cercanos al animal. También existen estudios en áreas endémicas que reportan elevadas prevalencias de la EC en humanos, asociada con tener tan solo un perro en sus casas (Gurtler et al., 1996; 2007).

En México existen pocos estudios que reportan sobre la infección natural de *T. cruzi* en perros domésticos, en áreas en donde se han reportado triatóminos hematófagos que transmiten al agente etiológico, sin embargo, se encuentran prevalencias que en comparación con los seres humanos se ha reportado prevalencias que resaltan en los estudios recientes realizados en diferentes entidades de la República Mexicana, como la de Jiménez-Coello et al. (2008 y 2010) en el estado de Yucatán, que reportan una prevalencia de 17% y 34% en un área urbana.

1. ANTECEDENTES

1.1 Agente etiológico *Trypanosoma cruzi*

El *Trypanosoma cruzi* es un protista de la clase Zoomastigophora, familia *Trypanosomatidae*, caracterizado por la presencia de un solo flagelo y una sola mitocondria, cuyo genoma se encuentra ordenado en una compleja y compacta región (dentro de la propia mitocondria, y cerca de la base del flagelo), denominada cinetoplasto. Es un parásito intracelular con un ciclo de vida que involucra vertebrados e invertebrados y es el agente etiológico responsable de la enfermedad de Chagas (Arzube, 2000).

1.1.1 Morfología

El ciclo de vida de *T. cruzi* se describe de acuerdo a sus tres formas morfológicas como: epimastigote, tripomastigote (metacíclico y sanguíneo) y amastigote (Texeira et al., 2012).

El amastigote tiene un diámetro de 2.5 a 6.5 μm , carece de flagelo y por lo tanto de movimiento; tiene un gran núcleo cerca del cual se encuentra el cinetoplasto a manera de disco. Es la forma intracelular del parásito y se multiplica por fisión binaria simple en el hospedador vertebrado. El epimastigote es fusiforme y mide de 6-15 μm de largo, el flagelo emerge de la parte media del parásito y forma una membrana ondulante más pequeña que la observada en los tripomastigotes, vive en el tracto intestinal del invertebrado como extracelular. Su forma replicativa es por fisión binaria longitudinal y se ubica en el intestino medio y recto del insecto hematófago. El tripomastigote metacíclico es flagelado de cuerpo alargado que mide de 20-25 μm de longitud, el núcleo central se ubica el cinetoplasto y la bolsa flagelar de donde surge el flagelo y que contornea una membrana ondulante, en este estadio no hay división binaria. El parásito es extracelular y se ubica en el torrente sanguíneo y es la forma infectante del parásito que se encuentra en las heces de los triatóminos (Texeira et al., 2012) (Figura 1).

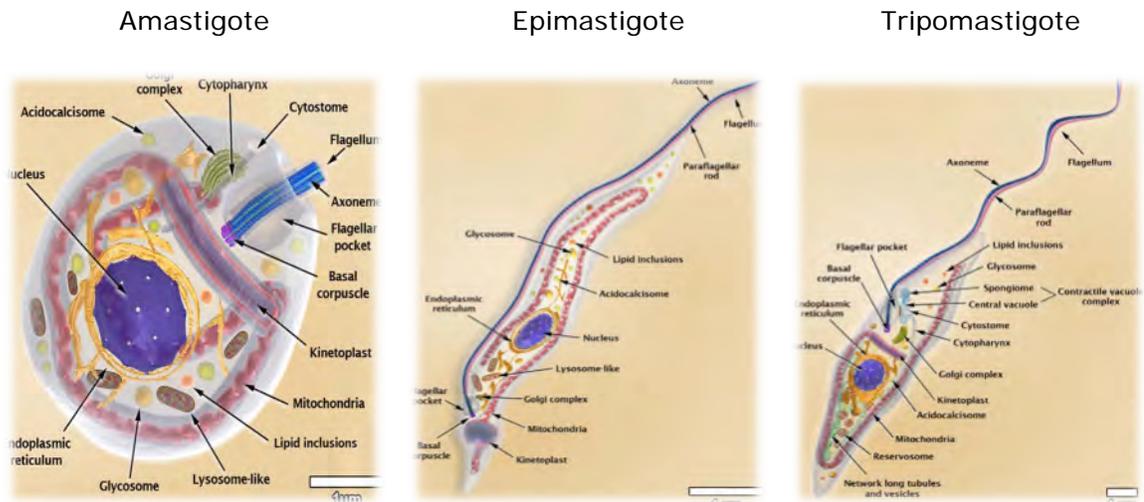


Figura 1. Morfología *T. cruzi* (Texeira et al., 2012).

1.1.2 Clasificación Taxonómica

El *T. cruzi* es un protozoo que durante su ciclo biológico depende de dos hospederos: insectos de la familia *Reduviidae* y gran diversidad de mamíferos silvestres y domésticos, así como los roedores, como reservorios incluyendo al ser humano (Tibayrenc, 2003).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica

Reino:	Protista
Filo:	Euglenozoa
Sub filo:	Mastigophora
Clase:	Sarcomastigophora
Orden:	Kinetoplastida
Familia:	Trypanosomatidae
Género:	Trypanosoma
Especie:	cruzi

Fuente: Tibayrenc et al., 2003

1.2 Hospederos

El principal hospedero es el hombre y todo aquel que el transmisor tenga más a su alcance para alimentarse. El perro por ejemplo, al encontrarse en el peridomicilio inicialmente estará en contacto con el triatómino antes de entrar a la vivienda. Todos los mamíferos son susceptibles de padecer esta infección. En México, se han reportado los siguientes hospederos: ardilla, armadillo, cerdo, gato, tlacuache y perro principalmente (Ibarra et al., 2009).

1.3 Vectores

El parásito es transmitido por artrópodos hematófagos (triatóminos) conocidos dependiendo de la región como chinche hocicona, besucona o voladora, entre otros. El tamaño de estos triatóminos es de 0.5 a 5cm (Ibarra et al., 2009).

En México, la enfermedad es transmitida por insectos en el 96% de los casos (Ramsey et al., 2003) y a diferencia de otros países donde solo uno o dos transmisores son de importancia epidemiológica, existe una gran diversidad de especies pertenecientes a ocho géneros (*Belminus*, *Dipetalogaster*, *Eratyrus*, *Meccus*, *Panstrongylus*, *Paratriatoma*, *Rhodnius* y *Triatoma*) (Ibarra et al., 2009).

Las especies de mayor importancia epidemiológica por su capacidad para transmitir *T. cruzi* son: *Rhodnius prolixus* Stal, *Triatoma barberi* Usinger, *Triatoma dimidiata* (Latreille), *Triatomalongipennis* Usinger, *Triatoma phyllosoma* (Burmeister) y *Triatoma picturata* Usinger (Zarate y Zarate, 1985). No obstante, la chinche *T. dimidiata* es la principal especie transmisora en el Sur de México (Figura 2).



Figura 2. Distribución de triatóminos en la República Mexicana (Portugal et al., 2011).

1.4 Ciclo biológico

El ciclo inicia cuando un triatómino infectado, succiona sangre del mamífero y libera con sus heces u orina tripomastigotes metacíclicos cerca del sitio de la picadura. Los tripomastigotes penetran en el hospedero a través de la herida o a través de las mucosas. Dentro del hospedero, los tripomastigotes metacíclicos invaden las células nucleadas cerca del lugar de la inoculación, donde se diferencian en amastigotes intracelulares, estos se multiplican por fisión binaria y cuando ocupan el citoplasma celular, se diferencian en triomastigotes que se liberan en los espacios intercelulares, la linfa y finalmente a la circulación sanguínea como tripomastigotes sanguíneos. Los tripomastigotes no se dividen, necesitan invadir nuevas células nucleadas y completar un nuevo ciclo intracelular para dividirse como amastigotes.

Estos tripomastigotes infectan células de una gran variedad de tejidos incluyendo macrófagos y células de intestino, sistema nervioso central, músculo liso o tejido adiposo (Ibarra et al., 2009; Esch and Petersen, 2013) (Figura 3).

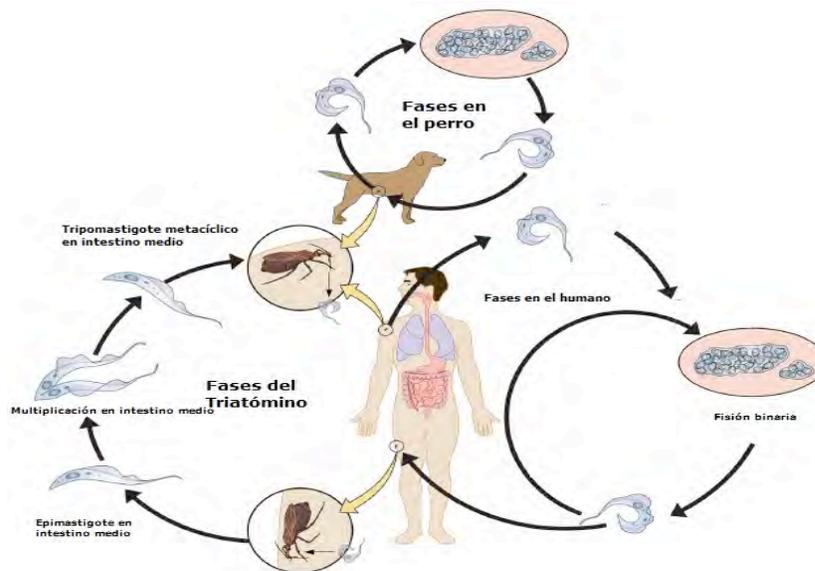


Figura 3. Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi* (Esch and Petersen, 2013).

1.5 Epidemiología de los Triatóminos

Se cree que la importancia epidemiológica de los triatóminos en la República Mexicana se basa en su amplio grado de adaptabilidad, debido a que habitan diversos ecosistemas, incluyendo selvas húmedas y secas (Zeledón et al., 2001), a diferentes altitudes (0-1750 msnm) (Tabaru et al., 1999), utiliza diversas fuentes alimenticias así como también tiene alta diversidad de sitios de descanso (Petana, 1971; Zeledón et al., 2001), presenta gran capacidad de colonización de las viviendas (Arzube, 1966; Zeledón et al., 1973), alta longevidad y capacidad de dispersión (Campos, 1931; Schofield, 2009). Varios de estos factores tienen un efecto directo sobre las tasas de transmisión de *T. cruzi* a humanos.

La transmisión se presenta con mayor frecuencia en las zonas rurales, donde existe una alta proporción de viviendas en condiciones propicias para dar refugio a las chinches. Esas condiciones están dadas principalmente por la cercanía de las casas con los ambientes silvestres, por las actividades antrópicas (principalmente la caza, el acarreo de leña hacia los domicilios y la deforestación) y la gran cantidad de reservorios domésticos disponibles (Zeledón et al., 2001). Comúnmente, los triatóminos invaden las casas durante la noche al ser atraídos por la luz y colonizan las viviendas ocultándose en las grietas y hendiduras de las casas (Metcalf, 1975; Acha y Szyfres, 1996). Los animales domésticos funcionan como hospederos intermedios entre los animales silvestres y los humanos (Ramsey et al., 2000; Vidal-Acosta et al., 2000; Peterson et al., 2002).

1.6 Epidemiología de la Enfermedad de Chagas

La distribución geográfica de la EC, incluyendo a sus reservorios y sus vectores, se ha descrito en casi todo Latinoamérica, desde los Estados Unidos de Norte América hasta los países de Argentina y Chile (Coura et al., 2009). La EC tiene una importancia de infección tropical, una gran carga en la morbilidad, un alto nivel social e impacto económico en zonas endémicas (WHO, 2002; Segura, 2006; Silveira, 2011). En los estudios reportados se estima que se encuentran infectados con el *T. cruzi* de 7-10 millones de personas y que aproximadamente el 33% puede desarrollar la etapa crónica de la enfermedad, inclusive existen reportes en donde refieren que esta EC representa el 25% de las muertes en los grupos de 25-45 años de edad, al mismo tiempo, se considera que 25 millones de personas están expuestos al riesgo con una

incidencia aproximado de 1 millón de casos y 21 000 personas mueren cada año (Moncayo et al., 2009; WHO, 2011; Carabarin et al., 2013). La EC es un problema de salud pública en gran parte de los países endémicos del continente americano y una enfermedad emergente en parte de Europa, ya que en las dos últimas décadas, por la migración de miles de personas asintomáticas provenientes de zonas rurales de América del sur y centro a los países desarrollados, ha cambiado la relevancia de resultados epidemiológicos de la enfermedad (Bern, 2007).

1.7 Mecanismos de Transmisión de la Enfermedad de Chagas

1.7.1 Vectorial

Es el mecanismo más común de transmisión de *T. cruzi* hacia los humanos y animales, a través de las heces infectadas de los triatóminos, cuando la chinche se alimenta, defeca en la piel o las mucosas cerca de donde pica dejando un pequeño orificio por donde penetran los parásitos y es el mecanismo de transmisión natural asociado de manera particular a las zonas rurales, también, en el ciclo selvático es común que mamíferos como los marsupiales, ratas, armadillos entre otros, se infecten por esta vía (Guhl et al., 2009).

1.7.2 Transfusión sanguínea

Actualmente por la emigración del hombre de zonas rurales a urbanas, sí bien reduce el número de personas expuestas al vector infectado, aumenta la probabilidad de transmisión por transfusión. Es la segunda vía de transmisión de importancia, anteriormente el problema se limitaba solo a Latinoamérica pero debido al gran número de inmigrantes, la enfermedad se ha estado distribuyendo a poblaciones, ciudades y países desarrollados no endémicos, países como Estados Unidos, Canadá, España, al igual que Japón y Australia (Schmunis, 1999; Schmunis, 2007).

1.7.3 Transmisión congénita

Aproximadamente del 1% de las gestantes con EC, tienen riesgo de transmitir la infección al producto. Este mecanismo congénito puede ocurrir del tercero al quinto

mes de embarazo, dependiendo de la colonización y daño de la placenta por el parásito, desde donde es capaz de infectar al feto (Segura et al., 1999; de Rissio et al., 2009).

1.7.4 Trasplantes de órganos

Hay poca información de casos reportados. Aunque también por esta vía existe la posibilidad de adquirir o reactivar la enfermedad latente (Pinto et al., 2004).

1.7.5 Transmisión oral

Es posible a través de la ingesta de triatóminos y de mamíferos infectados, por la alimentación con leche materna al bebe de mujeres infectadas y por alimentos contaminados con heces que tienen al parásito. Esta forma de transmisión se ha considerado como parte habitual del ciclo enzoótico de *T. cruzi*, a través de la ingestión por mamíferos susceptibles de vectores portadores del parásito o de sus deyecciones, así como de reservorios infectados. En la actualidad, se cree que esta vía de transmisión es la más importante en la Amazonia de Brasil (50% de los casos desde 1968 al 2000) (Pereira, 2009; Toso et al., 2011).

1.7.6 Accidentes en el laboratorio de investigación

Generalmente ocurre por el manejo inadecuado de material biológico contaminado, por ejemplo la manipulación de triatóminos, cultivos, inoculación de animales de experimentación, manejo de muestras serológicas de pacientes (Segura et al., 1999).

1.8 Fases clínicas de la Enfermedad de Chagas

Las personas que padecen la EC presenta tres fases, fase aguda, fase indeterminada y fase crónica.

1.8.1 Fase aguda

Esta fase puede durar de tres a cuatro meses y por lo general es asintomática, es el cuadro más difundido aunque no el más frecuente dado que no supera el 10% de los casos agudos, es la infección a nivel ocular con el signo de Romaña o complejo oftalmoganglionar con el “ojo en compota”, este se caracteriza por una conjuntivitis con celulitis perioftálmica, edema bipalpebral, causada por el ingreso de los tripanosomas luego de la picadura de la chinche a nivel palpebral (Imbert et al., 2013). El inconveniente de este signo estriba en el erróneo concepto de que el *T. cruzi* ingresa preferentemente por esta vía palpebral, diagnosticándose en la práctica únicamente los pacientes que presentan el Signo de Romaña (Figura 4).



Figura 4. Signo temprano de Romaña (Imbert et al., 2013)

Sin embargo, está ampliamente demostrado que en más del 90% de los casos la forma de ingreso pasa inadvertida o bien tiene una primoinfección cutánea no perioftálmica. La puerta de entrada cutánea es en diferentes partes del cuerpo, aunque en el 70% de los casos se puede encontrar en cara, cuello, brazos y antebrazos, esto se denomina chagoma de inoculación. A las lesiones de primoinfección puede agregarse un cuadro polisintomático como ocurre generalmente en los niños menores de dos años. En cambio en los adolescentes y adultos la sintomatología es mínima. Los síntomas y signos que acompañan el cuadro agudo son: fiebre elevada generalmente entre 39°C y 40°C los primeros 7 a 10 días y que evoluciona a febrícula durante los 10 a 15 días posteriores (sumando más de 20 días de fiebre), hepatoesplenomegalia, y diarrea. El compromiso con el sistema nervioso central puede originar inquietud, llanto continuo, insomnio, incluso meningismo, convulsiones y hasta coma transitorio. En los casos de evolución desfavorable que acontece en niños desnutridos, especialmente lactantes, se puede originar una

miocarditis y/o meningoencefalitis de mal pronóstico (Kirchhoff, 1993). Una vez transcurrido este periodo complicado en el paciente entra a la fase indeterminada de la infección, en donde puede manifestarse o permanecer así durante toda la vida del individuo infectado. Este periodo agudo se caracteriza por la elevada parasitemia, siendo relativamente sencillo el hallazgo del *T. cruzi* por los métodos de investigación directa (WHO, 2005).

1.8.2 Fase indeterminada

Comienza cuando la parasitemia se vuelve indetectable por los métodos parasitológicos directos, no presenta síntomas ni signos evidentes y generalmente el electrocardiograma del tórax y la radiografía del mismo y del aparato digestivo son normales (Velasco-Castrejón et al., 1992); sin embargo, las pruebas serológicas son positivas (Imbert et al., 2003). La fase indeterminada puede durar toda la vida, o derivar en la fase crónica después de 15 a 20 años (Kirchhoff, 1993).

1.8.3 Fase crónica

Alrededor del 10% al 30% de los pacientes con infección inicial pueden desarrollar la fase crónica de la enfermedad y ocurre aproximadamente después de 10 a 30 años de la infección. Se caracteriza por presentarse en forma de cardiopatía y/o alteraciones digestivas, la evolución a la cronicidad de los individuos afectados corresponden el 27% a cardiopatías, 6% a cuadros digestivos, 3% a desordenes en el sistema nervioso y 4% a mixtos o variables (Pereira, 2009), en ocasiones la enfermedad adquiere un curso prolongado especialmente en los adultos de 20 a 50 años de edad que les puede ocasionar la muerte (Velasco, 1992; Coura, 2009).

1.9 Formas Clínicas de la Enfermedad de Chagas en perros

Los perros con sintomatología clínica presentan una forma aguda y una crónica, similar al humano (Acha y Szyfres, 2001). La afección aguda ocurre principalmente en perros menores de un año y se inicia en forma súbita, con signos de insuficiencia cardíaca derecha, previa linfadenomegalia generalizada (siempre presente). El periodo desde la infestación hasta la presentación de la enfermedad aguda es variable (Greene, 2000), aunque puede instalarse después de 5 a 42 días de incubación (Acha y Szyfres, 2001). Los cachorros muestran una enfermedad grave dos semanas

después de la inoculación (Greene, 2000). Esta forma se manifiesta por fiebre moderada, con o sin edema palpebral, hepatomegalia, adenopatías, alteraciones cardíacas y nerviosas (Acha y Szyfres, 2001). Los perros que no mueren de forma súbita por la insuficiencia cardíaca, presentan ascitis, hepato y esplenomegalia. También pueden presentar falta de apetito y diarrea (Greene, 2000). Perros con infección natural y experimental presentaron signos neurológicos referibles a meningoencefalitis que incluyen ataxia de los miembros pélvicos, debilidad profunda y reflejos espinales hiperactivos (Greene, 2000). La fase aguda dura aproximadamente de 10 a 30 días o más y pasa luego a la forma indeterminada que puede prolongarse por años sin manifestaciones clínicas (Acha y Szyfres, 2001).

En la forma crónica desaparecen los síntomas y la parasitemia, presentando miocarditis crónica con dilatación cardíaca en los 8 a 36 meses siguientes. Durante el período asintomático, el electrocardiograma puede ser normal excepto por la ocurrencia de arritmias ventriculares intermitentes, exacerbadas por el ejercicio, que pueden llevar a muerte súbita (Greene, 2000). En perros se ha reproducido experimentalmente las cardiopatías, megalovisceras y alteraciones del sistema nervioso central (Acha y Szyfres, 1996). El megaesófago secundario se debe asociar a una infestación por *T. cruzi* en perros (Ettinger, 1997). En un estudio realizado por Pacheco da Silva *et al* en el año 2009, en la Facultad de Veterinaria de Uruguay, sobre un perro de raza Cimarrón, macho de una edad de 2 meses de edad, en donde se muestra en la necropsia la anatomía patológica las partes dañadas (Figura 5 y 6).



Figura 5. Consunción y atrofia de grandes masas musculares (da Silva *et al.*, 2009)



Figura 6. Megacolon y vejiga distendida (da Silva et al., 2009)

1.10 Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas

El diagnóstico se realiza mediante métodos parasitológicos y serológicos. Los exámenes parasitológicos más utilizados son el examen directo, gota gruesa y frotis sanguíneo, los métodos de concentración como son el strout, microstrout y microhematocrito, incrementan la sensibilidad diagnóstica (Acosta et al., 2011). Otros tienen la finalidad de incrementar el número de parásitos como lo es el xenodiagnóstico, el hemocultivo y la inoculación de animales de laboratorio con sensibilidad de 100% en la fase aguda.

Los exámenes serológicos que están recomendados por la Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS) son la hemaglutinación indirecta (HAI), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el inmunoensayo enzimático (ELISA) (Ibarra et al., 2009).

1.11 Distribución de la Enfermedad de Chagas a nivel mundial

La distribución de la EC a nivel mundial se ha reportado desde el sur de los Estados Unidos hasta la provincia de Santa Cruz en Argentina (Ibarra et al., 2009). Sin embargo; varía cada año, debido a inmigrantes que viven en zonas endémicas, que migran a países no endémicos o que son contratados temporalmente. Y esto se debe principalmente por la vía de la transfusión sanguínea (Schmunis, 2007) (Figura 7).

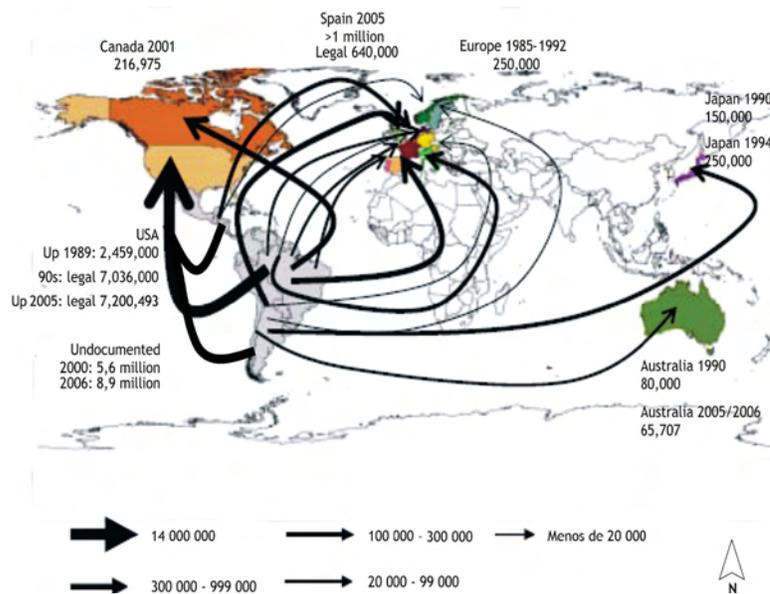


Figura 7. Distribución de la Enfermedad de Chagas a nivel mundial (Schmunis, 2007).

1.12 Distribución de la Enfermedad de Chagas en México

En México, la seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* es del 1.6%, encontrándose casos seropositivos en casi todo el país. La prevalencia más alta se localizó en la región sureste del país, la cual corresponde al área central de la Huasteca, una zona tropical que incluye parte de los estados de Hidalgo, San Luis Potosí, Veracruz y Tamaulipas (Carabarin et al., 2011).

Sin embargo, datos recientes del noreste de México sugieren que la prevalencia ha ido en aumento en los últimos años. El riesgo transfusional también existe en nuestro país. La revisión de 65,000 donadores de sangre en 18 estados mostró 1.5% de seropositividad, lo que indica que cerca de 2000 personas cada año podrían estar en riesgo de infección con *T. cruzi* al recibir una transfusión sanguínea. A partir de datos recientes, colectados en el Censo Nacional 2010 (INEGI, 2010), se demostró que la población del país es de 112.3 millones de habitantes, de los cuales aproximadamente 1.79 millones podrían estar infectados con *T. cruzi* (Carabarin et al., 2011).

En México la magnitud de la infección chagásica y su repercusión en la salud y en la economía del país varía grandemente, esto relacionado con la existencia del vector-

enfermedad. En esta situación influye la deficiente investigación clínica, la falta de recursos para el diagnóstico y la ausencia de estudios anatomopatológicos en casos de muertes súbitas y de patología cardíacas que ocurren especialmente en el área rural, entre otros (Pereira et al., 2009).

En el estado de Veracruz existen pocos estudios publicados donde se calcule la incidencia y frecuencia de la enfermedad de Chagas para una zona geográfica dada. La zona norte de la entidad, comparte muchas características ecoepidemiológicas con áreas chagásicas bien conocidas. En la Encuesta Seroepidemiológica Nacional de 1987-1988, la enfermedad de Chagas en la zona norte se considera un foco nuevo de infección y Veracruz es uno de los cuatro primeros estados con mayor seroprevalencia a nivel nacional (Guzmán, 1998; Velasco, 1992; Segura, 1999; Escobar, 2005).

1.13 Estudios sobre la Enfermedad de Chagas en los perros en Sudamérica

La vía más importante de transmisión de la infección chagásica se asocia con la pobreza y ocurre en viviendas con condiciones precarias, tanto en áreas rurales como en urbanas en las cuales abundan las colonias de triatóminos asociadas con reservorios domésticos y peri-domésticos que sirven como fuente de alimentación (Berrizbeitia, 2013). Se han realizado investigaciones acerca de los reservorios domésticos de *T. cruzi* con el propósito de disminuir el riesgo de transmisión ya que ha sido complicado encontrar una cura total para los humanos.

En Centro y Sudamérica se han realizado estudios en donde cuyos resultados reportan infecciones altas de *T. cruzi* en los perros. Se describió un caso clínico de la infección por *T. cruzi* en un perro de raza Cimarrón en Uruguay. El canino con 60 días de vida comenzó por presentar ptosis (el párpado superior caído, la cual puede afectar un solo lado o ambos) palpebral, plejía de músculos faciales, atrofia muscular; posteriormente con debilidad, apatía e incoordinación. Después de administrar la eutanasia; la necropsia mostró: megaesófago, megacolon, neumonía lobar bilateral con edema pulmonar y contenido digestivo en tráquea. En la histopatología destaco: necrosis de fibras musculares estriadas, numerosos macrófagos, múltiples nidos de amastigotes así como necrosis neuronal. Este trabajo describió una nueva manifestación clínica de la forma aguda de la EC (da Silva et al., 2009).

En Colombia en un estudio de seroprevalencia a *T. cruzi* en perros en una zona urbana y otra rural en el municipio de Talaigua Nuevo, departamento Bolívar, mediante técnicas de ELISA e IFI, reportaron una prevalencia de 19.5% (29/148). Para la cabecera de Talaigua Nuevo la prevalencia fue de 25% (19/76), mientras que para la zona rural fue de 13.9% (10/72) (Garcés et al., 2011).

En zonas rurales en el estado de Sucre, en Venezuela, en un estudio seroepidemiológico de la infección por *T. cruzi* en perros, utilizaron un Kit Cruz-ELISA y una prueba de ligación de múltiples antígenos (MABA), reportan una prevalencia de 21.49% (Berrizbeitia et al., 2013).

Argentina es uno de los países que más reportes presenta en estudios sobre *T. cruzi* en perros, reportaron una prevalencia de 49% mediante el uso de xenodiagnóstico, utilizando triatóminos crecidos en el laboratorio libres de *T. cruzi* (Gurtler et al., 2007).

En Costa Rica, se realizó un estudio para conocer la prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en perros mascota y perros callejeros provenientes de varias zonas endémicas y de zonas no endémicas. Se utilizaron dos técnicas de ELISA comercial, adaptadas para la determinación de anticuerpos en perros. En donde los perros mascota mostraron una prevalencia de 5.2% de positividad mientras que en las zonas no endémicas fue de 1.6%. En perros callejeros el porcentaje de positividad fue de 12%, independiente de si fueron capturados o no en zonas endémicas (Montenegro et al., 2002). En una recopilación de información sobre la infección de *T. cruzi* en perros de diferentes países, por ejemplo, en Venezuela reportan una prevalencia de 67.6%, en Costa Rica 27.7%, en la Argentina 65.0%, Colombia 10.72% y Brasil de 18.5%, estas prevalencias llaman la atención por los porcentajes altos en perros (Turriago et al., 2008).

En un estudio realizado en Venezuela se investigaron los factores de riesgo asociados con el estado serológico positivo para anticuerpos contra *T. cruzi*, en 26 comunidades rurales el muestreo incluyó 905 hogares, 2156 personas y 333 perros en el Estado Lara, mediante la técnica de ELISA. La seroprevalencia fue de 7.24% en los seres humanos y el 6.9% en los caninos (Bonfante-Cabarcas et al., 2011).

1.14 Estudios sobre la Enfermedad de Chagas en los perros en la República Mexicana

Desde el descubrimiento de la enfermedad de Chagas, se han realizado diversos estudios y experimentos de los reservorios domésticos como los perros que son portadores del *T. cruzi*, en áreas endémicas en donde se encuentran los triatóminos hematófagos que son los transmisores del parásito. En México hay reportes sobre un perro infectado naturalmente por el *T. cruzi* en el estado de Oaxaca (Velasco et al., 2008), desde entonces se han realizado varios estudios sobre este reservorio con prevalencias que realzan gran importancia.

En un estudio que realizó Velasco y colaboradores en 1992, describieron al perro (*Canis familiaris*) parasitado por *T. cruzi* en Tepechitlán, Zacatecas, así como la infestación de una sala de cine por triatóminos (*T. longipennis*), que seguramente “picaban” a los cinéfilos durante la función y que al colectarlos un día después, encontraron muchas chinches “repletas” de sangre humana.

En Cuernavaca, Morelos, se observó en un cachorro Samoyedo miocarditis por *T. cruzi* y los hermanos de camada también murieron de miocarditis aguda. Este tipo de defunciones es muy frecuente en cánidos y la enfermedad en ellos es comúnmente transmitida por *M. pallidipennis* que comparte su ecotopo viviendo frecuentemente en el interior de sus perreras, donde puede observarse el ciclo biológico completo de esta chinche (Velasco et al., 1986).

En Zinpahuacan, Estado de México, se estudiaron 57 perros de raza mestizo, utilizando pruebas de HAI y ELISA, para *T. cruzi*, y obtuvieron una seroprevalencia del 21% (Barbosa et al., 2009).

Más estudios de seroprevalencia realizados en perros para la identificación de *T. cruzi* en Tejupilco y Toluca, en el Estado de México, mediante la utilización de técnicas como ELISA e IFI, reportan 21% y 17.5% respectivamente, lugares que habían sido confirmados como zonas libres de la infección a *T. cruzi* (Estrada et al., 2006).

En la zona sur de Mérida, Yucatán, un estudio transversal se llevó a cabo en muestras de suero de 35 perros y sus propietarios (75) para identificar anticuerpos contra *T.*

cruzi mediante las técnicas de ELISA, IFI y Western Blot (WB), donde el porcentaje global de seropositividad fue de 34% en perros y el 8% para los propietarios (Jiménez et al., 2010).

Otro estudio realizado en Mérida, Yucatán para determinar la frecuencia y el tipo de lesiones cardíacas en perros abandonados, a los cuales se les tomaron muestras de sangre para la identificación de anticuerpos contra *T. cruzi* mediante IFI y confirmado con Western Blot. La prevalencia de anticuerpos IgG fue de 18.6%. Estos perros seropositivos desarrollaron lesiones cardíacas caracterizadas por la miocarditis severa (Acosta et al., 2011).

En el estado de Morelos entre uno de los primeros estudios realizados en la detección de *T. cruzi* en perros, García Vázquez reporta una seroprevalencia de 8.8% (García et al., 1995). En estudios recientes, en Puente Pantitlán, municipio de Tlayacapan, Morelos, se llevó a cabo un estudio de tipo transversal en donde se colectaron 233 muestras sanguíneas de personas y 33 en perros, para la identificación de anticuerpos mediante la técnica de ELISA para la identificación de anticuerpos contra *T. cruzi*. La seroprevalencia en humanos fue de 1.2% (3/233) y en los perros de 24.2% (8/33) (Portugal et al., 2011).

En el municipio de Palmar de Bravo, Puebla. Se estudiaron las siete comunidades más pequeñas que tienen una población total entre 100 a 500 habitantes. Durante la campaña de vacunación antirrábica efectuada en marzo de 2001, antes de ser vacunados se tomó una muestra sanguínea a 94 perros domésticos. Se determinaron anticuerpos contra *T. cruzi* por hemaglutinación a 94 muestras séricas de perros domésticos de raza indeterminada y aparentemente sanos. De ellas, 10 resultaron reactivas contra *T. cruzi* (10.6%). La búsqueda de parásitos circulante se realizaron en los frotis de sangre teñidos con Giemsa: todas resultaron negativas (Sosa et al., 2004).

En Campeche se muestrearon 262 perros (148 callejeros y 114 de compañía), además también participaron en el estudio 2800 jóvenes con una edad de 15 a 20 años. La seroprevalencia en perros callejeros fue dos veces más alta que en los perros de compañía (9.5%-5.3% respectivamente), con una seroprevalencia general

de 7.6%. En los seres humanos, la seroprevalencia observada fue 76 veces menor que en los perros (0.1% frente a 7.6%, respectivamente) (Balan et al., 2011).

Un estudio realizado en el Valle de Toluca, Estado de México, se aplicaron pruebas serológicas a 124 y 167 sueros de perros domiciliados y no domiciliados. Los perros no domiciliados dieron positivo en ambas pruebas 14% y 21% respectivamente (Prueba de inhibición de la hemoaglutinación y ELISA), mientras que solamente un perro no domiciliado resultó positivo (Quijano et al., 2012).

JUSTIFICACIÓN

Los perros se han considerado importantes reservorios de *Trypanosoma cruzi*, en la mayoría de los países de América Latina en donde es endémica la EC. Además, son víctimas comunes de la enfermedad; el desarrollo de alteraciones patológicas crónicas se asemejan a las detectadas en el ser humano, por esta razón se ha sugerido al perro como un reservorio y modelo adecuado, natural en zonas de vigilancia en donde se han realizado campañas de control de los Triatóminos. La información con respecto a la presencia de la EC en perros en el estado de Veracruz es escasa; por lo tanto, es necesario conocer su prevalencia y los factores de riesgo asociados.

HIPÓTESIS

El *T. cruzi* se encuentra presente con una prevalencia de 50% en la población de perros pertenecientes al municipio de La Antigua, en el estado de Veracruz, México, y el principal factor de riesgo para su presencia son las condiciones rurales de la población.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la seroprevalencia de *T. cruzi* en perros y los factores de riesgo asociados, del municipio de La Antigua, en el estado de Veracruz, México.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Identificar la presencia de anti-*T. cruzi* en perros del municipio de La Antigua, Veracruz.
- b) Identificar los factores de riesgo asociados a la presencia de *T. cruzi* en perros del municipio de La Antigua, Veracruz.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Diseño del estudio

El tipo de estudio fue seroepidemiológico observacional de tipo transversal.

2.2 Lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Municipio de La Antigua con las siguientes comunidades (Salmoral, San Pancho, Playa Oriente, La Antigua, La Posta, José Ingenieros, Hatillo, Pureza, Loma Iguana y José Cardel), localizada en la zona costera central en el Estado de Veracruz. Sus coordenadas 19° 22´latitud Norte y 96° 22´longitud Oeste, a una altura de 20 metros sobre el nivel del mar (msnm), con un clima tropical-cálido y una temperatura media anual de 25.3°C y con una precipitación media anual de 1500mm.

2.3 Selección de los animales

Con la finalidad de seleccionar a los perros experimentales se trató de concientizar a los habitantes de las 10 localidades pertenecientes al Municipio de La Antigua, sobre la importancia acerca del conocimiento sobre el estudio de la Enfermedad de Chagas. Se acudió casa por casa para impartir pláticas acerca de la EC, tratando de hacer énfasis en los daños que puede ocasionar así como también la gravedad de dicha enfermedad mostrando fotos de ejemplares de triatóminos (chinchas) para tener un mayor conocimiento y saber si habían estado alguna vez en contacto con alguno de ellos. Una vez recibidas las pláticas, se invitó a los propietarios voluntariamente a participar en el estudio con su perro para la toma de una muestra sanguínea. Se seleccionaron 34 perros de cada localidad y se tomó la muestra sanguínea a máximo de dos perros por casa.

2.4 Tamaño de la muestra

De acuerdo con los datos sobre la población canina en el municipio de La Antigua obtenida de la Jurisdicción Sanitaria XIII, se determinó el tamaño de muestra mediante el programa Win Episcopo Ver. 2.0, bajo la modalidad "Estimar porcentajes", suponiendo una prevalencia del 50%, un margen de error del 5% y un nivel de confianza del 95%.

El periodo de estudio fue de agosto de 2012 a marzo de 2013. El muestreo se realizó por conveniencia durante los meses de Febrero a octubre de 2013. La fracción de muestreo utilizada fue del 6.6%.

2.5 Toma de muestra sanguínea

Se tomó un total de 340 muestras sanguíneas de perros (n=340), sin distinción de raza y sexo, de 3 meses de edad en adelante, de la comunidad de La Antigua en el Estado de Veracruz. Las muestras de sangre de los perros se obtuvo mediante punción de la vena cefálica, aproximadamente 5mL con el uso de tubos vacutainer (sin anticoagulante), se identificaron cada uno de los tubos y posteriormente se trasladaron en refrigeración hasta el Laboratorio de Parasitología de la Unidad de Diagnóstico de la Posta Zootécnica "Torreón del Molino" de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana, donde se centrifugaron a 1,500 g durante 5 minutos para separar el suero del paquete celular eritrocitario, el suero se almacenó en tubos tipo eppendorf de 1.5 mL y se congelaron a -20°C hasta su posterior análisis.

2.6 Técnicas para el diagnóstico serológico en los perros

2.6.1 Ensayo Inmuno Enzimático (ELISA)

Para la identificación de anticuerpos contra *T. cruzi* en perros, se utilizó una prueba de ELISA indirecta previamente estandarizada en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas del Instituto Nacional de Salud Pública, en Cuernavaca, Morelos.

Se sensibilizaron placas de 96 pozos de fondo plano (cat 3590 Costar) con 2 µg de antígeno (Ag) extracto crudo de *T. cruzi* (preparado de cinco aislados de *T. cruzi* obtenidos a partir de heces de Triatóminos (Especie *Meccus pallidipennis*) del Estado de Morelos, con una concentración de proteína de 4.33 mg/ml. Se agregó 50 µl/pozo, diluido en buffer de carbonatos pH de 9.6 con 0.1% de SDS (Dimethyl Sulfoxide). Se incubó durante toda la noche a 4°C. Se desechó el sobrenadante y se lavó 2 veces con PBS-Tween al 0.05% (PBS+Tween). La placa de ELISA se bloqueó con 200 µl de PBS+leche al 5% y se incubó durante 30 minutos a 37°C. Posteriormente se lavó 4 veces con PBS+Tween al 0.05%, se agregó el suero a una dilución 1:100 diluido en

PBS pH 7.4 y de este se agregaron 50µl por pozo, para incubar así durante 2 horas a 37°C. Se lavó 4 veces con PBS-Tween 0.05%. Se incubó con el anticuerpo anti-Dog IgG, a una dilución 1:10,000, se agregaron 50µl por pozo y se incubó durante 1 hora a 37°C. Se lavó 4 veces con PBS-Tween 0.05% y 1 sola vez con PBS para enseguida agregar 100µl/pozo del sustrato (10ml de buffer de citratos, 5 µg de ortofenilenediamina y 4 µl de peróxido de hidrogeno), este se incubó a temperatura ambiente durante 5-10 minutos. Por último se realizó la lectura en un espectrofotómetro (lector de ELISA) con una longitud de onda de 405 nm.

Se utilizaron sueros controles positivos y negativos. Se estableció el valor del corte mediante una muestra de 25 sueros de perros sanos para tripanosomiasis. A la lectura obtenida se estimó la media aritmética y la desviación estándar, se definió el punto de corte como la media más tres desviaciones estándar (DS). Se consideraron sueros positivos aquellos que rebasaron el punto de corte.

2.6.2 Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

Se utilizó epimastigotes de cinco aislados de *T. cruzi* que se colocaron previamente en portaobjetos y se mantuvieron en congelación hasta su uso. En el portaobjeto se colocó la Solución Amortiguadora de Fosfatos (SAF, 0.01M, pH 7.2), para hidratarlas. Los sueros controles positivo, negativo y las muestras a analizar, se diluyeron en una relación de 1:100 en SAF; los portaobjetos se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se lavaron cuatro veces por intervalos de 5 minutos con SAF; se eliminó el exceso de SAF y se agregó el conjugado anti-perro marcado con Isotriocianato de fluoresceína, diluido 1:3000 en SAF y azul de Evans; los portaobjetos se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se lavaron en cuatro ocasiones por intervalos de 5 minutos con SAF, se agregó 1 gota de glicerol a cada pozo, para posteriormente observar en un microscopio (40X) de epifluorescencia. Las muestras se consideraron positivas al tener una absorbancia mayor o igual a 0.11 en el lector de ELISA. Se utilizaron sueros controles positivos y negativos. El punto de corte se determinó con sueros negativos.

2.7 Determinación de los factores de riesgo asociados con la infección por *T. cruzi*

Para determinar los factores de riesgo asociados con la infección por *T. cruzi*, se aplicaron dos cuestionarios: uno general y otro individual. El cuestionario general se aplicó en cada casa donde se realizó la toma de muestra, en donde las variables (potenciales factores de riesgo) fueron: tipo de material de construcción del techo, piso y pared de la casa, número de habitantes, número de cuartos, fumigaciones recientes, número de focos en la casa, fisuras en la pared y si habían visto el triatómino. El cuestionario individual se aplicó por cada perro incluido en el estudio donde las variables consideradas fueron: edad, sexo, raza, condición corporal y lugar donde duermen (Anexo).

2.8 Determinación de la seroprevalencia

La seroprevalencia general se determinó para la población total estudiada con la siguiente fórmula:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{No. animales seropositivos}}{\text{Total de animales muestreados}}$$

2.9 Determinación de la Razón de Momios (RM)

La Razón de Momios (RM) se calculó con la siguiente fórmula (Thrusfield, 2005):

$$\text{RM} = \frac{(AD)}{(BC)}$$

Dónde: A = No. de animales seropositivos expuestos.

C = No. de animales seronegativos expuestos.

B = No. de animales seropositivos no expuestos.

D = No. de animales seronegativos no expuestos.

Se calculó el intervalo de confianza del 95% para la razón de momios. Con base en la fórmula siguiente:

$$\bar{X} \pm 2 \text{ e.e.e.m.}$$

Dónde: e.e.e.m. = error estándar estimado de la media.

Debido a la asociación entre las variables se procedió a hacer una regresión logística para determinar si se consideró factor de riesgo la variable analizada (Thursfield, 2005).

2.10 Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las encuestas se capturaron en una hoja de cálculo Excel: Microsoft Corporation, y se analizaron con epidemiología descriptiva a través del programa STATA versión 11.0 para calcular la seroprevalencia cruda y específica, se identificaron los factores de riesgo mediante el análisis bivariado y multivariado asociados a *Trypanosoma cruzi*. Una vez teniendo las variables significativas se elaboró un modelo de regresión logística.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* mediante la técnica de ELISA

El Cuadro 2, muestra los resultados con relación a *T. cruzi*. De las 340 muestras analizadas, 66 resultaron positivas con una seroprevalencia general de 19.4% (IC_{95%}: 15.4-24.1). La localidad que mayor seroprevalencia presentó fue La Posta 52.9% (IC_{95%}: 35.4-69.8) y las de menor seroprevalencia fueron Hatillo y Playa Oriente que obtuvieron 2.9% (IC_{95%}: 0.1-17.0).

CUADRO 2. Seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* mediante la prueba tamiz de ELISA en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La ANTIGUA, Veracruz.

Localidad	No. de muestras	Positivas	Seroprevalencia (%)	IC _{95%}
La Posta	34	18	52.9	35.4–69.8
José I.	34	13	38.2	22.6–56.3
San Pancho	34	13	38.2	22.6–56.3
La Antigua	34	7	20.6	9.3–38.4
Pureza	34	5	14.7	5.5–31.8
Cardel	34	3	8.8	2.3–24.8
Salmoral	34	3	8.8	2.4–24.8
Loma Iguana	34	2	5.8	1.0–21.0
Hatillo	34	1	2.9	0.1–17.0
Playa Oriente	34	1	2.9	0.1–17.0
Total	340	66	19.4	15.4–24.1

La seroprevalencia general obtenida en el presente estudio se encuentra dentro del rango promedio reportada en dos estudios similares llevados a cabo en perros mediante el uso de la prueba de ELISA como técnica diagnóstica, uno realizado en Puente Pantitlán en el estado de Morelos (Portugal et al., 2011), donde la seroprevalencia fue de 24.2%, y otro realizado en Zinpahuacan, en el estado de México, con una seroprevalencia de 21% (Barbosa et al., 2009).

La seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en los grupos de edades en los perros muestreados mediante la técnica de ELISA fue mayor en perros ≥ 5 años 23.5% (IC_{95%}: 13.2–37.8), mientras que la menor se observó en perros de ≤ 1 año 16.2 (IC_{95%}: 10.9–23.2) como se puede apreciar en el Cuadro 3.

CUADRO 3. Seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* mediante la prueba tamiz de ELISA en perros de las 10 localidades pertenecientes al municipio de la Antigua, Veracruz, acuerdo a la edad.

Edad (años)	No. de perros muestreados	Animales positivos	ELISA (%)	IC _{95%}
≤ 1	154	25	16.2	10.9–23.2
2–4	135	29	21.4	15.0–29.5
≥ 5	51	12	23.5	13.2–37.8
Total	340	66	19.4	15.4–24.1

El Cuadro 4, muestra la seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* de acuerdo al género en los perros muestreados mediante la técnica de ELISA fue mayor en hembras 22.5% (IC_{95%}: 15.4–24.1), mientras que la menor se observó en los machos 17.5% (IC_{95%}: 12.8–23.4).

CUADRO 4. Seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* mediante la prueba tamiz de ELISA en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz, de acuerdo al género.

Género	No. de perros muestreados	Animales positivos	Seroprevalencia %	IC _{95%}
Macho	216	38	17.5	12.8–23.4
Hembra	124	128	22.5	15.4–24.1
Total	340	66	19.4	15.4–24.1

3.2 Seroprevalencia de anticuerpos contra *T.cruzi* mediante la prueba confirmatoria de IFI

De acuerdo a la técnica de ELISA 66 perros resultaron sospechosos; sin embargo, al realizar la prueba confirmatoria de IFI, 32 resultaron positivos a *Trypanosoma cruzi* y se obtuvo una seroprevalencia general de 9.4% (IC_{95%} 13.5-21.8).

De las 10 localidades muestreadas, nueve resultaron positivas. La mayor seroprevalencia se presentó las localidades de La Antigua y José Ingenieros, ambos

con el 20.6% (IC_{95%}: 9.3-38.4) y la menor en las localidades de Hatillo y Playa Oriente y en la localidad de Loma Iguana no se observaron casos positivos (Cuadro 5).

CUADRO 5. Seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* mediante la prueba confirmatoria de IFI en perros de las 10 localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz.

Localidad	No. de muestras	Animales positivos	Seroprevalencia (%)	IC _{95%}
La Antigua	34	7	20.6	9.3–38.4
José Ingenieros.	34	7	20.6	9.3–38.4
La Posta	34	5	14.7	5.5–31.8
San Pancho	34	4	11.7	3.8–28.4
Cardel	34	3	8.8	2.3–24.8
Pureza	34	2	5.8	1.0–21.0
Salmoral	34	2	5.8	1.0–21.0
Hatillo	34	1	2.9	0–17.0
Playa Oriente	34	1	2.9	0–17.0
Loma Iguana	34	0	0	0–12.6
Total	340	32	9.4	6.6–13.1

Este es el primer trabajo llevado a cabo en las 10 localidades que integran el municipio de La Antigua, Veracruz, México, siendo la seroprevalencia general en los cánidos fue de 9.4%. A pesar de que no se buscó al parásito en sangre, sugiere que puede ser reservorio de la infección como ha sido propuesto por otros estudios (Estrada et al., 2006).

Un estudio realizado en perros de dos localidades urbanas de México (Morelos y Puebla) reportó una seroprevalencia de 8.8% en perros de Cuernavaca, Morelos, y 24.2% en animales de Puebla (García et al., 1995); datos similares han sido reportados en perros de áreas urbanas y rurales del estado de Yucatán, donde la seroprevalencia fue de 9.8% en áreas rurales y de 14.4% en zonas urbanas (Jiménez-Coello et al., 2008). En países endémicos como Argentina, se han reportado en perros prevalencias de anticuerpos elevadas (65%), muy a pesar de los programas de control de la enfermedad de Chagas establecidos en este país (Gurtler et al., 1996).

Igualmente, se han hecho estudios de seroprevalencia de la infección por *T. cruzi* en diferentes países de Latinoamérica. En Brasil (São Paulo) y Colombia (Bogotá) se evaluaron 365 perros, todos los cuales resultaron negativos mediante la prueba de

inmunofluorescencia indirecta (Rosypal et al., 2010). En la localidad de la Para en Córdoba, Argentina determinaron una seroprevalencia de 11.1 %, en 100 perros evaluados por ELISA e inmunofluorescencia indirecta (Graiff et al., 2009), mientras que en la región del Chaco se encontró que de una población de 106 perros, 16 resultaron positivos con una seroprevalencia de 15.1% (16/106) (Diosque et al., 2004).

En otro estudio serológico en 221 caninos criollos de seis municipios del departamento de Tolima, Colombia, la seroprevalencia fue de 1.4 %. Las muestras de sueros se analizaron con la técnica de IFI, usando los antígenos TESA de *T. cruzi* (Romero et al., 2008).

En las localidades rurales de San Juan Bautista Sakcabchen y Crucero San Luis en el estado de Campeche, México (Hernández et al., 2010), encontraron una seroprevalencia en perros de 61.5% y 65.4% respectivamente, mayores que la encontrada en este trabajo.

Al analizar los índices seroepidemiológicos para la infección por *T. cruzi* en perros del estado de Sucre, se evidencia que aproximadamente el 50% de los centros poblados tiene un porcentaje importante de perros infectados, igualmente un valor significativo de viviendas que albergan perros que son potenciales reservorios de la infección.

Se han realizado pocos estudios en México en los que se evalúe la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* bajo condiciones similares a las del presente estudio. Al respecto, en Mérida, Yucatán se reportó seroprevalencia de 34% en sueros analizados mediante la prueba de ELISA e IFI, resultado que fue mayor al del presente estudio. Con relación a la edad, por la prueba confirmatoria de IFI, la mayor seroprevalencia se observó en perros ≥ 5 de edad con el 17.6% (8.8–31.3) y la menor en perros ≤ 1 de edad con el 5.2% (2.4-10.3) (Cuadro 6).

CUADRO 6. Seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* mediante la prueba confirmatoria de IFI en perros de las 10 localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz, de acuerdo a la edad.

Edad (años)	No. de perros muestreados	Positivos	Seroprevalencia (%)	IC _{95%}
≤ 1	154	6	5.2	2.4-10.3
2-4	135	17	12.6	7.7-19.6
≥ 5	51	9	17.6	8.8-31.3
Total	340	32	9.4	6.6-13.1

La alta seroprevalencia en este estudio puede deberse a las condiciones ambientales como el clima tropical-húmedo, ya que contribuye a la supervivencia y transmisión de *T. cruzi*. No existen investigaciones científicas en las que se reporte la seroprevalencia específica de acuerdo a la edad.

Sin embargo, es posible que la alta seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en perros adultos se debe a que los perros que logran sobrevivir a la infección y parasitemia, quedan portadores o desarrollan la enfermedad en la etapa adulta (Diosque *et al.*, 2004).

En relación a la variable sexo, llama la atención el hecho de que en otros estudios se ha encontrado un mayor porcentaje de infestación en los machos, diferencia que puede ser 3 ó 4 veces mayor, circunstancia que se explicaría por la mayor movilidad de los machos, lo que los expondría más al contacto con los triatóminos en áreas peridomiciliarias y boscosas en los asentamientos rurales, como se muestra en el cuadro 7.

CUADRO 7. Seroprevalencia de anticuerpos contra *t. cruzi* mediante la prueba confirmatoria de IFI en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz, de acuerdo al género.

Género	Animales muestreados	Animales positivos	Seroprevalencia %	IC _{95%}
Macho	216	18	8.3	5.1-13.0
Hembra	124	14	11.3	6.5-18.5
Total	340	32	9.4	6.6-13.1

3.2 Determinación de factores de riesgo

El Cuadro 8, muestra el análisis bivariado y las variables que resultaron significativas en este modelo fueron las edades de 5-7 años OR= 7.10 (IC_{95%}:1.46-34.36) y >11 años OR= 17.75 (IC_{95%}: 2.79-112.66), así como también la presencia de las chinches en la vivienda OR= 2.82 (IC_{95%}:1.30-6.11).

CUADRO 8. Análisis bivariado para determinar factores de riesgo asociados a *T. cruzi* en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz.

Variable	OR	IC_{95%}	P
Localidades			
Cardel	1	-	-
Hatillo	0.31	0.03-3.17	0.32
José Ingenieros	2.67	0.62-11.39	0.18
La Antigua	2.67	0.62-11.39	0.18
La Posta	1.78	0.39-8.13	0.45
Salmoral	0.64	0.10-4.13	0.64
Loma Iguana	0	-	0.00
Pureza	0.64	0.10-4.13	0.64
San Pancho	1.37	0.28-6.68	0.69
Playa Oriente	0.31	0.03-3.17	0.32
Edad			
≤ 1	1	-	-
2-4	3.16	0.70-4.22	0.13
5-7	7.10	1.46-34.36	0.01
8-10	4.43	0.58-33.91	0.15
>11	17.75	2.79-112.66	0.00
No. De personas			
1-3	1	-	-
4-6	2.17	1.07-4.39	0.03
7-8	1.39	0.27-7.05	0.68
Chinches			
No	1	-	-
Si	2.82	1.30-6.11	0.00

Las variables evaluadas para determinar los factores de riesgo, que fueron incluidas en una encuesta general que se aplicó a cada casa y una individual por cada perro. Se puede observar que las variables de edad, número de personas que habitan la casa, y chinches vistas en la casa; salieron significativas en este análisis.

En el modelo de regresión logística se identificaron como factores de riesgo, la edad y la presencia de chinches. Los perros de 5-7 presentaron un OR= 8.03 (IC_{95%}=1.62-

39.73) y los >11 años un OR= 25.12 (IC_{95%}:3.76-167.59); lo que significa que los animales de 5-7 y los >11 años tienen 8.63 y 25.12 veces más posibilidades de presentar anticuerpos contra *T. cruzi* respectivamente. Otro factor de riesgo fue la presencia de chinches con un OR=3.45 (IC_{95%}:1.51-7.87), lo que significa que los perros que habitan en casas con chinches tienen 3.45 veces más posibilidades de presentar anticuerpos contra *T. cruzi*.

CUADRO 9. Modelo de regresión logística para determinar factores de riesgo asociados a *T. cruzi* en perros de las diez localidades pertenecientes al municipio de La Antigua, Veracruz.

Variable	OR	IC_{95%}	P
Edad (años)			
≤ 1	1	-	-
2-4	3.73	0.81 - 49.36	0.08
5-7	8.03	1.62 - 39.73	0.01
8-10	3.75	0.47 - 29.54	0.20
>11	25.12	3.76 - 167.59	0.00
Chinches			
No	1	-	-
Si	3.45	1.51 - 7.87	0.00

Sin embargo no se encontró ningún factor protector como lo menciona en un estudio Gómez *et al*, (2008) el cual señala que el fumigar la casa con insecticidas piretroides, aunque no matan a la chinche sí le provoca irritación y la obliga a salir de las grietas, estos productos pueden ser utilizados por los habitantes cuyas casas están hechas con materiales de riesgo y con grietas, esta acción ayudaría a la eliminación del insecto en el interior de los hogares y disminuir la probabilidad de infectarse.

Las principales acciones de control para la enfermedad de Chagas están orientadas a la eliminación del vector en áreas del peri e intradomicilio, ya que no existe vacuna o tratamiento médico preventivo contra la infección de *T. cruzi*, por otro lado el mayor aumento en el movimiento de personas de un lugar a otro facilitado por vías de comunicación y rutas comerciales que facilitan el transporte de bienes, animales y productos agrícolas, así como la similitud climática (temperatura y humedad promedio), entre otros factores relacionados al entorno intra y peridomiciliares hacen factible el establecimiento de vectores, así como los reservorios de sus respectivos agentes etiológicos y diversos artrópodos con importancia en la salud pública; en el caso de los triatóminos haciendo probable la aparición de los mismos en áreas donde

anteriormente no existían. Esto representa un desafío para la salud pública y los programas de control y vigilancia ento-epidemiológica (Ibarra, 2009).

CONCLUSIÓN

Se demostró la presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en los perros de las 10 localidades del municipio de La Antigua, Veracruz.

La Antigua y José Ingenieros fueron las localidades que presentaron la mayor seroprevalencia 20.6%.

Los factores de riesgo identificados fueron: la edad (perros de 5-7 y >11 años) y la presencia de chinches.

RECOMENDACIONES

Debido a la importancia que tiene la Enfermedad de Chagas por ser una enfermedad zoonótica, se recomienda continuar con investigaciones que muestren un panorama más amplio con relación al porcentaje de animales positivos a *T. cruzi*, y así de esta forma coadyuvar en el control y prevención de esta zoonosis que impacta a la Salud Pública.

LITERATURA CITADA

Acha, P., Szyfres, B. 2001. Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Editado por O.M.S. 2º ed. Washington D.C. (U.S.A.), Pp. 590 – 602.

Acosta V.K., Guzmán M.E., Jiménez C.M., Torres L.M., Colin F.R., Ortega P.A. 2011. Cardiac Lesions in Naturally Infected Dogs with *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, **1**: 932-938.

Arzube M. 2000. Investigación de la fuente alimenticia de *Triatoma dimidiata* Latreille 1811 (Hemiptera: Reduviidae) mediante la reacción de precipitina. *Revista Ecuatoriana de Higiene y Medicina Tropical*, **23**: 137-152.

Balan L., Yerbes M., Piña A., Balmes J., Pascual A., Hernández O., Lopez R., Monteón V. 2011. Higher seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs than in humans in an urban area of Campeche, Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, **11(7)**: 843-844.

Barbabosa-Pliego A., Díaz-Albiter H. M., Ochoa-García L., Aparicio-Burgos E., S M. López-Heydeck S., Velásquez-Ordoñez V., Fajardo-Muñoz R., Díaz-González S., Montes De Oca-Jimenez R., Barbosa-Mireles M., Guzmán-Bracho C., Estrada-Franco J. G., Garg N., Vázquez-Chagoyán J. 2009. *Trypanosoma cruzi* Circulating in the Southern Region of the State of Mexico (Zumpahuacan) Are Pathogenic: A Dog Model. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **81(3)**:390–395.

Bern C., Montgomery S. P., Herwaldt B.L., Rassi A., Marin-Neto J. A., Dantas R. O., Moore A. C. 2007. Evaluation and treatment of Chagas disease in the United States: a systematic review. *JAMA*, 298(18): 2171–2181.

Berrizbeitia M., Concepción J., Valentina Carzola, Jéssicca Rodríguez, Ana Cáceres, Wilfredo Quiñones. 2013. Seroprevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en *Canis familiaris* del estado Sucre, Venezuela. *Biomedica* , **33**:214-25

Bonfante-Cabarcas R., Rodríguez-Bonfante C., Vielma B. O., García D., Saldivia A. M., Aldana E., Curvelo J. L. 2011. Seroprevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* y factores asociados en un área endémica de Venezuela. *Saúde Pública*, **27 (10)**: 1917-1929.

Caliari M. V., De Lana M.- Cajá R. A., Carneiro C. M., Bahia M.T., Santos C. A., Magalhães G. A., I. B. M., Tafuri W.-L. 2002. Immunohistochemical studies in acute and chronic canine chagasic cardiomyopathy. *Virchows Archives*, **441 (1)**:69–76.

Campos F. 1931. La chinche sanguinófila *Triatoma dimidiata* Latreille, y su amplia dispersión intraurbana. Peligros que entrañan su propagación y medios de combatirla. *Revista Colegio Nacional Villa Rocaforte* **13**:107-111.

Carabarin-Lima A., González-Vázquez M C., Baylon-Pacheco L. Rosales-Encina J L. 2011. ENFERMEDAD de Chagas: una enfermedad olvidada. *Elementos*, **84**:5-11

Carabarin-Lima A, González-Vázquez M C., Rodríguez-Morales O., Baylón-Pacheco L., Rosales-Encina J L, Reyes-López P A., Arce-Fonseca M. 2013. Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: An update. *Acta Tropica*, **127 (2)**: 126– 135.

Coura J. R. 2007. Chagas disease: What is known and what is needed- A background article. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **102**: 113-122.

Coura J. R., Dias J. C. P. 2009. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease 100 years after its discovery. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **104**: 31-40.

da Silva J. P. P., Arredondo C., De Oliveira V., Terranova E., Basmadján Y., Gonzalez M., Heinsen T. 2009. Enfermedad de Chagas en perros: Descripción de un caso clínico en Raza Cimarrón y su Diagnóstico Histopatológico. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*,. ISSN: 1695-7504, **10 (4)**.

de Rissio A. M., Scollo K., Cardoni R. L. 2009. La transmisión madre-hijo del *Trypanosoma cruzi* en la Argentina. *MEDICINA (Buenos Aires)* **69 (5)**: 529-535.

Diosque P., Padilla A. M., Cimino R. O., Cardozo R. M., Negrette O. S., Marco J. D., Basombrio M. A. 2004. Chagas disease in rural areas of Chaco Province, Argentina: Epidemiologic survey in humans, reservoirs, and vectors. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **71 (5)**:590-593.

Esch K. J., Petersen C. A. 2013 Transmission and Epidemiology of Zoonotic Protozoal Diseases of Companion Animals. *Clinical Microbiology Reviews*, **26 (1)**: 58-85

Escobar M. A., Segura L. E. 2005. Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en el Estado de Veracruz. *Salud pública Méx*, **47**:23-40.

Estrada-Franco JG, Bhatia V, Diaz-Albiter H, Ochoa-García L, Barbabosa A, Vazquez-Chagoyan J. C., Garg, N. 2006. Human *Trypanosoma cruzi* infection and seropositivity in dogs, México. *Emerging Infectious Diseases*, **12 (4)**:624.

Ettinger S., Feldman E. 1997. Tratado de Medicina Interna Veterinaria: Enfermedades del Perro y el Gato. Editorial Inter – Médica 4° ed. Vol 2. Buenos Aires, Argentina. Pp. 1363, 1364.

Galaviz-Silva L., Molina-Garza D. P., Gonzalez-Santos M. A., Mercado-Hernández R., González-Galaviz J. R., Rosales-Encina J. L., Molina-Garza Z. J. 2009. Update on seroprevalence of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies among blood donors in

northeast Mexico. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **81 (3)**: 404-406.

Garcés L., Guzmán-Bracho C. 2011. Seroprevalencia de *T. cruzi* en área rural y urbana en el municipio de Talaigua, Colombia. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, **28 (3)**: 275-283.

García-Vázquez Z., Rosario-Cruz R. Miranda-Miranda E., Domínguez-Marquez A. 1995. A serological survey of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs of two urban areas of Mexico. *Preventive Veterinary Medicine*. **25 (1)**: 1-6.

Graiff D. S., Zurbriggen G. F., Aleu G., Sequeira G., Faya M., Marini., B Basso, B. 2009. Seropositividad para *Trypanosoma cruzi* en caninos de la localidad de la Para (Córdoba, Argentina). *InVET*, **11(1)**: 11-14.

Greene, C. 2000. *Enfermedades Infecciosas en Perros y Gatos*. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana 2º ed. México D.F. Pp. 490 – 495. ISBN 0-7216-2737-4.

Guhl F. 2009. Enfermedad de Chagas: Realidad y perspectivas. *Revista Biomédica*, **20**:228-234.

Gurtler R. E., Cecere M. C., Castanera M. B., Canale D., Lauricella M. A., Chuit E., Cohen J. E., Segura E. L. 1996. Probability of infection with *Trypanosoma cruzi* of the vector *Triatoma infestans* fed on infected humans and dogs in northwest Argentina. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.*, **55 (1)**: 24-31.

Gurtler R. E., Cecere M. C., Laurcella M. A., Cardinal M. V., Kitron U., Cohen J. E. 2007. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parasitology*, **134(1)**: 69-82.

Guzmán B. C., Garcí G. L., Floriana V. D., Guerrero M. D., Torres C. M., Ramírez M. C., Velasco C. O. 1998. Riesgo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre en México. *Rev Panam Salud pública*, **4**:3-2.

Hernández J. L., Rebollar-Téllez E. A., Infante F., Morón A., Castillo A. 2010. Indicators of infestation, colonization and infection of *Triatoma dimidiata* (Latreille) (Hemiptera: Reduviidae) in Campeche, Mexico. *Neotropical Entomology*, **39 (6)**:1024-1031.

Ibarra V. F., Vera M. Y., Alcalá C. Y. 2009. *Parasitología Veterinaria Protozoarios*. Editorial: Acastdel, México, México. Pp. 215-220.

Imbert-Palafox J., Figueroa-Gutiérrez A., Gómez-Gómez J. 2013. Tripanosomiasis Americana o Mal de Chagas. Otra enfermedad de la pobreza. *Elementos: Ciencia y Cultura*, **10 (49)**: 3-21.

Jiménez-Coello M., Poot-Cob M, Ortega-Pacheco A., Guzman-Marin E., Ramos-Ligonio A., Sauri-Arceo C. H., Acosta-Viana K. Y. 2008. American Tripanosomiasis in dogs from an urban and rural area of Yucatan, Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, **8 (6)**: 755-762.

Jiménez-Coello M., Guzmán-Marín E., Ortega-Pacheco A., Acosta-Viana K. Y. 2010. Serological survey of American Trypanosomiasis in dogs and their owners from an urban area of Mérida Yucatán, México. *Transboundary and Emerging Diseases*. **57**: 33–36.

Kirchhoff L.V. 1993. American trypanosomiasis (Chagas disease) a tropical disease now in the United States. *N Engl J Med*. **329**: 639-644.

Metcalf R. 1975. Pest management strategies for the control of insects affecting man and domestic animals. *Introduction to Insect Pest Management*. New York: Wiley Pp: 559-560.

Moncayo A., Silveira A. 2009. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology. *Mem ist Oswaldo Cruz*. **104**: 17-30.

Montenegro V. M., Jiménez M., Dias J. C.,- Zeledón R. 2002. Chagas disease in dogs from endemic areas of Costa Rica. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **97(4)**: 491-494.

Petana W. B. 1971. American trypanosomiasis in British Honduras. X natural habitats and ecology of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera, Reduviidae) in the El Cayo and Toledo districts, and the prevalence of infection with *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* in the wild-caught bugs. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **65 (2)**: 169-178.

Peterson A. T., Sánchez-Cordero V., Ben Beard C., Ramsey J. M. 2002 Ecologic niche modeling and potential reservoirs for Chagas disease, México. *Emerging Infectology Disease*, **8**: 662-667.

Pereira K. S., Schmidt F. L., Guaraldo A. M. A., Franco R. M. B., Dias V. L., Passos L. A. C. 2009. Chagas' disease as a foodborne illness. *Journal of Food Protection®*, **72 (2)**: 441–446.

Pinto D. J. 2004. Tratamiento Etiológico de la enfermedad de Chagas. Pan American Health Organization. **31**: 129-134.

Portugal-García C., García-Vázquez Z., Monteón-Padilla V., Chávez-López V., Olamendi-Portugal M., Ramos C. 2011. Anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en humanos y perros y presencia del parásito en *Meccus pallidipennis* en la localidad de Puente Pantitlán, Morelos, México. *Revista Biomédica*, **22**: 67-75.

Quijano-Hernández A., Castro-Barcena A., Barbabosa-Pliego A., Ochoa-García L., Del Ángel-Caraza J., Vázquez-Chagoyán J.C. 2012. Seroprevalence survey of American trypanosomiasis in Central Valley of Toluca. *The Scientific World Journal*, article ID: 2450619.

Ramsey J. M, Ordóñez R., Tello L. A., Pohls J. L., Sánchez V., Peterson A. T. 2003 Actualidades sobre la epidemiología de la Enfermedad de Chagas en México; iniciativa para la vigilancia y el control de la Enfermedad de Chagas, en la República Mexicana. *Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca Morelos*, **1**: 85-103.

Ramsey J. M., Ordóñez R., Cruz-Celis A., Alvear A. L., Chavez V., López R., Pintor J. R., Gama F., Carrillo S. 2000. Distribution of domestic *Triatominae* and stratification of Chagas disease transmission in Oaxaca, México. *Medical and Veterinary Entomology*, **14**:19-30.

Romero P.M., Sánchez V.J. 2008. Seroprevalencia de *Trypanosoma cruzi* por la técnica de IFI en población canina de Tolima, Colombia. *Veet.zootec.*, **2(2)**: 48-52

Rosypal A. C., Tripp S., Kinlaw C., Sharma R. N., Stone D., Dubey J. P. 2010. Seroprevalence of canine leishmaniasis and American trypanosomiasis in dogs from Grenada, West Indies. *Journal of Parasitology*, **96** (1):228-229.

Schmunis G. A. 1999. Riesgo de la enfermedad de Chagas a través de las transfusiones en las Américas. *MEDICINA (Buenos Aires)*, **59 (2)**: 125-134.

Schmunis G. A. 2007. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **102**: 75-85.

Schofield C. J., Galvão C. 2009. Classification, evolution, and species groups within the *Triatominae*. *Acta Tropica*, **110 (2)**: 88–100.

Segura E. L., Sosa-Estani S., Esquivel M. L., Gómez A., Salomón O. D., de Desarrollo G., Operativa A. 1999. Control de la transmisión de *Trypanosoma cruzi* en la Argentina 1999. *Medicina (Buenos Aires)*, **59**:91-96.

Segura E. L., Escobar-Mesa A. 2006. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz. *Salud Pública de México*, **47(3)**:201-208.

Senior K. 2007. Chagas disease moving towards global elimination. *Lancet infectious diseases*, **7**(7).

Silveira A. C., Dias J. C. P. 2011. O controle da transmissãoo vetorial. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **44**: 52–63.

Sosa-Jurado F., Zumaquero-Ríos J., Reyes P., Cruz-García A., Guzmán-Bracho C., Monteón V. 2004. Factores bióticos y abióticos que determinan la seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en el municipio de Palmar de Bravo, Puebla, México. *Salud Pública de México*. **46 (1)**: 39-48.

Tabaru Y., Monroy C., Rodas A., Mejía M., Rosales R. 1999. The geographical distribution of vectors of Chagas' disease and populations at risk of infection in Guatemala. *Medical Entomology and Zoology* **50**: 9-17.

Teixeira D. E., Benchimol M., Crepaldi P. H., de Souza W. 2012. Interactive multimedia to teach the life cycle of *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas Disease. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **6 (8)**: 1749.

Thrusfield M. 2005. *Veterinary epidemiology*. 3rd edition. Blackwell Science, Oxford, England, 600 Pp.

Velasco-Castrejón O., Guzmán-Bracho C. 1986. Importancia de la enfermedad de Chagas en México. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, **28 (3)**: 275-283.

Tibayrenc M., Waard P., Moya A., Ayala F. 2003. Natural populations of *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease, have a complex multi-clonal structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **83 (1)**: 115-119.

Toso A., Vial F., Galanti N. 2011. Transmisión de la Enfermedad de Chagas por vía oral. *Rev. méd.* **139 (2)**: 258-266.

Turriago G.C., Vallejo A., Guhl F. 2008. Seroprevalencia de *Trypanosoma cruzi* en perros de dos áreas endémicas de Colombia. *Rev. Med*, 16:20-22.

Velasco-Castrejón O., Valdespino J. L., Tapia-Conyer R., Salvatierra B., Guzmán-Bracho C., Magos C., Llausás A., Gutiérrez G., Sepiilveda J. 1992. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. *Salud Pública de México*, 34 (2):186-196.

Velasco-Castrejón, Ó., Rivas-Sánchez, B. 2008. Apuntes para la historia de la enfermedad de Chagas en México. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, **65(1)**: 57-79.

Vidal-Acosta V., Ibáñez-Bernal S., Martínez-Campos C 2000. Infección natural de chinches *Triatominae* con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud Pública de México*, **42 (6)**: 496-503.

Webster J. P., Shrivastava J., Johnson P., Blair L. 2007. Is host-schistosome coevolution going anywhere? *BMC Evolutionary. Biology*. **7**: 91.

World Health Organization (WHO). Control of Chagas disease. Second report of the WHO Expert Committee. Technical report series no 905. Geneva: World Health Organization, 2002. [En Línea] http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_905.pdf

World Health Organization (WHO). Chagas disease. Seven teenth programme report UNDP/ TDR. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2005. [En Línea] <http://www.who.int/tdr/publications/documents/progress-report-03-04.pdf>

World Health Organization (WHO). Working to overcome the global impact neglected tropical diseases. First WHO Report on neglected tropical diseases 2011.[En Línea] http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564090_eng.pdf

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

Zeledón R., Montenegro V. M., Zeledón O. 2001. Evidence of colonization of man-made ecotopes by *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811) in Costa Rica. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **96 (5)**:659-660.

ANEXO



Universidad Veracruzana

**Encuesta Individual en Perros
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Veracruzana
Circunvalación Esq. Yañez Tels. y Fax: + 52 (229) 9344053
C.P.91710 Veracruz, Ver. 9342075**

FOLIO: _____

LOCALIDAD: _____

FECHA: _____

-Datos

Propietario: _____

Edad: _____ Sexo: _____

Domicilio: _____

Escolaridad: _____

1. ¿Tiene perros en la casa? SI No

2. ¿En qué lugar de la casa duerme el perro?

a) Dentro de la casa b) Fuera de la casa

3. Tipo de material con el que está construido el techo de la casa.

a) Palma b) Lámina c) Cemento c) Otro

4. Tipo de material con el que está construida la pared de la casa.

a) Madera b) Lámina c) Cemento c) Otro

5. Tipo de material que tiene el piso de la casa.

a) Cemento b) Tierra c) otro

6. ¿La pared de la casa tiene fisuras (grietas, pared cuarteada)?

SI No

7. ¿Ha visto chinches en su casa?

SI No

8 ¿Alguna de las camas se encuentra junto a la pared?

SI No

9. ¿Cuántas personas habitan en la casa?_____

10. ¿Cuántas habitaciones hay en la casa?_____

11. ¿Cuántas personas duermen en la habitación? _____

12. ¿Cuántas ventanas hay en las habitaciones?_____

13. ¿Cuántos focos hay en las habitaciones?_____

14. ¿Ha fumigado recientemente su casa o la habitación?

SI No

15.. ¿Con que?

DATOS DEL PERRO

LOCALIDAD: _____

FECHA: _____

PROPIETARIO: _____

-DATOS-

Nombre: _____

Raza: _____

Sexo: _____

Edad: _____

Condición corporal (5-10): _____

¿Se ha aplicado algún tratamiento contra garrapatas y pulgas?

Si No

¿Hace cuánto tiempo se lo aplicó?_____