ARTÍCULO ORIGINAL

Enfermedad de Chagas en Costa Rica: Estudio comparativo en dos épocas diferentes

MISAEAL CHINCHILLA*, ALFREDO CASTRO*, LILIANA REYES*, OLGA GUERRERO*,
OLGER CALDERÓN- ARGUEDAS* y ADRIANA TROYO*

CHAGAS DISEASE IN COSTA RICA: COMPARATIVE STUDY IN TWO DIFFERENT STAGES

*To bring a date the real situation of Chagas disease in Costa Rica, a partial serological and epidemiological study was done in four risk zones in this country. To achieve that, 1561 students 6 to 12 years old were studied for **Trypanosoma cruzi** antibodies presence by the ELISA technique. Once all the confirmatory tests were performed, 0.1% of seropositivity was detected in the student population. The study of 10% of houses of the corresponding random selected students, showed a 2.9% **T. dimidiata** infestation index and 9.3% of the insects were infected with **T. cruzi**. Comparing these data and the social and economic situation of Costa Rica in years 1980 and 2000, it is inferred that the improvement of the general conditions in Costa Rica, has decreased the Chagas disease incidence in this country.*

Key words: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, Epidemiology, Costa Rica.

INTRODUCCIÓN

La presencia de la enfermedad de Chagas se informa por primera vez en Costa Rica en 1941¹ cuando se describen los primeros casos humanos. En cuanto a su prevalencia diversos estudios serológicos realizados antes de 1980 mencionan cifras de 5,6%², 14,5%³ y 11,7%⁴. En un estudio⁵ realizado en los bancos de sangre, se establece un 0,93% de prevalencia y en un informe reciente⁶ se determina la presencia de anticuerpos en el 0,36% de 13. 414 sueros de donantes analizados.

En cuanto a los índices de infestación en las viviendas con *Triatoma dimidiata*, el transmisor domiciliar de la parasitosis en Costa Rica, se han encontrado cifras del orden del 42,4% y 34,6% respectivamente^{4,7}. Los índices de infección por

Trypanosoma cruzi en estos insectos oscilaban, para esa época, entre 30,9% y 44,6%.

En cuanto a los reservorios del parásito, se conocen en Costa Rica varios animales domiciliarios tales como perros, gatos, etc., peridomiciliarios como ratas, ratones y el zorro pelón (*Didelphis marsupialis*) y silvestres como mapaches (*Procyon lotor*), pizote (*Nasua narica*) y otros⁹⁻¹².

Como no se han realizado encuestas epidemiológicas completas de esta enfermedad de Chagas, el concepto generalizado en las autoridades de Salud es que esta parasitosis no es importante en el país. Esto se debe tal vez a la existencia de pocos casos humanos realmente comprobados de la misma. Este hecho mencionado por el Dr. Morera en la reunión del TDR sobre

* Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET). Facultad de Microbiología. Universidad de Costa Rica.

vectores de la Enfermedad de Chagas en Centro América, efectuada en Tegucigalpa, Honduras (22-24 octubre, 1997) causó extrañeza por lo que se consideró necesario un estudio actualizado de la enfermedad, al menos en algunas regiones de riesgo, con el objeto de contar con datos que pudieran usarse para comparar con los de otros países de Latinoamérica. Los resultados obtenidos son los que se informan en este trabajo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de zonas y población a estudiar:

Las localidades para el estudio fueron seleccionadas en congruencia con las zonas de riesgo informadas en trabajos anteriores^{4,7}. Estas áreas se dividieron en 4 zonas que incluyen las localidades indicadas (Tabla 1). Siguiendo los lineamientos descritos en "Inquérito serológico para avaluacao do programa de controle da doenca de Chagas"¹³, se seleccionaron 407 estudiantes al azar de las escuelas de cada zona. Para determinar la incidencia de la enfermedad de Chagas, la edad escogida para los estudiantes osciló entre los 6 y 12 años, colectándose un total de 1.561 de muestras. En cada una de las comunidades se impartieron charlas acerca del proyecto y se seleccionó un líder, para lograr una mejor integración de niños, padres y maestros.

Prueba de tamiz por anticuerpos contra *T. cruzi*: Las muestras de sangre se obtuvieron por punción capilar, colectándolas en papel de filtro Whatman No. 1, secadas a temperatura ambiente y almacenadas a 5° C con un desecador, hasta su uso¹⁴.

Para la determinación de anticuerpos se realizó la prueba ELISA EIA gen *T. cruzi* IgG-IgM (Biochem Immunosystems, Italia S.P.A.). Brevemente, para estudiar las muestras se recortaron anillos de 6,2 mm de diámetro que fueron colocados en placas de 96 pocillos, se agregaron 100 µl de diluyente de muestra como eluente (dilución 1:5). Las placas fueron incubadas toda la noche a 4° C y del eluado se preparó una dilución final de trabajo 1:100. En las placas de antígeno previstas se colocaron 100 µl de los controles positivos y negativos y las muestras diluidas se incubaron a 37° C por 30 minutos, y posteriormente se realizaron tres lavados. Se agregaron 100 µl de conjugado anti-IgG+IgM marcado con peroxidasa y las placas

fueron incubadas a 37° C por 30 minutos, repitiéndose los lavados. Finalmente, se agregaron 100 µl de sustrato (tetrametil bencidina y peróxido de hidrógeno), las placas se incubaron a temperatura ambiente por 15 minutos, agregándose 100 µl de ácido sulfúrico 3M como solución de paro. La absorbancia se determinó a 450nm utilizando un lector de ELISA, Bio Rad Modelo 550.

Todas las placas cumplieron los criterios de validez recomendados por el fabricante en cuanto a la absorbancia se refiere. Así, en el blanco ésta era menor de 0,1 nm, el control negativo menor de 0,2 y el control positivo mayor de 0,5.

Prueba confirmatoria por anticuerpos contra *T. cruzi*: Se utilizaron muestras de suero colectadas por sangrado venoso. Se realizó el Chagatest Elisa recombinante v 3.0 (Wiener Lab 2000 Rosario-Argentina). Brevemente, en las placas de antígeno recombinante se colocaron controles y muestras de suero diluidas apropiadamente, incubándose por 30 minutos a 37° C. Luego se procedió a lavar y se agregó el conjugado (anti-inmunoglobulina humana conjugada con peroxidasa) y se incubó por 30 minutos a 37° C. Posterior al lavado respectivo, se agregó el sustrato (tetrametil bencidina y peróxido de hidrógeno), las placas se incubaron 30 minutos a temperatura ambiente y finalmente se agregó ácido sulfúrico como solución de paro. Se leyeron las placas a 450 nm y las corridas cumplieron los criterios de validación requeridos por el fabricante.

Encuesta entomológica: La infestación por triatominos fue evaluada por medio de una encuesta entomológica realizada durante los meses de marzo a noviembre del 2001, en el 10% de 1.561 viviendas escogidas al azar y pertenecientes a niños que participaron en el estudio serológico. Dicha encuesta se realizó de acuerdo a una metodología¹⁴, en la cual, personal entrenado inspeccionó cada vivienda peri e intradomiciliariamente durante un período de 2 horas-hombre/vivienda. El proceso fue optimizado mediante el rociamiento de permetrina al 0,2% en kerosene (flushing out method) en los sitios con infestación probable¹⁶. Los triatominos fueron colectados con pinzas entomológicas y se colocaron en contenedores plásticos (10 x 7 cm) para su correspondiente traslado al laboratorio. La infección por *T. cruzi* fue determinada por observación microscópica

de las materias fecales en solución salina al 0,85% y por tinción de Giemsa.

Análisis de la vivienda actual y la de dos décadas antes: Se realizó un estudio exhaustivo, de acuerdo con los censos disponibles de los años 1984 y 2000 de la Oficina de Estadística y Censos de Costa Rica, de las condiciones de la vivienda especialmente en cuanto a la construcción de paredes, techos y pisos, lugares en donde se albergan los triatominos. Con los datos obtenidos se hizo una comparación entre la infraestructura de la vivienda actual y la de hace dos décadas, tomando en cuenta especialmente las 4 zonas seleccionadas para el estudio.

Análisis estadísticos: Con el fin de demostrar estadísticamente que la baja incidencia de la infección por *T. cruzi* encontrada en Costa Rica, tiene su razón en los cambios en las condiciones epidemiológicas ocurridos en este país en el término de 20 a 30 años, se analizaron tanto las condiciones de la vivienda, como los índices de infestación con *T. dimidiata* y la infección por *T. cruzi* de los triatominos.

Dada la cantidad relativamente pequeña de las localidades estudiadas y la comparación entre dos épocas claramente establecidas, se usó la prueba t “student” para analizar muestras independientes con un intervalo de confianza para la diferencia de 95%, comparando los resultados actuales con aquellos obtenidos antes de 1980²⁻⁴ en lugares que por su cercanía geográfica y su similitud de ambiente epidemiológico resultan válidamente comparables.

RESULTADOS

Al realizar el primer estudio usando la técnica

de Elisa con sangre capilar, se encontraron porcentajes de positividad elevados (Tabla 2) por lo que se procedió a realizar un control usando suero de los estudiantes con serología positiva; con este suero, además de repetir la prueba de ELISA, se usaron otras técnicas para confirmar el diagnóstico. También se aprovechó la circunstancia de que en una dependencia del Ministerio de Salud, INCIENSA, existe un laboratorio especializado en pruebas serológicas para la tripanosomiasis americana. En éste se controlaron todas las muestras, lo cual nos sirvió también para darle mayor validez a los resultados. Utilizando la prueba del tamizaje se encontró una positividad de 14,9% en la zona 1, seguida de 6,8% en la zona 2. Las zonas 3 y 4 presentaron positivities de 1,5% y 0,6% respectivamente. Después de depurar las pruebas serológico exhaustivamente, sólo se detectaron dos niños positivos en la zona 1, lo que representa un 0,1% de la positividad en el grupo etario estudiado. Estos resultados fueron chequeados y ratificados en el laboratorio del Dr. Ponce, (a quien agradecemos su colaboración) en Honduras. Al comparar estadísticamente resultados obtenidos en zonas similares antes de 1984 con los obtenidos en este trabajo, encontramos un valor de $p < 0,005$ para el análisis de las diferencias en ambos resultados. Los índices de infestación con triatominos encontrados en el ambiente peridomiciliar especialmente, oscilaron entre 9,3% y el 2,9% de acuerdo con la zona estudiada (Tabla 3). Analizando estadísticamente los datos obtenidos en este estudio con los encontrados antes de 1984 para regiones muy similares, se encontró que las diferencias observadas fueron muy significativas pues el valor fue $p < 0,025$. La infección de los insectos por *T. cruzi* fue en

Tabla 1. Zonas de estudio para la encuesta entomológica de triatominos

Zona de estudio	Ubicación
Zona 1	15-40 Km. Sur de San José (Provincia de San José y Cartago). Incluye los distritos de San Juan Norte, San Juan Sur, San Gabriel de Aserrí, El Rosario, San Ignacio de Acosta
Zona 2	7-15 Km. Oeste de San José (Provincia de San José). Incluye los distritos que conforman los cantones de Escazú y Santa Ana
Zona 3	20-25 Km. Norte de San José (Provincia de Heredia). Incluye los distritos de los cantones de San Rafael, Barva y Santa Bárbara.
Zona 4	20-25 Km. Noreste de San José (Provincia de Heredia y Alajuela). Incluye los distritos de los cantones de San Joaquín, Belén y San Rafael de Ojo de Agua

Tomado de Calderón Arguedas et al. 2002¹⁷

Tabla 2. Resultados de la prueba de tamizaje por *Trypanosoma cruzi* en las cuatro zonas estudiadas

Zona	Masculino		Femenino		Total	
	n positivos	%	n positivos	%	n positivos	%
Zona 1	7	1,7	21	5,1	28	6,8
Zona 2	31	7,6	30	7,3	61	14,9
Zona 3	3	0,7	3	0,7	6	1,5
Zona 4	1	0,3	1	0,7	2	0,6
Total	42	2,7	55	3,5	97	6,2

Tabla 3. Índices entomológicos* calculados para las cuatro zonas en estudio

Índice	Zona 1	Zona 2	Zona 3	Zona 4
Índice de infestación (IIF) (domicilios con triatominos/domicilios evaluados)	0,093 (9,3 %)	0,075 (7,5 %)	0,073 (7,3%)	0,029 (2,9%)
Índice de densidad (ID) (Triatominos capturados/domicilios evaluados)	1.340	0,925	0,630	0,080
Índice de hacinamiento (IH) (Triatominos capturados/domicilios con triatominos)	14.500	12.300	8.660	3.000
Índice de colonización (Domicilios con ninfas/ domicilios con triatominos)	0,500	0,666	0,666	1.000
Índice de infección con <i>T. cruzi</i> (IIF. <i>T. cruzi</i>) (Triatominos infectados con <i>T. cruzi</i> / Triatominos capturados)	0,050	0,0280	0,150	0,333
Infección relativa (Casas con triatominos positivos por <i>T. cruzi</i> /casas con triatominos)	0,250	0,330	1.000	1.000

*De acuerdo a Salomón y col. Tomado de Calderón - Arguedas *et al.* 2002¹⁷

Tabla 4. Prevalencia de Enfermedad de Chagas en Costa Rica

Referencia	# Muestra	Origen	Seroprevalencia (%)	Técnica Serológica
Zeledón, 1952	100	Encuesta	5,6	FC
Chinchilla & Montero-Gei, 1968	200	Encuesta	14,5	FC
Zeledón <i>et al.</i> , 1975	1.420	Encuesta	11,7	FC
Urbina <i>et al.</i> , 1988	2.574	Banco de Sangre	0,93	HI
Martínez <i>et al.</i> , 1995	1.000	Banco de Sangre	0,4-0,9	RIA/WB
Reyes <i>et al.</i> , 1998	1.073	Banco de Sangre	2,14	IF
Torres, 2002	13.414	Banco de Sangre	0,36	ELISA

general del 8,1%¹⁷ y al hacer las comparaciones estadísticas antes indicadas, se encontró que las diferencias entre los hallazgos de las dos épocas de estudio fueron altamente significativas ($p < 0,0005$). Los índices de infestación oscilaron entre 9,3% y el 2,9% de acuerdo con la zona estudiada (Tabla 3). Los triatominos fueron encontrados peridomiciliariamente y la infección por *T. cruzi* fue del 8,1%¹⁶. Puesto que las condiciones socioeconómicas son muy importantes en la epidemiología de esta enfermedad

comparamos lo que sucedía 20 años atrás con lo que ocurre actualmente. De acuerdo con lo observado en la Figura 1, la construcción de las casas es mejor actualmente en Costa Rica que en épocas anteriores. Tanto los materiales en las paredes de las casas como en los de piso y techo (Figura 1), son mucho mejores hoy en día que en 1984 o antes de este año. En efecto cuando aplicamos la prueba de t para comparar los porcentajes de casas con paredes de madera en las dos épocas, encontramos que existe una

Figura 1. Condiciones de construcción de la vivienda en los años 1984 y 2000: A. Años % = Porcentaje de Viviendas con el material indicado a. Paredes b. Pisos c. Techos.

disminución significativa en el año 2000 en comparación con 1984 ($P < 0,005$). Por el contrario existe un aumento del número de casas con paredes de ladrillo, block o cemento en el año 2000 ($P < 0,01$). Las casas con paredes de adobe y bahareque que aun existían en 1984, prácticamente han desaparecido o presentan una disminución altamente significativa ($P < 0,005$). La disminución de pisos de madera ha sido también considerable ($P < 0,005$), mientras que

la cantidad entre ambas épocas de los pisos de mosaico, ladrillo y cemento ha aumentado sustancialmente ($P < 0,01$). Los pisos de tierra también han disminuido notablemente ($P < 0,01$). En el caso de los techos, los construidos con metal o materiales de asbestos fueron muy similares para las dos épocas, pero al analizar el porcentaje de casas con techo de teja, de nuevo la diferencia entre ambas épocas fue muy significativa ($P < 0,005$), casi con desaparición de este material en el año 2000.

DISCUSIÓN

Si se comparan los resultados de los estudios serológicos realizados en las zonas de estudio, se nota que actualmente los índices de positividad son considerablemente más bajos que los observados antes de 1980¹⁻³, en áreas tan cercanas entre si que para el caso de Costa Rica un país de poca extensión, son muy similares (Tabla 4). Si bien es cierto los trabajos realizados en esos años pasados no pueden ser por lógica, ciento por ciento comparables, ellos contienen un porcentaje elevado de niños, que dadas las diferencias estadísticas tan notables encontradas, creemos que sí reflejan un cambio drástico en la incidencia de la Enfermedad de Chagas en Costa Rica. Por supuesto estos datos reflejan que la transmisión por parte de los triatominos ha disminuido, probablemente porque debido a las mejoras en la vivienda se han reducido los índices de infestación y de paso los de infección como se demuestra en el Tabla 5.

Esta situación no sorprende, si tomamos en cuenta que Costa Rica es un país cuyo desarrollo socio-económico determinado por parámetros como acceso a los sistemas de salud, educación e instituciones de ayuda social, ha sido notable en los últimos 20 años; este desarrollo se manifiesta, por ejemplo, en un mejoramiento indiscutible de la construcción de la vivienda (Figura 1). Por lo tanto, la disminución de paredes y pisos de madera, la desaparición de las paredes de bahareque (no se muestra en la figura por ser prácticamente 0), así como el incremento de techos de metal y otros materiales, como resultados del proceso de urbanización, han disminuido los lugares de permanencia y multiplicación de los vectores, como se demuestra al comparar el número de insectos capturados anteriormente con lo encontrado en este estudio.

Figura 2. Esquema comparativo de la epidemiología de la enfermedad de Chagas en Costa Rica.

Tabla 5. Infestación por *Triatoma dimidiata* en tres estudios epidemiológicos sobre enfermedad de Chagas en Costa Rica

Estudios realizados	Porcentaje de infestación por <i>T. dimidiata</i> en viviendas			Porcentaje de triatominos infectados con <i>T. cruzi</i>		
	n de viviendas	Viviendas positivas	% de infestación	n de triatominos	n de triatominos (+)	% de Infección
Chinchilla & Montero-Gei, 1967	777	330	42,4	1.701	760	44,6
Zeledón et al. 1975	523	181	34,6	3.276	1.014	30,9
Calderón et al. 2002	157	13	8,3	124	10	8,1

Tabla 6. Estado Actual de la Enfermedad de Chagas en los países del cono Sur de América

País	Seroprevalencia (%)		Infestación (%)	Referencia
	En niños	Banco de Sangre		
Argentina	1 a 6,3	3,84	1,19 a 6,11	Segura, 2002 (16)
Bolivia	17,0 a 41,1	20,9	4	Guillén, 2002 (17)
Brasil	0,14 a 4,2	0,6	1,77	Pinto, 2002 (18)
Chile	0,4 a 5,4	0,97	0,3	Lorca et al, 2002 (19)
Paraguay	3,9 a 9,7	4,34	0,90 a 3,95	Rojas de Arias, 2002 (20)
Perú	2,6 a 17,25	1,6	-	Silveira, 2002 (21)
Uruguay	-	0,6	~0 a 1,7 a	Salvatella, 2002 (22)

Fuente: El control de la enfermedad de Chagas en los países del cono Sur de América 2002

(Tabla 5). En efecto como se ha demostrado ampliamente, son los tipos de paredes de madera o de adobe o bahareque, así como ciertos tipos de techo, muy diferentes a los de metal los que ayudan en el albergue de los trasmisores. Además los pisos de tierra y los de madera que en general, estaban en el pasado sobre un espacio abierto con un piso también de tierra, representan un ambiente ideal para los triatominos, que inclusive les sirve para esconderse de los depredadores

como se ha demostrado previamente⁸.

Además, el índice de infección de los triatominos es también muy diferente si comparamos los datos de este estudio con los que se conocían antes de 1980 (Tabla 5). Esto se puede explicar por el hecho de que también el número de reservorios domiciliarios y peridomiciliares ha disminuido, en razón de la carencia de condiciones adecuadas para su desarrollo. En efecto, por el proceso de

urbanización y algún grado de deforestación que se viene dando en el país, los alrededores de las viviendas están libres de plantas y zonas verdes, disminuyendo la posibilidad de encontrar animales como el *D. marsupialis*, eslabón fundamental entre los ciclos silvestres y domiciliarios del *T. cruzi*⁹. El mejoramiento de las condiciones internas hogareñas también ha resultado en una menor presencia de ratas y ratones, importantes reservorios¹⁰.

Todos los factores antes mencionados se interrelacionan íntimamente para establecer patrones epidemiológicos muy diferentes observados antes de 1980 y ahora en el inicio del siglo 21 (Figura 2), que nos llegan a concluir que en Costa Rica, en términos generales, la Enfermedad de Chagas presenta una prevalencia muy baja. No se debe dejar de lado la existencia de algunas viviendas y pequeños focos, muy puntuales, en donde todavía se mantienen los transmisores, algunos de los cuales pueden estar infectados con el parásito.

Este panorama de disminución de la presencia de la enfermedad de Chagas en Costa Rica coincide con lo que sucede en los países del cono Sur, en donde con excepción de Bolivia, los índices tanto de seroprevalencia como de infestación domiciliar por transmisores han decrecido ostensiblemente (Tabla 6). Sin embargo, en esos países el fenómeno se produce gracias a programas de control contra esta tripanosomiasis claramente establecido¹⁸, lo cual no ha ocurrido en Costa Rica, en donde el proceso es el resultado natural de un mejoramiento social de carácter global no dirigido específicamente a la Enfermedad de Chagas. En efecto, los gobiernos de 20 años a esta parte han venido haciendo esfuerzos importantes en el campo de la vivienda, por medio de préstamos especiales, bonos de apoyo, etc constituyéndose la vivienda en un tema político- electoral importante. Si bien es cierto han aparecido los llamados anillos de pobreza periféricos a las ciudades, en donde las viviendas son rudimentarias, pero al estar situadas en zonas muy urbanas el contacto con el ambiente ecológico por parte del *T. dimidiata* es prácticamente nulo.

RESUMEN

Para actualizar la situación de la Enfermedad de Chagas en Costa Rica se realizó un estudio

serológico y epidemiológico parcial en 4 zonas de riesgo en el país. Un total de 1.561 estudiantes de 6 a 12 años fueron estudiados por anticuerpos contra *T. cruzi* usando una prueba de ELISA como tamiz previo a una confirmatoria. En la primera prueba se obtuvo una positividad que osciló entre 0,6% y 14,9% mientras que en la prueba confirmatoria esta positividad fue de 0,1%. El estudio del 10% de las casas de los estudiantes seleccionados indicó índices de infestación del 2,9% al 9,3% y los triatominos, encontrados peridomiciliarmente presentaron un 8,1% de infección por *T. cruzi*. Al comparar estos datos con los conocidos antes de 1980 y basados en un análisis socioeconómico de ambas épocas, se concluye que las mejores condiciones de vida actuales han disminuido la incidencia de Enfermedad de Chagas en Costa Rica.

REFERENCIAS

- 1.- BILLOW T VON. ¿Existe en Costa Rica la tripanosomiasis humana? Rev Méd Costa Rica 1941; 4: 410-4.
- 2.- ZELEDÓN R. Estado actual de los estudios epidemiológicos sobre enfermedad de Chagas en Costa Rica. Rev Méd Costa Rica 1952; 11: 169-1979.
- 3.- CHINCHILLA M, MONTERO-GEI F. Enfermedad de Chagas en Santa Ana Costa Rica. Estudio parasitológico y serológico en 200 personas. Acta Méd Costarr 1968; 11: 211-7.
- 4.- ZELEDÓN R, SOLANO G, BURSTIN L, SWARTZWELDER J C. Epidemiological pattern of Chagas disease in an endemic area of Costa Rica. Am J Trop Med and Hyg 1975; 24: 214-25.
- 5.- URBINA A, VARGAS L, ROJAS M, et al. Prevalencia serológica de infección por *Trypanosoma cruzi* de donadores de sangre en zonas endémicas para la enfermedad de Chagas en Costa Rica. Rev Costarr Cienc Méd 1988; 9: 37-9.
- 6.- TORRES A L. Editorial. Tamización de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en los bancos de sangre de la seguridad social. Rev Costarr Cienc Méd 2002; 23: 107-8.
- 7.- CHINCHILLA M, MONTERO-GEI F. Observaciones sobre las condiciones de la vivienda en relación con la presencia de los trasmisores de *Trypanosoma cruzi* en el cantón de Santa Ana. Acta Méd Costarr 1967; 10: 19-30.
- 8.- ZELEDÓN R, ZÚÑIGA A, SWARTZWELDER J C. The camouflage of *Triatoma dimidiata* and the epidemiology of Chagas disease in Costa Rica. Bol Chil Parasitol 1969; 106-9.
- 9.- ZELEDÓN R, SOLANO G, SÁNCHEZ G, SWARTZWELDER J C. Wild reservoir of *Trypanosoma cruzi* with special mention of the *Opposum*, *D. marsupialis*, and its role in the epidemiology of Chagas disease in an endemic area of

- Costa Rica. J Parasitol 1970; 56: 38.
- 10.- CHINCHILLA M. Hallazgo de dos nuevos reservorios de la enfermedad de Chagas en Costa Rica. Acta Méd Costarr 1996; 9: 165-6.
- 11.- REYES L, SILESKY E, CERDAS C, CHINCHILLA M, GUERRERO O M. Presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en perros de Costa Rica. Parasitol Latinoamer 2002; 57: 66-8.
- 12.- REYES L, BONILLA A, MOYA T, CHINCHILLA M. Estudio serológico por inmunofluorescencia de la enfermedad de Chagas en Costa Rica. Parasitol al Día 1998; 22: 108-10.
- 13.- MINISTERIO DA SAÚDE, Fundação Nacional de Doenças. Departamento de Operações. Coordenação de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores. 1ª ed. – Brasília: Fundação Nacional de Saúde. Inquérito serológico para avaliação do programa de controle da doença de Chagas 1994; 69.
- 14.- EVENGARD B, LINDER E, LUNDBERGH P. Standardization of a filter paper technique for blood sampling. Ann Trop Med Parasitol 1988; 82: 295-303.
- 15.- GÜRTLER R, WISNIEWSKY-COLLO C, SOLARZ N, et al. Dinámica de la transmisión doméstica en niños y perros y la densidad de *Triatoma infestans*. Bol Of Sanit Panam 1988; 104: 130-43.
- 16.- PINCHIN R, FANARA D, CASTLEN C W, OLIVEIRA-FILHO A M. A comparative study of domestic survey techniques for Chagas disease vector *Triatoma infestans*. Insect Sci Application 1988; 3: 79-84.
- 17.- CALDERÓN - ARGUEDAS O, TROYO A, CASTRO A, et al. Infestación por vectores de la Enfermedad de Chagas en cuatro zonas endémicas de la meseta Central de Costa Rica. Parasitol Latinoam 2002; 57: 88-95.
- 18.- MONCAYO A. Progress towards interruption of transmission of Chagas disease. Men Ins Oswaldo Cruz 1999; 94 (Suppl.1): 401-4.
- 19.- SEGURA E L. El control de la enfermedad de Chagas en la República Argentina. El control de la enfermedad de Chagas en los países del cono Sur de América Organización Panamericana de la Salud. Facultad de Medicina do triângulo Mineiro 2002; 45-97.
- 20.- GUILLEN G E. El control de la enfermedad de Chagas en Bolivia. El control de la enfermedad de Chagas en los países del cono Sur de América. Organización Panamericana de la Salud. Facultad de Medicina do triângulo Mineiro 2002; 109-43.
- 21.- PINTO J C. O Controle da doença de Chagas no Brasil. El control de la enfermedad de Chagas en los países del cono Sur de América Organización Panamericana de la Salud. Facultad de Medicina do triângulo Mineiro 2002; 145-239.
- 22.- LORCA M, SCHENONE H, VALDES J. El control de la Enfermedad de Chagas en Chile. El control de la enfermedad de Chagas en los países del cono Sur de América Organización Panamericana de la Salud. Facultad de Medicina do triângulo Mineiro 2002; 251-6.
- 23.- ROJAS DE ARIAS A, RUSSOMANDO G. El control de la enfermedad de Chagas en Paraguay. El control de la enfermedad de Chagas en los países del cono Sur de América Organización Panamericana de la Salud. Facultad de Medicina do triângulo Mineiro 2002; 269-98.
- 24.- SILVEIRA A C. O controle da doença de Chagas nos países do cone Sul da América. El control de la enfermedad de Chagas en los países del cono Sur de América Organización Panamericana de la Salud. Facultad de Medicina do triângulo Mineiro 2002; 15-43.
- 25.- SALVATELLA R. El control de la enfermedad de Chagas en Uruguay. El control de la enfermedad de Chagas en los países del cono Sur de América Organización Panamericana de la Salud. Facultad de Medicina do triângulo Mineiro 2002; 301-6.

Agradecimientos: Este proyecto fue realizado gracias al apoyo económico del TDR/WHO según el proyecto de investigación N° 980413, así como de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.