

MAMÍFEROS CINEGÉTICOS DE VENEZUELA: RIESGOS EPIDEMIOLÓGICOS EN LA INFECCIÓN CON *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*

Cinegetic mammals from Venezuela: Epidemiological risks in the infection with
Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi

Antonio Morocoima¹, Andrea Estefanía Cifuentes-Larez¹, María José Delgado-Díaz¹ y Servio Urdaneta-Morales^{2*}

¹Centro de Medicina Tropical de Oriente, Departamento de Microbiología y Parasitología, Puerto La Cruz, Estado Anzoátegui, Venezuela. ²Laboratorio de Biología de Vectores y Parásitos, Instituto de Zoología y Ecología Tropical, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela. *Autor para correspondencia. E-mail: tropism2006@yahoo.es

RESUMEN

El propósito de este trabajo, realizado mediante examen de publicaciones especializadas, base de datos de Google Scholar y de resultados de investigaciones de campo y de laboratorio, fue resumir los siguientes objetivos: determinar las especies de mamíferos venezolanos hospedadores de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*, causante de la Enfermedad de Chagas; precisar las especies de vertebrados que se comportan como cinegéticas, caracterizadas como aquellas que son capturadas por poblaciones indígenas y mestizas neotropicales para la obtención de carne que provee sus necesidades proteicas y para la elaboración de medicamentos zoterapéuticos. De los mamíferos cinegéticos de gran tamaño capturados en áreas rurales montañosas asociadas a ambientes silvestres del noreste del estado Anzoátegui resultaron infectados: 2 de 4 báquiros cachete blanco (*Tayassu pecari*); 1 de 3 venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*) y 1 de 2 zorros (*Cerdocyon thous*); de los cinegéticos de tamaño pequeño resultaron infectados: 1 de 3 lapas (*Cuniculus paca*) y 2 de 4 curies o cobayos (*Cavia aperea*). Los siete animales infectados mostraron flagelados que se identificaron como *T. cruzi* al presentar: pleomorfismo en los tripomastigotes sanguícolas, intracelularidad (estadios amastigotes reproductivos) y amplio histotropismo en mamíferos, así como estadios polimórficos desarrollados en los triatomíneos vectores; todas ellas características propias de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. En el conocimiento de los autores estos resultados representan el primer estudio para Venezuela del comportamiento parasitológico de aislados de *T. cruzi* obtenidos de mamíferos cinegéticos y los riesgos epidemiológicos que representan su frecuente consumo de carne infectada y de medicamentos obtenidos de animales en la infección y transmisión del parásito.

Palabras clave: Mamíferos cinegéticos; riesgos epidemiológicos; *Trypanosoma cruzi*.

ABSTRACT

The aim of this study, done through the examination of specialized articles, Google Scholar data and results of field work and laboratory research, was to summarize the following objectives: to establish the Venezuelan mammal species host for *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*, the causative of Chagas' disease; to identify the cinegetic vertebrate species characterized as those that provide protein requirements and zotherapeutic medicines captured by neotropical indigenous and mestizo populations. Of the cinegetic mammals of big size were infected: 2 of 4 white chin baquiros (*Tayassu pecari*); 1 of 3 white tail deers (*Odocoileus virginianus*) and 1 of 2 foxes (*Cerdocyon thous*) and of small size: 1 of 3 lapas (*Cuniculus paca*) and 2 of 4 curies=guinea pigs (*Cavia aperea*) captured in mountain rural areas associated to sylvatic environments at the northeast of the Anzoategui State. The seven infected animals showed flagellates that were identified as *T. cruzi* showing: pleomorphism in the blood stream tripomastigotes, intracellular multiplicative amastigote forms, wide histotropism in mammals and polymorphic stages developed in triatomines, typically of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. As far as to the knowledge of the authors, these results represent the first study in Venezuela of the parasitological behavior of *T. cruzi* isolates obtained from cinegetic mammals and the epidemiological risks that represent their frequent consumption of infected meat and zotherapy medicaments in the infection and transmission of the parasite.

Key words: Cinegetic mammals; epidemiological risks; *Trypanosoma cruzi*.

INTRODUCCIÓN

Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi Chagas, 1909 (Protozoa, Orden Kinetoplastida, Familia Trypanosomatidae, género *Trypanosoma*), agente etiológico de la parasitosis metaxénica Tripanosomosis americana, es un hemoflagelado heteroxeno ecléctico que utiliza hospedadores exclusivamente americanos, los cuales incluyen unas 200 especies de mamíferos terrestres marsupiales y placentarios pertenecientes a nueve órdenes, que pueden considerarse reservorios al presentar, entre otros factores, un nivel de parasitemia suficiente para garantizar la infección de 147 especies de insectos (Orden Hemiptera, Familia Reduviidae; Subfamilia Triatominae) hematófagos estrictos ubicadas en 15 géneros que actúan como vectores comprobados o potenciales del flagelado al transmitirlo mediante contaminación con sus heces y orina infectadas. Todos ellos se albergan primariamente en nichos de todos los estratos y hábitats silvestres, originándose así dinámicas de transmisión silvestres o enzoóticas extremadamente complejas, las más primitivas del flagelado. La migración de mamíferos sinantrópicos infectados a comunidades humanas; la situación inversa provocada por constantes actividades antropogénicas en el medio natural de estos animales debidas a eventos socioeconómicos que llevan a un estrecho contacto con el hombre y a cambios en los biotopos naturales; triatominos silvestres que poseen la capacidad de invasión, adaptación, multiplicación y colonización de ecótopos artificiales-habitaciones humanas- los cuales les proveen albergue y alimentación provocando su domiciliación, siendo así las especies epidemiológicamente más importantes; todo ello convierte a la zoonosis en una zoonoantroposis que circula en los llamados ciclos peridomésticos y domésticos. Así la parasitosis en los humanos, conocida como enfermedad de Chagas, es la consecuencia de eventos estrictamente accidentales que la intensifican y extienden hacia áreas rurales y hasta urbanizadas [12, 16, 18, 22, 25, 37, 46].

Esta zoonosis endémica en regiones Neotropicales y Neárticas (Salt Lake City, 41° N en Estados Unidos/56° S en la Patagonia argentina y NE de Chile, así como también en islas caribeñas) totalizando 21 países, es la causa de la infección de unos 8 millones de personas, más de 10.000 muertes/año y 40.000 casos nuevos/año. Por esta elevada prevalencia y morbimortalidad y su altísimo riesgo de infección, se la considera la más importante parasitosis transmitida por insectos en las Américas con un enorme impacto en salud pública. La globalización exponencial de las actividades humanas durante las últimas décadas ha dispersado a la tripanosomosis a regiones no endémicas como Canadá, Europa y el Pacífico Occidental mediante transmisión no vectorial. [21, 49, 50].

Tejera [39] mostró la existencia en Venezuela de este mal al encontrar al *T. cruzi* en el triatomino *Rhodnius prolixus* y en humanos procedentes de los estados Trujillo y Zulia. Las investigaciones de Pifano [31-33] detallaron las diferentes

características ambientales y las bioregiones donde se desarrolla la enfermedad, como un sistema zoonótico complejo enmarcado en focos naturales que constituyen biotopos conformados por el paisaje en que se encuentran, así como sus hospedadores particulares. El autor expuso los elementos epidemiológicos condicionantes de la tripanosomosis en el ambiente silvestre, las especies de mamíferos y vectores así como la importancia socioeconómica y factor de riesgo que representa el rancho como habitación del humano en el ambiente rural. La presencia de *T. cruzi* en mamíferos y vectores del valle de Caracas [34], motivó a los autores a profundizar esta situación estableciendo los parámetros que caracterizan a la enfermedad de Chagas como una zoonosis urbana emergente [46]. Estudios de Torrealba [43] en los estados Guárico, Anzoátegui, Carabobo, Mérida y Monagas resaltaron mediante xenodiagnósticos la altísima morbilidad y distribución geográfica y, por ello, la importancia sanitaria que representaba este mal para Venezuela; de Soto [10] y Torres [45] en Zulia y Perruolo [30] en Táchira mostraron la presencia del tripanosoma en marsupiales.

Estas recopilaciones pioneras fueron aumentando [3, 8, 13, 19, 27, 28, 40-42, 44, 48] totalizando 39 especies de mamíferos hospedadores de *T. cruzi* en Venezuela correspondientes a los órdenes siguientes: Carnívora: *Canis familiaris*, *Felis catus* (*F. domesticus*), *Procyon cancrivorus*; Didelphimorphia: *Didelphis marsupialis*, *D. albiventris*, *Monodelphis brevicaudata*, *Caluromys philander* (*C. trinitatus*), *C. lanatus*, *Marmosa robinsoni*; Cingulata: *Dasyus novemcinctus*, *D. kapleri*, *Cabassous unicinctus*; Rodentia: *Mus musculus*, *Rattus rattus*, *R. norvegicus*, *Coendou prehensilis*, *C. vestitus*, *Cavia aperea*, *Cuniculus paca* (*Agouti paca*), *Dasyprocta aguti* (*D. leporina*), *Echymis semivillosus*, *Heteromys anomalus*, *Oecomys concolor* (*Oryzomys concolor*), *Sciurus aestuans*, *S. granatensis*; Artiodactyla: *Odocoileus virginianus*; Chiroptera: *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata*, *Desmodus rotundus*, *Molossus molossus*, *Phyllostomus hastatus*, *Ph. elongatus*, *Saccopterix bilineata*; Perissodactyla: *Tayassu tajasu*, *T. pecari*; Primates: *Alouatta senicula*, *Cebus apella*; Lagomorpha: *Sylvilagus floridanus*; Pilosa: *Tamandua tetradactyla*.

Poblaciones indígenas y, en menor grado, de campesinos criollos de toda América Latina permanecen transculturizados, inmersos en la pobreza extrema, discriminación y exclusión política, económica, cultural y de salud pública debido originalmente a la terrible invasión europea del fin del siglo XV y comienzo del XVI y, por ello, tienden a ser poblaciones susceptibles a enfermedades novedosas para ellos [6, 12, 23]. Estas sociedades originarias se han provisto históricamente de sus necesidades proteicas animales mediante los recursos obtenidos de la actividad cinegética definida como "La búsqueda, persecución, acoso, aprehensión o muerte de animales de la fauna silvestre, así como de la recolección de los productos derivados de aquella" regulada mediante legislaciones internacionales [15].

La fauna cinegética está conformada por mamíferos, reptiles, batracios y aves; los mamíferos más utilizados en América mediante esta modalidad son el cachicamo (*D. novemcinctus*),

el rabipelado (*D. marsupialis*), la danta o tapir (*T. terrestris*), el báquiro de cachete blanco (*T. pecari*), el báquiro de collar (*T. tajacu*), el venado cola blanca (*O. virginianus*), la lapa o paca (*C. paca* = *A. paca*), el picure o aguti (*D. leporina*), el chiguire (*Hydrochoerus hydrochaeris*) y los monos (*Alouatta caraya*, *Cebus apella*, *C. olivaceus*) [29].

Alrededor de 180 especies de mamíferos terrestres son aceptados como animales de caza en Venezuela. De ellos, los más aprovechados son los nueve primeros citados [7, 15]. Esta fauna ha sido clasificada en nueve categorías de usos según el orden de importancia para las comunidades que practican la actividad cinegética: 1. obtención de carne; 2. elaboración de productos medicinales; 3. captura para cría como mascotas; 4. extracción de la piel para adornos o para comercializar; 5. elaboración de productos veterinarios; 6. elaboración de objetos artesanales; 7. elaboración de productos afrodisíacos; 8. venta en mercados locales; 9. cacería deportiva [2, 14, 26].

El 86% de las poblaciones indígenas americanas utiliza la cacería de subsistencia, en tanto que una tercera parte de las comunidades rurales la usan [29]; en Venezuela un 60% de los campesinos rurales suplen estas necesidades con especies cinegéticas autóctonas [9, 17].

La mayoría de los resultados ya detallados se han limitado al señalamiento del encuentro del parásito. Esto indica que, propiedades biológicas fundamentales de un taxon tan heterogéneo como *T. cruzi*, las cuales se desarrollan en sus hospedadores naturales y experimentales, tales como: cinética del desarrollo de las fases del parasitismo, pleomorfismo en la sangre; tropismo tisular (rango de la eficiencia del tripanosoma para colonizar tejidos y vísceras como ambientes o nichos preferenciales), virulencia y patogenicidad, rata de mortalidad, eficiencia para colonizar el lumen del tracto digestivo y de los túbulos de Malpighi del vector así como comportamiento en hemocultivos y cultivos celulares, son todos parámetros necesarios para determinar con precisión la identificación de *T. cruzi* y de posibles correlaciones entre estas propiedades y sus aislados [16, 35, 36].

Tales conocimientos aclararán, así mismo, las particularidades de la cadena epidemiológica del parásito aportando así información sobre su comportamiento en mamíferos cinegéticos.

En el laboratorio de Biología de Vectores y Parásitos, Instituto de Zoología y Ecología Tropical; Universidad Central de Venezuela, se realizaron investigaciones sobre la relación de *T. cruzi* con *D. marsupialis*, mamífero cinegético adaptado a ambientes intensamente urbanizados como el valle de Caracas. Los parásitos detectados mostraron en un modelo murino su amplia ubicuidad tisular [20, 46, 47] Trabajos con cachicamos (*D. novemcinctus*) capturados en áreas rurales de los estados Anzoátegui, Monagas y Nueva Esparta ampliaron aquellos resultados [24].

MATERIALES Y MÉTODOS

Metodología de campo

Campesinos (cazadores profesionales), informados sobre el interés de estudiar a los mamíferos que capturan para su alimentación y entrenados en el Centro de Medicina Tropical de Oriente, Departamento de Microbiología y Parasitología, Puerto La Cruz, estado Anzoátegui, Venezuela, capturaron mediante el uso de escopetas (Winchester, calibre 16, munición mediana, EUA) a los siguientes mamíferos cinegéticos de gran tamaño en áreas rurales montañosas asociadas a ambientes silvestres del noreste del estado Anzoátegui: 4 báquiros cachete blanco (*T. pecari*) y 3 venados de cola blanca (*O. virginianus*), en el caserío Quebrayacual, municipio Libertad (09°44'22,3"N/64°32'57,8"O) y dos zorros cangrejeros (*Cerdocyon thous*) en el caserío San José de las Margaritas del Llano, municipio Aragua de Barcelona (9°27'27"N/64°49'34"O). Por otra parte, fueron cazados los siguientes mamíferos de tamaño pequeño: 3 lapas (*C. paca*) en el caserío Sabana de Uchire, municipio Manuel Ezequiel Bruzual (10°01'84"N/65°52'06"O) y 4 curies (*C. aperea*) en el caserío Santa Ana, municipio Santa Ana (9°83'97"N/64°35'69"O). En las mismas áreas, los campesinos capturaron ejemplares de varias especies de triatomos mediante búsqueda activa directa, dentro y fuera de sus habitaciones, así como en los sitios de caza que incluyeron cuevas de cachicamos.

Metodología de laboratorio

Las publicaciones previas realizadas por los autores del trabajo y la literatura especializada demuestran que, la técnica más rápida, sencilla, económica y confiable para diagnosticar la fase aguda de la infección y de la enfermedad de Chagas se realiza mediante el examen microscópico de alícuotas (5 mL) de sangre fresca periférica, la cual permite la observación de la presencia y del movimiento rápido del tripomastigote del *T. cruzi*. Es aconsejable realizar, en paralelo, la técnica del xenodiagnóstico, la cual se basa en la ingurgitación de sangre por la picadura sobre la piel del mamífero en estudio de triatomos limpios y en ayunas, colocados previamente en envases de vidrio cubiertos con una membrana delgada de gasa en la abertura del envase sujeta con una liga de látex. Luego de 30-40 días de ingurgitación, las heces y orina de los insectos se examinan como se ha detallado. A pesar del tiempo de espera de los resultados, este método es ampliamente utilizado por su elevada confiabilidad. Situación similar se presenta con la siembra de sangre en medios de cultivo la cual requiere, sin embargo, personal especializado y gastos importantes necesarios para la compra de los materiales, lo cual limita su uso.

Con base a ello, se realizó el protocolo siguiente con el propósito de determinar las características, que se presentan de seguida, las cuales muestran la presencia de *T. cruzi* en los animales cinegéticos capturados.

Inmediatamente después de la captura de cada animal, los cazadores les realizaron cardiopunturas asépticamente para obtener 10 mL de sangre heparinizada (10 unidades/mL de heparina sódica) y xenodiagnósticos mediante ingurgitación de 20 *R. prolixus* sanos de IV estadio criados en el insectario del laboratorio de Biología de Parásitos y Vectores, Universidad Central de Venezuela; ambos materiales fueron trasladados al laboratorio. La posible infección por *T. cruzi* en la sangre de los animales fue determinada mediante el siguiente protocolo: muestras frescas fueron examinadas microscópicamente (400X) (Nikon, Microflex HFX, EUA) y en frotis delgados (1000X) teñidos con solución de Giemsa para determinar tipo de movimiento del parásito, morfotipos (pleomorfismo), nivel de la parasitemia cuantificada según Brener [5]. Heces y orina obtenidas espontáneamente o mediante disección del tubo intestinal completo de los insectos utilizados un mes antes en los xenodiagnósticos, fueron diluidas en solución isotónica estéril (0,85% w/v), para determinar la presencia de estadios polimórficos que este flagelado origina en el insecto vector. Una vez mostrada la presencia de estadios metatripomastigotes, se cuantificaron [5] para inocular, vía i.p./aislado obtenido de cada animal capturado, 200 tripomastigotes/g (g) de peso en 5 ratones (*Mus musculus*) albinos, machos exógamos, MRI de 12 g promedio, criados en el bioterio del laboratorio. Muestras de sangre periférica obtenida de la vena de la cola de los animales/grupo fueron examinadas en fresco diariamente determinándose así el período prepatente de la infección y luego tres veces/semana hasta la cronicidad de la infección o la muerte de los animales, con el objeto de precisar la modalidad de las parasitemias mediante los porcentajes obtenidos/grupo. La mortalidad de los animales fue registrada diariamente. De cada lote de ratones, el animal que mostró la parasitemia más elevada fue necropsiado por sobreenestecia ("Ketaset", Ketamine HCL. 100 mg/mL. Fort Dodge, EUA) para obtener fragmentos de corazón, músculo esquelético (de fémur, lengua y diafragma), esternón, piel, estómago, intestino delgado, intestino grueso, páncreas, hígado, bazo, pulmón, riñón, glándula

suprarrenal, vejiga urinaria, cerebro, hueso y globo ocular (esclerótica). Los fragmentos fueron fijados inmediatamente en formol (10%) y embebidos en parafina, para obtener secciones de 3 µ, teñidos con hematoxilina-eosina y monitoreados (1000X) en un doble ciego para cuantificar el número de pseudoquistes contentivos de estadios amastigotes intracelulares en 50 campos, estimándose como: —; +; ++; +++ correspondientes, respectivamente, a parasitismo intracelular ausente; escaso (1-10); moderado (11-20) y abundante (21-30) de acuerdo con Morocoima y col.[24].

Microfotografías de morfotipos intracelulares del parásito fueron obtenidas (1000X) usando una cámara digital (Genius, G-Shot, P510, EUA). Sangre de los animales cinegéticos fue sembrada estérilmente en medio de Davis (Thomas Scientific, New Jersey, EUA) adicionado con solución de sulfato de gentamicina y 5 fluorocitosina y examinado semanalmente (400X) con el propósito de evidenciar la presencia y tipo de movimiento de estadios polimórficos.

Esta metodología permitió obtener resultados que son propios de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* [4].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización parasitológica de *Trypanosoma cruzi* de aislados obtenidos de mamíferos cinegéticos de tamaño grande.

Los exámenes realizados para detectar su parasitismo natural (TABLA I) mostraron 4 animales infectados de 9 capturados, mediante los resultados siguientes: presencia en los exámenes de sangre en fresco y en los frotis teñidos de tripomastigotes rechonchos, propios de las parasitemias en la fase crónica causadas por este flagelado, en tanto que en los ratones experimentales se encontraron tripomastigotes delgados y anchos evidentes en las tripanosomosis agudas.

TABLA I
RESULTADOS DE LOS EXAMENES PARASITOLÓGICOS REALIZADOS A MAMÍFEROS CINEGÉTICOS DE TAMAÑO GRANDE CAPTURADOS EN EL ESTADO ANZOÁTEGUI (VENEZUELA) PARA DETERMINAR SU INFECCIÓN POR ESTADIOS FLAGELADOS COMPATIBLES CON *Trypanosoma cruzi*

Mamíferos cinegéticos	Número	Ex. fresco. Frotis teñidos	Xenod. mamif. cineg.	Xenod. ratones exper.	Hemoc.	+ <i>T. cruzi</i>	% infección
Báquiro (<i>Tayassu pecari</i>)	4	2+	2+	2+	2+	2	50
Venado de cola blanca (<i>Odocoileus virginianus</i>)	3	1+	1+	1+	1+	1	33
Zorro (<i>Cerdocyon thous</i>)	2	1+	1+	1+	1+	1	50
Total	9	4	4	4	4	4	44

Ex.Fresco= Exámenes de sangre en fresco; Frotis teñidos de sangre; Xenod. mamif. cineg.= Xenodiagnósticos aplicados a los mamíferos cinegéticos; Xenod. ratones exper.= Xenodiagnósticos aplicados a los ratones experimentales; Hemoc.= Hemocultivos; +*T. cruzi*= Positivos; % infección= porcentaje de infección.

Los xenodiagnósticos así como los hemocultivos presentaron el polimorfismo que tipifica a *T. cruzi* [4, 35]. Los períodos prepatentes y patentes de las parasitemias producidas en el modelo murino fueron muy diferentes; así mismo sus valores más elevados variaron desde 2,5; 4,8 hasta 11,4 tripomastigotes x 10⁵ mL de sangre en los aislados de venado (*Odocoileus*

virginianus), báquiro (*Tayassu pecari*) y zorro (*Cerdocyon thous*), respectivamente (TABLA II). Los aislados fueron, sin embargo, muy virulentos por cuanto produjeron 100% de mortalidad en los animales experimentales, evidenciando así una elevada heterogeneidad entre los aislados estudiados.

TABLA II
RESULTADOS DEL MONITOREO DE LAS PARASITEMIAS DETERMINADAS EN RATONES NMRI INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON AISLADOS OBTENIDOS DE BÁQUIRO (*Tayassu pecari*); VENADO DE COLA BLANCA (*Odocoileus virginianus*) Y ZORRO (*Cerdocyon thous*) CAPTURADOS EN EL ESTADO ANZOÁTEGUI (VENEZUELA)

Períodos prepatente y patente (días)	Número de tripomastigotes x 10 ⁵ mL de sangre		
	Báquiro	Venado	Zorro
6	----	----	0,2
8	----	----	1,6
10	----	----	2,6
12	----	1,0	6,4
15	1,3	1,5	6,8
18	3,9	2,0	7,4
21	4,4	2,5	8,8
24	4,8	2,3	9,6
27	4,6	1,8	10,2
30	4,2	1,3	10,8
33	3,5	0,8	11,4
36	2,3	----	8,6
39	1,2	----	6,8

Caracterización parasitológica de *Trypanosoma cruzi* de aislados obtenidos de mamíferos cinegéticos de tamaño pequeño.

Tres de los siete mamíferos estudiados (TABLA III) mostraron resultados similares a los presentados por los mamíferos de talla mayor y por los ratones experimentales al presentar: los morfotipos ya señalados; el polimorfismo desarrollado en los

triatominos utilizados en los xenodiagnósticos y los hemocultivos; prepatencias y patencias y sus valores más elevados (TABLA IV) y 100% de mortalidad en el modelo murino, evidenciando así la misma heterogeneidad entre los parámetros estudiados.

TABLA III
RESULTADOS DE LOS EXAMENES PARASITOLÓGICOS REALIZADOS A MAMÍFEROS CINEGÉTICOS DE TAMAÑO PEQUEÑO CAPTURADOS EN EL ESTADO ANZOÁTEGUI (VENEZUELA) PARA DETERMINAR SU INFECCIÓN POR ESTADIOS FLAGELADOS COMPATIBLES CON *Trypanosoma cruzi*

Mamíferos cinegéticos	Número	Ex. fresco. Frotis teñidos	Xenod. Mamífs. cineg.	Xenod. ratones exper.	Hemoc.	+ <i>T. cruzi</i>
Lapa (<i>Cuniculus paca</i>)	3	----	1+	1+	1+	1/3
Curí (<i>Cavia aperea</i>)	4	2+	2+	2+	2+	2/4

TABLA IV
RESULTADOS DEL MONITOREO DE LAS PARASITEMIAS DETERMINADAS EN RATONES NMRI INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON AISLADOS OBTENIDOS DE LAPA (*Cuniculus paca*) Y CURÍ (*Cavia aperea*) CAPTURADOS EN EL ESTADO ANZOÁTEGUI (VENEZUELA)

Períodos pre- y post-patente (días)	Número de tripomastigotes sanguíneos x 10 ⁵ mL de sangre	
	Lapa	Curí
9	0,2	----
12	1,5	----
15	3,8	0,4
18	4,2	2,8
21	5,0	4,6
24	5,6	5,3
27	6,2	7,4
30	7,5	7,8
33	----	8,2
36	----	

Los resultados histoparasitológicos (TABLA V) determinados en los ratones experimentalmente infectados con aislados de las cinco especies cinegéticas estudiadas mostraron que todos los 19 tejidos y órganos examinados fueron invadidos por *T. cruzi* presentando pseudoquistes intracelulares con estadios

amastigotes. Los aislados de báquiro y curí produjeron un parasitismo abundante marcadamente cardiotropo. Tropismo moderado fue producido por varios aislados en miocitos de tejido esquelético y piel de fémur así como en la musculatura lisa de estómago e intestino delgado.

TABLA V
HISTOTROPISMO DETERMINADO EN ÓRGANOS Y TEJIDOS DE RATONES NMRI INOCULADOS CON AISLADOS DE TRYPANOSOMA CRUZI OBTENIDOS DE BÁQUIRO (*Tayassu pecari*), ZORRO (*Cerdocyon thous*), VENADO (*Odocoileus virginianus*), LAPA (*Cuniculus paca*) Y CURÍ (*Cavia aperea*), CAPTURADOS EN EL ESTADO ANZOÁTEGUI (VENEZUELA)

ÓRGANOS Y TEJIDOS	AISLADO				
	Báquiro	Zorro	Venado	Lapa	Curí
Corazón	+++	++	++	++	+++
M. esquel. (Fémur)*	++	++	++	++	++
M. esquel. (Lengua)*	+	+	+	---	---
M. esquel. (Diafr.)*	---	---	---	+	+
Esternón	---	+	---	---	---
Piel (Fémur)	++	---	+	---	---
Estómago	++	---	---	---	+
Intestino delgado	++	+	+	---	---
Intestino grueso	+	+	+	+	+
Páncreas	+	++	---	---	---
Hígado	---	+	++	+	+
Bazo	+	---	+	---	---
Pulmón	++	+	+	---	+
Riñón	---	---	+	---	---
Glándula suprarrenal	++	+	---	+	---
Vejiga urinaria	---	---	++	---	---
Cerebro	---	---	---	+	---
Hueso (Fémur)	---	+	---	---	---
Globo ocular	+	---	+	---	+

Grado de histotropismo: No. de pseudoquistes con amastigotes/50 campos de 400 X. 0 = parasitismo ausente; + = parasitismo escaso = 1- 10; ++ = parasitismo moderado = 11-20; +++ = parasitismo abundante = 21-30. M. esquel. (Fémur)*, M. esquel. (Lengua)*, M. esquel. (Diafr.)*=Músculo esquelético tomado de fémur, lengua y diafragma.

Se destaca el parasitismo intracelular importante y poco señalado [46] en el globo ocular (estroma corneal), cerebro, hueso (médula de fémur), pulmón, glándula suprarrenal, páncreas e hígado. Las restantes biopsias presentaron parasitismo escaso o ausente. Estos resultados muestran las marcadas diferencias del tropismo que causaron los aislados de *T. cruzi* en su invasión sistémica que afectó células de origen meso-endo- y ectodérmico.

Morfotipos de parásitos intracelulares son mostrados en la FIG. 1, comparables con los obtenidos por otros autores [5, 24, 38, 46, 47]. Los estadios polimórficos ya detallados que se desarrollan en la naturaleza en los vectores fueron producidos en los triatominos capturados por los campesinos cuyas especies fueron clasificadas en el laboratorio como *R. prolixus*, los cuales presentaron infección en los 6 capturados; *Triatoma maculata* (24 positivos de 30 capturados), *Panstrongylus geniculatus* (28 positivos de 28 capturados), y *P. rufotuberculatus* (20 positivos de 20 capturados).

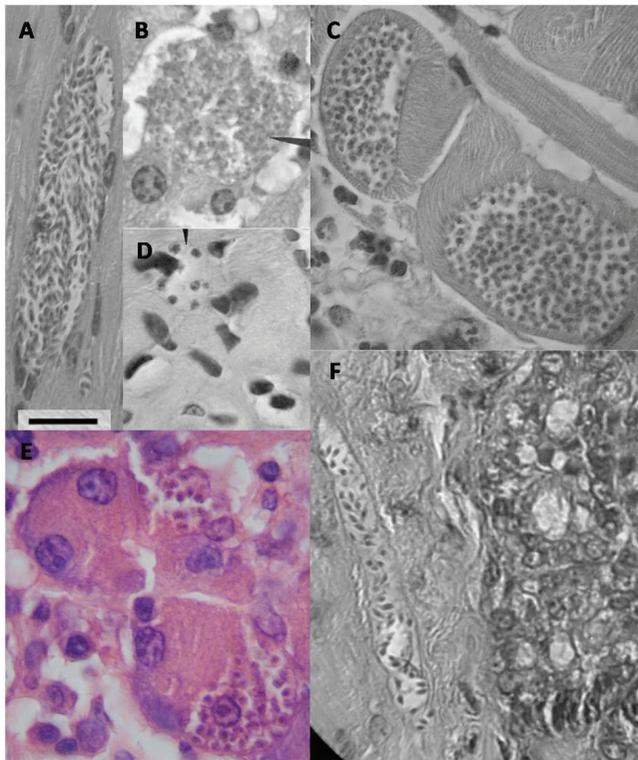


FIGURA 1. MICROFOTOGRAFÍAS (1000 X) DE SECCIONES HISTOLÓGICAS TEÑIDAS CON HEMATOXILINA-EOSINA TOMADAS DE ÓRGANOS Y TEJIDOS OBTENIDOS DE RATONES EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS CON AISLADOS DE LAS CINCO ESPECIES CINEGÉTICAS ESTUDIADAS MOSTRANDO SEUDOQUISTES CON AMASTIGOTES DE *Trypanosoma cruzi* EN : A. CORAZÓN (AISLADO DE BÁQUIRO (*Tayassu pecari*); B. HÍGADO (AISLADO DE VENADO (*Odocoileus virginianus*); C. MÚSCULO ESQUELÉTICO (AISLADO DE CURÍ (*Cavia aperea*); D. HUESO (AISLADO DE ZORRO (*Cerdocyon thous*); E. PÁNCREAS (AISLADO DE BÁQUIRO (T. PECARI); F. MUSCULATURA LISA DE COLON (AISLADO DE VENADO (*O. virginianus*)). (BARRA=10 MICRAS).

Como se estima, más del 70% de las enfermedades zoonóticas emergentes y reemergentes se originan en la fauna silvestre la cual infecta al hombre, a los animales domésticos y al resto de esta fauna, representando así graves problemas de salud pública y animal y a la conservación y producción cinegética [17, 26,29, 46]. Se destacan las dos primeras categorías señaladas, por su conexión con la transmisión de enfermedades zoontrponóticas resultantes de la interrelación del hombre con animales o vectores silvestres, la enfermedad de Chagas entre otras.

Un 80% de las poblaciones indígenas de áreas silvestres y de campesinos mestizos rurales de todos los continentes, en diferentes ambientes socio-culturales, particularmente en países en desarrollo, han venido desarrollando durante centurias, conocimientos sofisticados sobre salud y bienestar basados en la comprensión de ecosistemas locales. Las investigaciones etnozoológicas que se han realizado sobre esta medicina tradicional han versado sobre recursos naturales obtenidos de especies silvestres vegetales y, en menor rango, de animales. En América Latina, casi 600 especies de animales, de las cuales unas 150 provienen de mamíferos han venido siendo utilizadas como medicamentos (Zooterapia), para cientos de enfermedades, dolencias o malestares reconocidos por la medicina local y occidental asociados principalmente con los sistemas cardíaco, respiratorio y gastroduodenal hasta los de condición espiritual y anímica [1, 2].

Las vías mediante las cuales estas poblaciones obtienen y utilizan los productos naturales señalados, comprenden sucesivamente: desollamiento del animal capturado, separación de la musculatura externa, abertura del torso, corte de las venas yugulares y del corazón para obtención de sangre, abertura del vientre para extraer los restantes órganos internos. La sangre obtenida es ingerida fresca o preparada como morcilla que es consumida frita o semicruda; el resto de la sangre se usa para preparar medicamentos zooterapéuticos. Así mismo, carne cruda o mal cocida es colocada directamente sobre partes del cuerpo que necesiten medicamentos; las vísceras internas son ingeridas fritas o semicrudas o preparadas como remedios. Las actividades descritas son realizadas estando los campesinos descamizados exponiendo al sangramiento producido a las mucosas de los ojos, nariz y boca, torso, miembros superiores y abdomen lesionados [1, 2]. Estos hábitos se resaltan como factores indicativos de riesgos epidemiológicos elevados que representan vías adicionales de transmisión de protozoarios hemático-tisulares como *T. cruzi* en la ausencia de vectores.

Los campesinos que participaron en este trabajo son miembros de poblaciones de criollos (mestizos) descendientes de indígenas, católicos, evangélicos o no creyentes evidenciando así su roce social importante con las poblaciones cercanas, así como en menor grado de blancos emigrantes de otras regiones del país. Se destaca que las poblaciones estudiadas no poseen conocimientos sobre la peligrosidad que representan los animales que capturan pero sí reconocen a los chipos mediante informaciones obtenidas cuando sus casas han sido

AGRADECIMIENTO

Al Grupo de Investigación en Toxicología Aplicada y Animales Venenosos, Universidad de Oriente, núcleo de Anzoátegui, Barcelona, estado Anzoátegui, Venezuela; Unidad de Inmunología, Hospital Universitario "Dr. Luís Razetti", Barcelona, estado Anzoátegui, Venezuela.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALVES, R.N. The faunal drugstore: Animal-based remedies used in the traditional medicines in Latin América. **J. Ethnobiol. Ethnomed.** 7: 9-43. 2011.
- [2] ALVES, R.N.; SOUTO, W.M.S. Ethnozoology: A Brief Introduction. **Ethnobiol. Conserv.** 4: 1-13. 2015.
- [3] AÑEZ, N.; CRISANTE, G.; SORIANO, P.J. *Trypanosoma cruzi* congenital transmission in wild bats. **Acta Trop.** 109: 78-80. 2009.
- [4] BARRETTO, M. P. Epidemiologia. En: Brener, Z.; Andrade, Z. (Eds); ***Trypanosoma cruzi e doença de Chagas***. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro, Brasil. Pp 89-151. 1979.
- [5] BRENER, Z. Therapeutic activity and criterion of cure in mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.** 4: 389-396. 1962.
- [6] BRICEÑO-LEÓN, R. La enfermedad de Chagas en las Américas: una perspectiva de ecosalud. **Cad. Saúde Pú.** 25 (Supl.1):S71-82. 2009.
- [7] CAÑIZALES, I.; GUERRERO, R. Parásitos y otras enfermedades transmisibles de la fauna cinegética en Venezuela. **Simposio: Investigación y Manejo de Fauna Silvestre en Venezuela en Homenaje al Dr. Juhani Ojasti**. Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, Caracas, 23/08, Venezuela. Pp 97-108. 2010.
- [8] CARRASCO, H. J.; SEGOVIA, M.; LLEWELLYN, M. S.; MOROCOIMA, A.; URDANETA-MORALES, S.; MARTÍNEZ, C., MARTÍNEZ, C. E.; GARCÍA, C.; RODRÍGUEZ, M.; ESPINOZA, R.; NOYA, B.; DÍAZ-BELLO, Z.; HERRERA, L.; FITZPATRICK, S.; YEO, M.; MILES, M.A.; FELICIANGELI, M.D. Geographical distribution of *Trypanosoma cruzi* genotypes in Venezuela. **Plos. Negl .Trop. Dis.** 6 (6): e1707. 2012.
- [9] CASTELLANOS, H.; BERTSCH, C.; VEIT, C.; BISBAL, F.J. Consumo de fauna silvestre en la zona de Imataca, Estado Bolívar, Venezuela. **Intercien.** 19: 28-33.1994.
- [10] DE SOTO, T.G. *Didelphis marsupialis*, su importancia como reservorio de *Trypanosoma cruzi* en la región de Zipayare (Estado Zulia, Venezuela). **Kasmera** 4: 5-44. 1971.

ocasionalmente fumigadas con DDT, insecticida de acción residual. Por otra parte, los techos de sus casas son de zinc o platabanda y sus paredes, separadas del techo, son de bahareque frisado o de ladrillos frisados o no, ambas con numerosas grietas lo cual facilita la infestación por vectores en tanto que la entrada y el interior de las mismas poseen luz amarilla o incandescente.

La falta de correlación entre los resultados, ya señalados, obtenidos en los exámenes de los cinco mamíferos cinegéticos estudiados responden a los estudios genéticos que son vitales para determinar la heterogeneidad de un parásito sin embargo en sí mismos, son de escasa importancia biológica en estudios, como el presente, en los que es necesario mostrar las numerosas propiedades que caracterizan a un taxón tan altamente complejo como el *T. cruzi*.

CONCLUSIONES

Los hábitos alimenticios y curativos de los miembros de estas poblaciones se resaltan como factores indicativos de riesgos epidemiológicos elevados que representan vías adicionales de transmisión de protozoarios hemático-tisulares como *T. cruzi* en la ausencia de vectores.

De los 16 animales cazados, siete estuvieron parasitados por flagelados caracterizados como *T. cruzi* al presentar el pleomorfismo y el polimorfismo desarrollados por esta especie en hospedadores vertebrados (mamíferos) e invertebrados (chipsos), respectivamente. En tanto que su intracelularidad (estadios amastigotes reproductivos) así como el amplio histotropismo son propios del subgénero *Schizotrypanum*. Se destaca esta amplia ubicuidad tisular en relación con la literatura basada en los resultados obtenidos en los seres humanos.

El encuentro en las áreas estudiadas de cuatro especies de triatomíneos que se mostraron parasitadas por *T. cruzi*, conjuntamente con los resultados ya señalados, permiten inferir que estas áreas poseen las propiedades epidemiológicas necesarias para la presencia y mantenimiento de transmisión vectorial y oral activa de la enfermedad de Chagas, confiéndoles suficientes rasgos de vulnerabilidad que deben ser reconocidos como prioritarios por parte de los órganos de salud del estado.

Estos resultados representan el primer reporte para Venezuela sobre el comportamiento parasitológico y patológico de aislados de *T. cruzi* obtenidos de los mamíferos estudiados bajo la perspectiva de especies cinegéticas.

Consideraciones éticas

La captura y manejo de los animales cinegéticos así como el uso de los animales experimentales fueron realizados mediante equipos de protección y de acuerdo con los lineamientos del Código de Bioética y Biodiversidad aprobado por el Comité de Ética del Fondo Nacional para Ciencia y Tecnología (FONACIT, Venezuela).

- [11] DIAS, J.C.P. Tendencias sociales de la enfermedad de Chagas para las próximas décadas. **Salud Colect.** 8 (Supl. 1): S39-S48. 2012).
- [12] DIAS, J.C.P.; SILVEIRA, A.C.; SCHOFIELD, C.J. The impact of Chagas Disease control in Latin America. A review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 97 (5): 603-612. 2002.
- [13] FELICIANGELI, M.D.; BENÍTEZ, J.; REYEZ, P.; MALDONADO, C.; BORGES, E. Hay Enfermedad de Chagas en la región amazónica de Venezuela?. **Bol. Malarial. Sal. Amb.** 44: 67-75. 2004.
- [14] FERGUSSON-LAGUNA, A. The sustainable use of biological diversity in Venezuela. **Simposio: Investigación y Manejo de Fauna Silvestre en Venezuela en Homenaje al Dr. Juhani Ojasti.** Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, Caracas, 23/08, Venezuela. Pp 185-204. 2010.
- [15] GACETA OFICIAL DE VENEZUELA. Lista oficial de animales de caza.. No. Extraord. 5108. Resol. 1. 1996.
- [16] GALVÃO, C.; RAMOS, A.N.; PINTO, A.Y.N.; JANSEN, A.M. Epidemiologia da Doença de Chagas por transmissão oral. PANAFIOSA-VP/OPAS/OMS (Ed) Río de Janeiro, Brasil, Pp 13-27. 2009.
- [17] GONZALEZ-JIMÉNEZ, E. La fauna silvestre en la producción animal sustentable. **Simposio: Investigación y Manejo de Fauna Silvestre en Venezuela en Homenaje al Dr. Juhani Ojasti.** Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, Caracas, 23/08, Venezuela. Pp 205-212. 2010.
- [18] GÜRTLER, R.E.; CARDINAL, M.V. Reservoir host competence and the role of domestic and commensal hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. **Acta Trop.** 151: 32–50. 2015.
- [19] HERRERA, L. Una revisión sobre reservorios de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas. **Bol. Malarial. Sal. Amb.** 50: 3-15. 2010.
- [20] HERRERA, L.; URDANETA-MORALES, S. *Didelphis marsupialis*: a primary reservoir of *Trypanosoma cruzi* in urban areas of Caracas, Venezuela. **Ann. Trop. Med. Parasit.** 86: 607-612. 1992.
- [21] HOLLINGSWORTH, T.D.; ADAMS, E.R.; ANDERSON, R.M.; ATKINS, K.; BARTSCH, S.; BASÁÑEZ, M.G. Quantitative analyses and modelling to support achievement of the 2020 goals for nine neglected tropical diseases. **Paras. Vect.** 8: 630-660. 2015.
- [22] JANSEN, A.M.; SAMANTA, C.C.; ROQUE, X.A. The multiple and complex and changeable scenarios of the *Trypanosoma cruzi* transmission cycle in the sylvatic environment. **Acta Trop.** 151: 1-15. 2015.
- [23] MONTENEGRO, R.A.; STEPHENS, C. Indigenous health in Latin America and the Caribbean. **Lancet** 367: 1859–1869. 2006.
- [24] MOROCOIMA, A.; CARRASCO, H.J.; BOADAS, J.; CHIQUÉ, J.C.; HERRERA, L.; URDANETA-MORALES, S. *Trypanosoma cruzi* III from armadillos (*Dasybus novemcinctus novemcinctus*) from Northeastern Venezuela and its biological behavior in murine model. Risk of emergency of Chagas' disease. **Exp. Parasitol.** 132: 341–347. 2012.
- [25] NOIREAU, F.; DIOSQUE, P.; JANSEN, A.M. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. **Vet. Res.** 40: 26-49. 2009.
- [26] OJASTI, J. University contributions toward the management of the wildlife in Venezuela. **Simposio: Investigación y Manejo de Fauna Silvestre en Venezuela en Homenaje al Dr. Juhani Ojasti.** Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, Caracas, 23/08, Venezuela. Pp 259-266. 2010.
- [27] OJASTI, J.; MONDOLFI, E. Esbozo de la fauna de mamíferos de Caracas. En: **Estudios de Caracas. Ecología vegetal y fauna.** Biblioteca Universidad Central de Venezuela (Eds). Caracas, Venezuela. I: 409-460. 1968.
- [28] ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. La enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana). 2012. (OMS). Nota descriptiva N°. 340. En Línea: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>. 03/03/2017.
- [29] PÉREZ, E.; OJASTI, J. La utilización de la fauna silvestre en América Tropical y recomendaciones para su manejo sustentable en las sabanas. **Ecotrop.** Pp 71-82. 1996.
- [30] PERRUOLO, G.J. Didelfidos (Mammalia: Marsupialia) como reservorios silvestres del *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, en la zona del Palmar Ramireño, Distrito Córdoba en el Estado Tachira, Venezuela: primera comprobación. **Kasmera** 7: 1-40. 1979.
- [31] PIFANO, F. Algunos aspectos de la enfermedad de Chagas en Venezuela. **Arch. Venez. Med. Trop. Parasitol. Med.** 3: 73-99. 1960.
- [32] PIFANO, F. Investigación y docencia en Medicina Tropical. Bases doctrinarias para la enseñanza de la Medicina Tropical en la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela. **Arch. Venez. Med. Trop. Parasitol. Med.** 4: 1-203. 1961.
- [33] PIFANO, F. La dinámica epidemiológica de la enfermedad de Chagas en el Valle de Los Naranjos, estado Carabobo, Venezuela. Contribución al estudio de los focos naturales silvestres de *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909. **Arch. Venez. Med. Trop. Parasitol. Med.** 5: 3-29. 1973.

- [34] PIFANO, F. El potencial enzoótico del complejo *Schizotrypanum cruzi-Didelphis marsupialis-Panstrongylus geniculatus* y sus incursiones a la vivienda humana del Valle de Caracas, Venezuela. **Bol. Acad. Cien. Fis. Nat. Mat. (Caracas)**. 46: 9-37. 1986.
- [35] RASSI, J.R.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J.A. Chagas Disease. **Lancet** 375: 45-71. 2015.
- [36] ROBERTSON, L.J.; DEVLEESSCHAUWER, B.; ALARCON, N.B.; TORGERSON, P.R. *Trypanosoma cruzi*: Time for International Recognition as a Foodborne Parasite. *Plos. Negl. Trop. Dis.* En Linea: 10(6):e0004656. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004656>. 2016. 03/03/2017.
- [37] ROQUE, A.L.R.; SAMANTA, C.C.X.; GERHARDTB, S.; LIMA, V.S.; D'ANDREA, P.S.; JANSEN, A.M. *Trypanosoma cruzi* among wild and domestic mammals in different areas of the Abaetetuba municipality (Pará State, Brazil), an endemic Chagas disease transmission area. 2012. *Vet. Parasitol.* En Linea: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar/03/03/2017>.
- [38] SOUZA, W. O parásito e sua interacao com os hospedeiros. En: Brener, Z.; Andrade, Z.; Barral-Netto, M. (Eds); ***Trypanosoma cruzi e doenca de Chagas***. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro, Brasil. Pp 88-126. 2000.
- [39] TEJERA, E. La Tripanosomosis americana en Venezuela. **Rev. Inst. Nac. Hig. Caracas, Venezuela**. 14: 143-156. 1981.
- [40] TELFORD, S.R.; TONN, R.J.; BETANCOURT, P.; GONZALEZ, J. Nuevos hospedadores para *Trypanosoma cruzi* en Venezuela. **Bol. Dir. Malariol. San. Amb.** 15: 240-241. 1975.
- [41] TELFORD, S.R.; TONN, R.J. Dinámica de *Trypanosoma cruzi* en poblaciones de un reservorio primario, *Didelphis marsupialis*, en los llanos altos de Venezuela. **Bol. Of. Sanit. Panam.** 95: 341-364. 1982.
- [42] TONN, R.J.; TELFORD, S.R.; CEDILLOS, R.; GONZÁLEZ, J.; OTERO, M.A. Infección por tripanosomas en mamíferos silvestres de Venezuela. **Bol. Inf. Dir. Malariol. San. Amb.** 22: 23-33. 1982.
- [43] TORREALBA, J.F. Para una mejor comprensión de la vida del Dr. J.F. Torrealba. En: Torrealba, J.F. Investigador del mal de Chagas y otras enfermedades tropicales de Venezuela. Tomo I. Universidad Central de Venezuela. Archivo Histórico. Caracas, Venezuela. 404 pp. 1992.
- [44] TORREALBA, J.W.; TONN, R. J.; CARCAVALLO, R.U. Capítulo 41. Venezuela. En: **Factores Biológicos y Ecológicos en la Enfermedad de Chagas**. Minist. Sal. Acc. Soc. Buenos Aires, Argentina (Eds.). Pp 465-472. 1985.
- [45] TORRES, R.A. Sobre un foco urbano de *Trypanosoma cruzi* en la ciudad de Maracaibo, Venezuela. **Kasmera** 10: 57-71. 1982.
- [46] URDANETA-MORALES, S. Chagas' disease: an emergent urban zoonosis. The Caracas Valley (Venezuela) as an epidemiological model. **Frontiers Public. Health** 2: 193-205. 2014.
- [47] URDANETA-MORALES, S.; NIRONI, I. *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of urban opossums. Isolation and experimental infections. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 91: 399-403. 1996.
- [48] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of Chagas disease. **Tech. Rep. Series** 905: 55-57. 2002.
- [49] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Causes of death in 2008. Global Health Observatory (GHO). 2014. En Linea: www.who.int/ghodata/. 15.01.08 03/03/2017.
- [50] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on the 2010 estimates. *Weekly. Epidemiol. Rec.* 90:33-44. 2015.