

# Descripción de la enfermedad de Chagas en el Valle de Iguala Guerrero, México

Marco Antonio Becerril-Flores\* Alfredo Valle-De La Cruz\*\*

Recepción versión modificada: 8 de octubre de 2002

aceptación: 8 de enero de 2003

## Resumen

*En zonas costeras y del sur del Estado de Guerrero en México, se ha reportado la presencia de triatomíneos transmisores de Trypanosoma cruzi, agente causal de la enfermedad de Chagas, así como el hallazgo de personas infectadas. Sin embargo, en el valle de Iguala no hay informes completos. Para conocer con mayor precisión las zonas endémicas, en este trabajo se describe la situación actual de la enfermedad en esta región con relación a personas seropositivas y su condición de salud, a triatomíneos infectados con T. cruzi, y a las características que presentan las viviendas.*

*Se demostró una seroprevalencia del 1.8%, por ELISA indirecta y aglutinación en látex en sueros de 450 individuos de tres municipios del valle, se colectaron 71 triatomíneos (38.2% infectados con T. cruzi), la única especie encontrada fue Triatoma pallidipennis. Ninguna de las personas seropositivas presentó problemas intestinales ni cardíacos. Se observó mayor porcentaje de triatomíneos infectados en zonas rurales que en las urbanas dentro del valle. Los resultados indican considerable riesgo de infección en el valle de Iguala pero se requieren estudios sobre la capacidad infectiva de las cepas de T. cruzi.*

**Palabras clave:** Trypanosoma cruzi, enfermedad de Chagas, triatomíneos, Triatoma pallidipennis, seroprevalencia.

## Summary

*There are reports regarding the presence of triatomine vectors of Trypanosoma cruzi, the causal agent of Chagas' disease, and infected individuals on the coast and zones south of the State of Guerrero, Mexico. Nonetheless, there are no completed reports in the Valley of Iguala. To know with greater precision endemic zones, seropositive individuals, and their health condition, T. cruzi-infected triatomines and characteristics of dwellings were studied. Seroprevalence was 1.8% by indirect ELISA and latex agglutination techniques were carried out in serum of 450 individuals of three municipalities of the Valley of Iguala. We reported presence of triatomine and conditions of dwellings. Of 71 triatomines collected, 38.2% were infected with T. cruzi. Triatoma pallidipennis was the only triatomine species found. No seropositive persons presented intestinal or cardiac problems. The greaterst percentage of infected triatomines was observed in rural zones as compared to urban. Results suggest considerable risk of infection in the Valley of Iguala but studies regarding the infectivity capacity of T. cruzi strains are required.*

**Key words:** Trypanosoma cruzi, Chagas disease, Triatomines, Triatoma pallidipennis, seroprevalence.

\*Área académica de Medicina. Instituto de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

\*\*Departamento de Biología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Marco Antonio Becerril Flores. Dr. Eliseo Ramírez Ulloa 400. Col. Doctores, 42090 Pachuca de Soto, Estado de Hidalgo. México.

**Introducción**

Dentro de la República Mexicana, y particularmente en regiones de clima tropical, uno de los principales problemas de salud pública es la enfermedad de Chagas, causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, el cual es transmitido al ser humano y a animales de sangre caliente por insectos triatomínicos.<sup>1</sup> Según la Encuesta Nacional Serológica (ENSE) realizada a finales de la década de los 80 en el siglo anterior, hay personas seropositivas a *T. cruzi* y triatomínicos transmisores en todo el país, excepto en la Ciudad de México.<sup>2,3</sup>

Uno de los Estados que reportan infección en humanos y presencia de diversas especies de triatomínicos es el Estado de Guerrero.<sup>3</sup> Allí se han efectuado estudios en varios municipios, principalmente en la zona costera y algunos al centro y sur que colindan con el Estado de México.<sup>4,5</sup> Los datos de seroprevalencia humana y la descripción de especies de triatomínicos varían en cada estudio realizado.<sup>4-8</sup> No obstante que tales reportes muestran la existencia de esta parasitosis, hay regiones de igual importancia cuyo estudio contribuiría a tener un panorama más completo de la situación de esta enfermedad. Esta información permitirá ejercer medidas más eficaces para el control de la infección y estimar los riesgos en ciertas regiones.<sup>8,9</sup> Una de estas áreas es el Valle de Iguala que está formado por municipios rurales y urbanos, es una zona que colinda con el Estado de Morelos donde hay considerable transmisión de la enfermedad de Chagas.<sup>10,11</sup> Por tal razón, el presente estudio tiene la finalidad de conocer la situación actual de la enfermedad de Chagas en este valle.

**Material y métodos**

*Población de estudio*

El valle de Iguala está formado por varios municipios. Se encuentra ubicado en una meseta a una altura de 740 m sobre el nivel del mar y a 18°20' latitud norte y 99°33'

longitud oeste del meridiano de Greenwich. El clima es cálido, con temperatura media anual de 26.5 °C y precipitación pluvial de 960 mm. Para el estudio se seleccionaron tres municipios representativos del valle con características ecológicas, demográficas y sociales opuestas: "Tepecoacuilco de Trujano", "Huitzuco de los Figueroa" e "Iguala de la Independencia", los cuales denominaremos Tepecoacuilco, Huitzuco e Iguala, respectivamente. El primero tiene una población de 30,848 habitantes, Huitzuco 35,581 habitantes e Iguala 123,883 habitantes. Las primeras dos poblaciones tienen bajo nivel de urbanización y son rurales con escasos recursos sanitarios. Iguala es una zona urbana con servicios sanitarios completos. El tamaño de muestra se calculó de acuerdo al siguiente criterio: se ha reportado una seroprevalencia del 1.7% para Guerrero con una población estudiada de 1591 sueros.<sup>2</sup> Para calcular el tamaño de muestra se consideraron los datos reportados por la ENSE<sup>2</sup>, con la siguiente ecuación:  $N = \sigma^2 a (p q) / e^2$  donde  $\sigma^2 a$  = desviación normal con un error permisible del 95% en una distribución normal y cuyo valor es de (1.96)<sup>12</sup>; P = tasa de prevalencia, 1.7% = 0.017 y q = 1 - P, e = error máximo permisible, del 5% (0.05). Esto da N = 25.68. Utilizando la prevalencia máxima reportada para el estado de Guerrero que es del 20%, la ecuación da N = 246. Esto significa que el muestreo tiene que oscilar al menos entre 26 y 246 individuos. En este estudio se muestreo un total de 450 personas, que rebasa el valor calculado estadísticamente, así garantizamos que el resultado será estadísticamente confiable, con un error máximo del 5%.<sup>12</sup>

*Colecta de sueros*

Se colectaron 450 sueros de habitantes del valle de Iguala. A cada individuo se le extrajeron 3 mL de sangre venosa que se dejó coagular 20 min a temperatura ambiente y después de separar el coágulo se centrifugó a 4000 r.p.m. durante 15 min. El suero se separó y se almacenó en tubos de polipropileno de 1.5 mL que se congelaron a -20°C hasta su uso.

**Cuadro I. Resultados serológicos a *T. cruzi* en los tres municipios estudiados.**

Municipio	Número Individuos	ELISA + A.L. positivos/total (%)	Número de positivos/número total por rango de edad (año) y sexo*				
			30 a 40	40 a 50	50 a 60	60 a 70	70 a 80
Tepecoacuilco	153	3/153 (1.96)	1/2(M)	0/2	1/3 (M)	1/1(F)	0/0
Huitzuco	40	0/40 (0)	0/9	0/8	0/5	0/2	0/0
Iguala	257	5/257 (1.94)	1/37(M)	1/45 (F)	0/42	2/42 (F-M)	1/19 (F)
Total	450	8/450 (1.78)					

\* F=femenino; M=masculino

M=4 (de 30 a 70 años), F=4 (de 40 a 80 años)

*Detección de anticuerpos anti-T. cruzi por ELISA indirecto*

Las cepas brasileñas "CL" y "Y" de *T. cruzi* se mantuvieron por varios pases en medio de cultivo LIT (liver infusión-tryptose).<sup>13</sup> Para la preparación del extracto antigénico para la prueba de ELISA, se utilizaron parásitos en fase de epimastigote y en fase exponencial de crecimiento que se lavaron tres veces en PBS (solución salina amortiguadora de fosfatos pH 7.2, NaCl 0.15M, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 10 mM) centrifugando entre cada lavado a 940 x g. Los parásitos centrifugados se resuspendieron y se sonicaron 10 veces a 40 W con pulsos de 30 segundos, y descansos de 30 segundos con un sonicador "ultrasonic homogeneize" (Cole-Parmer, Chicago, Ill). El sonicado se centrifugó a 10 000 X g a 4°C durante 30 min. El sobrenadante se recuperó y para obtenerlo estéril se filtró en membranas de 0.22 µm. La concentración de proteínas se determinó por un ensayo de proteínas BIO-Rad (Bio-Rad, Richmond, Calif.), empleando albúmina sérica bovina como estándar. El extracto soluble a concentración de 5 µg/mL se colocó en cada pozo de placas de poliestireno de 96 pozos (COSTAR, Cambridge, E.I.A/R.I.A. flat bottom, medium binding). Las placas se lavaron previamente con solución PBS con Tween 20 al 0.05% (PBS-T20) y se bloquearon con albúmina sérica bovina al 0.5% por 2 horas a temperatura ambiente (TA). Después de lavar las placas tres veces con PBS-T20 se colocaron en los pozos los sueros previamente diluidos 1:100 con PBS-T20 y se incubaron a 37°C durante 30 min. Se lavaron nuevamente las placas con PBS-T20 tres veces y se colocó en cada pozo suero anti-inmunoglobulina humana de clase IgG (cadenas γ) unida a la enzima peroxidasa (DAKO, Glostrup, Denmark). Se incubaron durante 30 min a 37°C; Después de lavarse tres veces con PBS se colocó el sustrato de la enzima peroxidasa en este caso Dihidrocloruro de O-fenilendiamina (OPD) y la reacción se detuvo con solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N después de incubar a temperatura ambiente, en ausencia de luz, durante 10 a 30 min. La intensidad del color observado se detectó en un espectrofotómetro (benchmark microplatereader, BIORAD) a 490 nm. La técnica se

realizó para cada uno de los 450 sueros empleando 10 sueros como control positivo y 10 como control negativo. El punto de corte se consideró con una absorbancia de 0.2 ya que este valor está por arriba de la absorbancia promedio de 10 sueros control negativo más tres desviaciones estándar y por debajo del promedio de la absorbancia de 6 sueros control positivo. Todo aquel suero con absorbancia mayor al punto de corte se consideró positivo a *T. cruzi*.

*Detección de anticuerpos anti-T. cruzi por la técnica de aglutinación en látex*

Los 450 sueros se sometieron a la prueba de aglutinación en látex. Para ello se empleó un kit de diagnóstico DIAGNOTEX CHAGAS) marca Sanofi Pasteur Diagnostics. De acuerdo a las instrucciones las partículas de látex sensibilizadas con antígenos citoplasmáticos y de membrana de la cepa brasileña CL de *Trypanosoma cruzi* se incubaron con los sueros de los individuos y un líquido de contraste (no especificado en el kit). Ambos se mezclaron en portaobjetos para observar la presencia de aglutinación que indicó reacción positiva. Las reacciones se compararon con los resultados de los sueros control positivo y negativo. En caso positivo se presentó una aglutinación visible a simple vista como un precipitado blanco. Los sueros que resultaron positivos se titularon realizando diluciones al doble desde 1:2 hasta 1:1256.

*Evaluación del estado de salud de los individuos seropositivos*

A las personas seropositivas se les interrogó sobre su estado de salud con relación a signos de puerta de entrada de *Trypanosoma cruzi* (signo de romaña, chagoma de inoculación, etc.), sintomatología en aparato digestivo y posibles problemas cardiacos. Asimismo se les realizó un electrocardiograma (ECG) mediante un aparato Burdick EK 10.

**Cuadro II. Triatomos encontrados en cada municipio. Fases y sexo de cada uno e infección con *T. cruzi***

Municipio	Número Triatomos	Especie	Fases					Sexo		Infectados/Total (%) <i>Trypanosoma cruzi</i>		
			Huevo	1°	2°	3°	4°	5°	Hembra		Macho	
Tepecoacuilco	22	<i>T. pallidipenis</i>	0	0	0	0	1 (0)	1 (1)	1 (1)	8 (3)	10/22 (45.5)	
Huitzuco	12	<i>T. pallidipenis</i>	0	0	0	1 (0)	0	3 (0)	3 (2)	5 (1)	3/12 (25.)	
Iguala	37	<i>T. pallidipenis</i>	0	0	0	0	8 (2)	8 (2)	18 (4)	11 (4)	10/37 (27.03)	
Total	71						1	1	12	24	33	23/71 (32.4)

Cuadro III. Características de las viviendas de individuos

Municipio	Número de seropositivos	Número de seronegativos	Tipo de vivienda	Viviendas de seropositivos				
				Paredes	Reboque	Techo	Anexos	Animales domésticos
Tepecoacuilco	3	150	Rural	100%	0%	0%	33%	100%
Huitzucó	0	40	Rural	*	*	*	*	*
Iguala	5	252	Urbana	100%	100%	100%	80%	60%

\*No hay seropositivos

### Encuesta epidemiológica

A todos los individuos estudiados se les aplicó un cuestionario en el que se especifican las características de construcción de sus viviendas y si han sido fumigadas, al conocimiento de triatomíneos y la convivencia con animales domésticos.

### Colecta de Triatomíneos

En la vivienda de cada individuo estudiado se inspeccionó la presencia de triatomíneos buscando por dentro y fuera de cada casa en un diámetro de 20 a 40 metros. El número de viviendas fue de 82. De ellas se colectaron triatomíneos, se identificó la especie, la fase de desarrollo de acuerdo a Lent y Wigdozinsky<sup>14</sup>. También se buscó la presencia de *T. cruzi* presionando el abdomen de cada insecto para provocar su defecación bajo estricto cuidado empleando mascarilla protectora, guantes y estuche de disección para evitar el contacto con los microorganismos. La muestra de heces del triatomíneo se colocó entre porta y cubreobjetos para observar la bajo el microscopio y buscar la presencia de flagelados, cuando se encontraron se sembraron en medios de cultivo NNN<sup>15</sup> y se tiñeron con Giemsa para describir su morfología y definir a *T. cruzi*.

## Resultados

### Seropositividad a *Trypanosoma cruzi*

En el cuadro I se presentan los resultados serológicos de la población estudiada. Resalta el alto porcentaje de seropositivos, del 1.78%, (en dos municipios las seroprevalencias resultaron 1.96 y 1.94% y sólo en Huitzucó no se encontraron seropositivos). Los individuos positivos a *Trypanosoma cruzi* fueron personas adultas, maduras o de edad avanzada (30 a 80 años). No hubo relación entre infección y sexo. En general, los hombres fueron ligeramente más jóvenes que las muje-

res. Cabe decir que ninguno de los ocho casos de infección presentaron alteraciones en el ECG, signos de puerta de entrada al parásito ni sintomatología digestiva.

### Triatomíneos en el valle de Iguala

Con relación a la presencia de triatomíneos, en el cuadro II se observa que en los tres municipios estudiados se encontraron estos transmisores. La única especie encontrada pertenece a *Triatoma pallidipennis*, sólo se observaron individuos del tercer estadio y adultos, la mayoría fueron adultos: 20 de 22 ejemplares en Tepecoacuilco, 8 de 12 en Huitzucó y 29 de 37 en Iguala. En Tepecoacuilco e Iguala hay más hembras que machos. En promedio el 32.4% de los triatomíneos estaban infectados, generalmente más hembras que machos y más adultos que ninfas. En Tepecoacuilco, el promedio de infectados fue mayor que en Iguala y Huitzucó.

### Serología y condiciones epidemiológicas

En Tepecoacuilco y en Huitzucó la construcción de las viviendas tenía menor infraestructura que en Iguala, pero los resultados de infección humana no se relacionaron con las condiciones de construcción de las viviendas. Sin embargo, la presencia de triatomíneos fue mayor en las zonas rurales (Tepecoacuilco y Huitzucó) que en zonas urbanas como Iguala (cuadro III).

## Discusión

El hecho de encontrar un porcentaje de seropositivos de 1.78% confirma el resultado obtenido por la ENSE<sup>2</sup> de 1.7%. Esto significa que, en promedio, en el valle de Iguala 2 de cada 100 habitantes están infectados con *Trypanosoma cruzi*; no presentan problemas cardíacos por lo cual podría decirse que estos individuos estaban infectados pero no enfermos, indicando que estos

seropositivo y seronegativos a *T. cruzi*.

Presencia de Triatominos	No. de viviendas	Viviendas de seronegativos					Presencia de triatominos	No. de viviendas
		Paredes	Reboque	Techo	Anexos	Animales domésticos		
100%	3	70%	10%	10%	40%	100%	80%	26
*	0	80%	20%	10%	40%	90%	50%	7
30%	4	100%	95%	100%	100%	70%	30%	43

tripanosomas son poco o no virulentos, o bien que la infección sólo induce la presencia de anticuerpos y no la reproducción del parásito en su hospedero. Este hallazgo es contrario al encontrado por Rangel-Flores y colaboradores que observaron una correlación entre serología y estudios electrocardiográficos en algunas personas encontraron parásitos en sangre circulante, por lo que son más virulentos.<sup>16</sup> Es importante señalar que en Huitzoco, de 40 individuos estudiados, no hubo seropositivos esto podría explicarse por el bajo número de personas estudiadas ya que en promedio por cada 50 individuos del Estado de Guerrero hay un seropositivo, de manera que la probabilidad de encontrar un positivo es muy baja. Los resultados reportados por Biagi y cols (1964) son contradictorios a los aquí mostrados, quizás se debe a que emplearon sólo una prueba serológica de baja reprodu-cibilidad.

También se observó que no hubo ningún individuo seropositivo menor de 30 años, lo que indica que en México la respuesta inmune humana a *T. cruzi* se manifiesta 10 a 20 años después de la primo infección, es decir, si un individuo se infecta entre los 0 y 10 años, la seropositividad se observará entre los 20 y 30 años de edad; si esto es verdad entonces nuestra población de estudio seropositiva se infectó después de los 10 años.<sup>9</sup> Como en otros estudios se confirma que la infección de *T. cruzi* no se ve influenciada por el sexo.

La presencia de triatominos es frecuente en el valle de Iguala, en los tres municipios se encontraron transmisores, de la especie, *Triatomoma pallidipennis*. Recordemos que colindando al norte con Guerrero se encuentra Morelos, lugar donde también abunda esta especie, lo que indica un transmisor que se extiende en ambas zonas.<sup>10,11,17</sup> Su tamaño lo hace fácilmente visible y facilita su colecta.<sup>17</sup> Esto explica porqué se colectaron las fases más maduras de su desarrollo, porque son las más grandes. El hecho de que se hayan encontrado mas triatominos infectados en fase adulta que en fase ninfa se debe a que se han alimentado un mayor número de veces, lo que aumenta el riesgo de contagio.<sup>17,18</sup> Las hembras se encontraron más infectadas que los machos debido a que estas requieren

alimentarse más veces que los machos con el fin de obtener más nutrientes para la oviposición, lo que aumenta la probabilidad de infección, tal como se ha observado experimentalmente en otras especies.<sup>19</sup> Esto sugiere que el parásito se encontraba en baja concentración en los tejidos de los hospederos, lo cual nuevamente indica que la cepa no es tan virulenta. También se confirma que en zonas rurales la infestación es mayor, casi la mitad de los insectos transmisores de *T. cruzi* están infectados y esto también se relaciona con la presencia de mayor número de hospederos en estas zonas (la gente convive con animales y en mayor hacinamiento y la estructura de las casas favorece la presencia de los triatominos).<sup>11,20,21</sup>

El estudio de la enfermedad de Chagas en el Estado de Guerrero, específicamente en el valle de Iguala señala una zona endémica de transmisión importante porque hay una gran cantidad de triatominos pero con parásitos que probablemente tienen baja virulencia o capacidad infectiva. El problema se genera porque en los pocos casos con afecciones graves, no se piensa en enfermedad de Chagas. Una completa urbanización no es suficiente para eliminar los transmisores (en Iguala también existen triatominos), pero sí disminuye su presencia, la convivencia con animales favorece la transmisión.<sup>17</sup> Es importante confirmar si la cepa de *T. cruzi* de este estado es de baja virulencia o es susceptible a los cambios ambientales que ocasionan que no pueda infectar a la gente, pero si se adapte al transmisor.

## Referencias

1. Dumontiel E. Update on Chagas' disease in Mexico. *Salud Publica Mex* 1999;41:359.
2. Velasco-Castrejón O, Valdespino JL, Tapia-Conyer R et al. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. *Salud Publica Mex* 1992;34:186-96.
3. Tay J, Schenone H, Sánchez JT, Robert L. Estado actual de los conocimientos sobre la enfermedad de Chagas en la República Mexicana. *Bol Chil Parasitol* 1992;47:43-53.
4. Biagi F, Tay J, Guzmán-García C et al. Tetitlán Guerrero, foco endémico de enfermedad de Chagas en México. *Rev Fac Med* 1964;6:625-31.
5. Perrin T, Dias E, Brones M. Nota previa sobre las primeras comprobaciones serológicas de la enfermedad de Chagas en México. *Arch Inst Cardiol (Mex)* 1974;16-17:20-4.
6. Little JW, Tay J, Biagi F. A study on the susceptibility of triatomid bugs to some Mexican strains of *Trypanosoma cruzi*. *J Med Entomol* 1966;3:252-5.
7. Zárate LG, Zárate RJ. A checklist of the triatominae (Chiptera: reduviidae) of Mexico. *Int J Entomol* 1985;27:102-27.

8. **Tay J.** La enfermedad de Chagas en la República Mexicana. *Salud Publica Mex* 1980; XXII: 409-50.
9. **Guzmán-Bracho C.** Epidemiology of Chagas disease in Mexico: an update. *Trends Parasitol* 2001;17:372-6.
10. **Cortés-Jiménez M, Noguera-Torres B, Alejandro-Aguilar R, Isita-Tornell L, Ramírez ME.** Frequency of triatomine infected with *Trypanosoma cruzi* collected in Cuernavaca City, Morelos, Mexico. *Rev Lat-Amer Microbiol* 1996;38:115-9.
11. **Baustista NL, García TGS, Haro AI, Salazar SPM.** Importance of *Triatoma pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae) as a vector of *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in the state of Morelos, Mexico, and possible ecotopes. *J Med Entomol* 1999;36:233-5.
12. **Daniel WW.** Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 5ª reimp. Uteha. Noriega Editores. Ed. Limusa, S.A. de C.V. México DF 1999. p.139-70.
13. **Camargo EP.** Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. I. Origin of metacyclic trypanosomes in liquid medium. *Re Inst Med Trop Sao Paulo* 1964;6:93-100.
14. **Lent H, Wrydodzinsky P.** Revision of the triatominae (Hemiptera:Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull Am Mus Nat Hist*, 1979;163:123-520.
15. **Novy FG, Mac Neal WJ.** On the cultivation of *Trypanosoma brucei*. *J Infect Dis* 1904;1:1-30.
16. **Rangel-Flores H, Sánchez B, Mendoza-Duarte J, Barnabé C, Brenier FS, Ramos C, Espinoza B.** Serologic and parasitologic demonstration of *Trypanosoma cruzi* infections in an urban area of central México: correlation with electrocardiographic alterations. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65:887-95.
17. **Martínez-Ibarra JA, Kattain-Duchateau G.** Biology of *Triatoma pallidipennis* Stal 1945 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999;94:837-9
18. **Zárate LG, Zárate RJ, Tempelis CH, Goldsmith RS.** The biology and behavior of *Triatoma barberi* (Hemiptera: Reduviidae) in Mexico. *J Med Entomol* 1980;2:103-116.
19. **Alejandro-Aguilar R, Noguera-Torres B, Calvo-Méndez ML, Cortés-Jiménez M.** Estudio comparativo de la susceptibilidad de cinco especies de triatomíneos (Insecta: Reduviidae) a la infección con *Trypanosoma cruzi*. *Rev Lat-Amer Microbiol* 1993;35:201-206.
20. **Salazar SPM, Haro AI, Uribarren BT.** Chagas disease in Mexico. *Parasitol Today* 1988;4:348-51.
21. **Vidal-Acosta V, Ibañez-Bernal S, Martínez-Campos C.** Natural *Trypanosoma cruzi* infection of triatominae bugs associated with human habitations in Mexico. *Salud Publica Mex* 2000;42:496-503.