

1. ¿Cuántas especies de insectos pueden ser hospedadores intermediarios de *Trypanosoma cruzi* y por lo tanto vectores de la transmisión de la enfermedad? ¿Qué características tiene *Triatoma infestans* que la hace particularmente peligrosa?

En toda América existen más de cien especies de insectos que pueden transmitir la Enfermedad de Chagas. Sin embargo no todas estas especies tienen el mismo impacto epidemiológico. En el Cono Sur, *Triatoma infestans* es la especie con mayor impacto por tratarse de un insecto doméstico, muy adaptado a convivir con el hombre. En otras regiones del continente hay otras especies domésticas, como por ejemplo *Rodnius prolixus* en Brasil, que tienen un impacto epidemiológico similar al de *T. infestans* en nuestro país. El impacto epidemiológico del resto de las especies depende de cuanto se crucen con el hombre y su hábitat, siendo las asociadas a ambientes más silvestres las que tienen menor impacto. En cuanto al nombre “Vinchuca”, es un nombre genérico que en nuestro país refiere a *T. infestans*, pero que no se circunscribe necesariamente a esta especie.

¿Que animales son usualmente reservorios de *T. cruzi*?

En el ciclo silvestre una cantidad importante de mamíferos silvestres pequeños pueden ser reservorios de *T. cruzi*. Entre ellos se destacan las mulitas y distintas especies del género *Opposum* como las comadreas. En el ciclo doméstico el reservorio más importante son los perros.

2. ¿Cómo se denomina el proceso de transformación de epimastigotes a tripomastigotes metacíclicos que se da en el recto de los triatominos?

La transformación de epimastigotes en tripomastigotes metacíclicos se denomina metaciclogénesis.

¿Que factores disparan la metaciclogénesis?

En el intestino medio de los triatominos los epimastigotes sufren una situación de hambre por falta de nutrientes que dispara la metaciclogénesis. Este proceso puede ser inducido *in vitro* incubando los parásitos con un medio sintético pobre, que simula la composición de las deyecciones de los triatominos.

3. ¿Dónde se desarrollan los amastigotes intracelulares?

Los amastigotes se desarrollan en el citoplasma de la célula infectada. Cuando un tripomastigote ingresa a una célula fagocítica profesional quedan dentro del fagosoma pero escapan del mismo antes que se fusione con el lisosoma. Cuando infectan una célula no fagocítica, los tripomastigotes ingresan activamente induciendo el reclutamiento de ciertos componentes de la membrana de modo tal que ingresan rodeado de una vesícula, denominada

parasitófora. Posteriormente el parásito sale de esta vesícula y prosigue su desarrollo en el citoplasma.

4. ¿A que se refiere la clasificación de los métodos de diagnóstico como directos o indirectos? ¿Todos los métodos directos e indirectos conocidos son iguales en cuanto a su especificidad y sensibilidad?

Los métodos directos son los que permiten detectar a los parásitos o a componentes de los parásitos. Mientras que los indirectos detectan los anticuerpos que generados por la infección.

No todos los métodos directos que conocemos tienen la misma sensibilidad. Los de mayor sensibilidad son el Strout (y su versión micro Strout adaptado a volúmenes pequeños) y la PCR. La gota gruesa, la gota fina tienen menos sensibilidad. El frotis no debiera ser considerado un método de diagnóstico de Chagas, si bien en casos de alta parasitemia pueden verse tripomastigotes en un frotis y realizar el diagnóstico por este método. Otros métodos directos que ya casi no son utilizados son el xenodiagnóstico, el hemocultivo y la infección de animales susceptibles.

Los métodos indirectos difieren tanto en su sensibilidad como en su especificidad. Estas diferencias están asociadas tanto a los fundamentos de cada método como a las características diferentes que puedan tener los kits basados en un mismo método, pero de origen distinto. Por ejemplo, cada ELISA utiliza antígenos diferentes según el diseño y la puesta a punto que haya realizado su fabricante.

¿En qué fase de la enfermedad se puede utilizar cada método?

Tradicionalmente los métodos directos son utilizados para el diagnóstico durante la fase aguda de la enfermedad y los indirectos durante la fase crónica.

Desde su desarrollo, se sabe que xenodiagnóstico tiene alrededor de 40% de sensibilidad en la fase crónica, lo cual indica que en esta fase no hay una desaparición completa de la parasitemia, sino la persistencia de una microparasitemia de valores variables en el tiempo para la misma persona. La mejora de los protocolos de PCR hizo que su sensibilidad en la fase crónica haya aumentado. Actualmente la PCR se utiliza para testear la desaparición de microparasitemia luego del tratamiento en enfermos crónicos.

¿Como se realiza el xenodiagnóstico?

Para el xenodiagnóstico se utilizan cuatro cajas de unos 5 cm de diámetro con el fondo de gasa. En las cajas se colocan diez ninfas (con al menos 15 días de ayuno) y se coloca una caja en cada una de las extremidades durante 25-30 minutos. Luego de 30 días se aprieta el abdomen de los insectos y se buscan, por microscopía, parásitos en las heces. De ser negativo se debe volver a analizar las heces a los 60 días.

La observación se hace buscando en fresco los tripomastigotes metacíclicos. Se suelen realizar “pooles” de heces de distintos insectos. Una forma de aumentar la sensibilidad del método es analizar las heces por PCR.

¿Por qué ya no se utilizan el xenodiagnóstico, el hemocultivo y la infección de animales susceptibles, como métodos diagnósticos?

Si bien la picadura de la vinchuca es indolora el xenodiagnóstico es considerado un método cruento que ya ha sido dejado de lado por varias razones (entre ellas que requiere del mantenimiento de una colonia de vinchucas). El hemocultivo tiene una sensibilidad baja que depende directamente del número de parásitos inoculados y su sensibilidad no ha sido mejorada con el tiempo. La inoculación de animales de experimentación es un método complejo que requiere personal calificado y una infraestructura costosa para su realización. Por otra parte, la sensibilidad promedio no es mayor al 50 % en pacientes crónicos y es variable según el tipo de cepa.

5. ¿Cual es la regla general para realizar un diagnóstico serológico de Chagas?

Para informar un diagnóstico serológico de Chagas hace falta tener dos resultados concordantes realizados con métodos distintos, (en este caso dos determinaciones mediante ELISA con equipos de distinto origen son considerados métodos distintos). En el caso que haya discordancia entre los resultados de los dos ensayos, se debe realizar un tercero. Se suele dejar el método de IFI como tercer método.

6. ¿Qué porcentaje de enfermos de Chagas crónicos desarrollan patología?

Entre el 25 y el 30% de los chagásicos crónicos desarrollan patología.

¿Cuales son los órganos afectados y por qué?

Los órganos más afectados son el corazón (cardiopatía chagásica) y las vísceras huecas como el esófago y el colon (megaesófago y megacolon). En el caso de las megavísceras, la infección produce la pérdida de enervación de la musculatura lisa con la consecuente alteración del peristaltismo. En el caso de la cardiopatía, la etiología de las lesiones es mas compleja y ha sido relacionada con la infección de células del miocardio, con deficiencias en la enervación del músculo cardíaco y con mecanismos autoinmunes desarrollados como resultado de la respuesta inmunológica a la infección.

7. ¿Cuales son las formas de transmisión de la enfermedad de Chagas?

Las formas naturales de transmisión son la vectorial y la transplacentaria. Existen otras formas de transmisión como a través de transfusiones sanguíneas, trasplantes de órganos y accidentes de laboratorio. En los últimos años se han descrito episodios de infección oral.

¿Cuál es la forma de infección con mayor impacto en nuestro país actualmente?

Debido a los planes de erradicación de los triatominos por rociado de zonas domiciliarias y peridomiciliarias con insecticidas, la transmisión vectorial ha mostrado una disminución sostenida en los últimos 15 años. Los estudios epidemiológicos sugieren que en la actualidad sería más frecuente la transmisión materno-fetal que la vectorial; sin embargo el número de casos reportados de infección vectorial todavía es mayor que el número reportado de infecciones transplacentarias.

8. ¿Qué porcentaje de madres chagásicas transmiten la infección a sus hijos durante el embarazo?

Los distintos estudios de infección transplacentaria muestran valores de entre el 2,5% y el 10% de transmisión. Estas diferencias pueden deberse a distintos factores. Por un lado, a factores intrínsecos a la infección, concretamente a características de las cepas con mayor circulación en la región donde se realizó el ensayo. Por otro lado, las diferencias también pueden estar reflejando la variación de sensibilidad de los métodos de diagnóstico que se utilizaron en cada estudio.

9. ¿Cómo se realiza el diagnóstico de un niño recién nacido de una madre chagásica?

El recién nacido de una madre con serología positiva para Chagas debe ser seguido durante un año antes para confirmar o descartar definitivamente la infección intraplacentaria. Si bien hay distintos algoritmos, conceptualmente se deben tener en cuenta los siguientes lineamientos:

Al momento del nacimiento y durante los primeros cuatro meses se debe buscar parasitemia mediante métodos directos (micro Strout y/o PCR). En el caso de resultado positivo, el niño debe ser tratado. En el caso de resultado negativo, se debe seguir la evolución de la serología al menos hasta el mes diez. Normalmente, el niño nace con serología positiva por transferencia de anticuerpos maternos, la cual debe desaparecer entre el mes ocho y el diez. Si la serología posterior al mes 10 resulta positiva el niño debe ser tratado.

¿Qué material se utiliza para realizar una PCR los niños recién nacidos y/o primeros meses de vida?

El material sugerido para la realización de PCR en niños recién nacidos es la sangre de cordón umbilical. Posteriormente se utiliza sangre de talón.

10. ¿De qué se trata la infección por vía oral?

En los últimos años ha habido brotes de infección con *T. cruzi* por consumo de alimentos infectados con heces de triatomíneos. En general se trata de jugos de frutas o de caña de azúcar cuya materia prima, al ser procesada, contenía insectos infectados. Los tripomastigotes metacíclicos pueden ingresar fácilmente a través de la mucosa oral y gástrica. Después de un periodo de latencia de cinco días a partir de la ingestión, la infección oral se caracteriza por manifestaciones graves, como fiebre prolongada, miocarditis aguda, falla cardíaca y, en algunos casos, meningoencefalitis. Esto puede deberse a que esta vía de infección hace llegar rápidamente los tripomastigotes al torrente sanguíneo, facilitando la aparición de una alta parasitemia en forma más rápida que la infección a través de la piel (algo similar suele pasar en infecciones por transfusión sanguínea o por accidentes en el laboratorio).

A raíz de la aparición de estos brotes de infección oral se han realizado estudios epidemiológicos que sugieren que habría una forma de infección oral en el ciclo natural en algunas regiones de la amazonia por el consumo de frutos contaminados con heces de los triatomíneos (inclusive en ausencia de los insectos), si bien todavía no está completamente esclarecido cómo ocurre.

11. ¿Que tipo de células son infectadas principalmente en las primeras etapas de la infección?

Trypanosoma cruzi puede infectar prácticamente cualquier tipo de célula nucleada, si bien tiene un mayor tropismo por células musculares y del SNC. Sin embargo, al inicio de la infección las células mayormente infectadas son los macrófagos. Esto se debe a que la inflamación producida por la picadura del triatómino recluta macrófagos que fagocitan los parásitos presentes en el lugar.

¿Cómo progresa la infección desde el lugar de la picadura hasta llegar a los tejidos más profundos?

En un primer momento las células infectadas son macrófagos u otras células fagocíticas profesionales. Estas células tienen dos funciones principales: eliminar a los parásitos y exponer los antígenos parasitarios en el marco de los complejos de histocompatibilidad tipo I y II para la activación de linfocitos T. Para la eliminación de los parásitos las células macrofágicas producen especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico (NO). El NO producido es liberado a la circulación e incide en la actividad de los linfocitos de los ganglios inhibiendo el avance de la respuesta inmune (concretamente a través de su efecto citostático que inhibe la proliferación de los linfocitos T y B). De este modo se produce un retardo en la aparición de los anticuerpos, que permite a los parásitos alcanzar, a través de la circulación sanguínea, los tejidos profundos. Una vez que comienza la producción de anticuerpos los parásitos son eliminados de circulación, pero los nidos de amastigotes, presentes

principalmente en células musculares, aseguran el pasaje de la infección a la forma crónica.

12. ¿En que tejidos se ubican preferentemente los nidos de amastigotes presentes en la etapa crónica?

Si bien cualquier célula puede estar infectada, los nidos de amastigotes que persisten durante la etapa crónica se encuentran mayormente en células del músculo esquelético.

13. ¿Luego de cuanto tiempo de la infección se da el pasaje de fase aguda a la crónica? ¿Qué ocurre con la parasitemia a partir de esta transición? ¿Por qué?

En el caso particular de la transmisión vectorial, la fase aguda se inicia con la infección y generalmente es asintomática. Cuando ocurren los síntomas, los más comunes son: inflamación en el sitio de inoculación (Chagoma), edema palpebral unilateral (signo de Romaña), fiebre y dolor de cabeza. Esta fase cursa con alta parasitemia y usualmente se resuelve espontáneamente; sin embargo, algunos pocos casos aislados pueden llevar a la muerte. La desaparición de la parasitemia ocurre entre dos y cuatro meses luego de la infección, coincide con la desaparición de los síntomas en los casos en que los hubiera y se considera el inicio de la fase crónica (denominada crónica asintomática hasta que no se evidencien síntomas de la patología).

¿En que porcentaje de los infectados se observa el signo de Romaña?

Si bien se trata de un signo patognomónico de la enfermedad, el signo de Romaña solo se observa en aproximadamente un 5 % de los casos de infección vectorial.