Eficacia de nifurtimox para el tratamiento de pacientes con enfermedad de Chagas crónica

Rodrigo Fuentes B., Mario Maturana A. y Rolando de la Cruz M.

Pontificia Universidad
Católica de Chile. Santiago.
Departamento de Salud Pública.

Los autores declaran no tener
conflicto de intereses.
El presente trabajo no presenta
financiamiento externo.

Recibido: 2 de mayo de 2011
Aceptado: 11 de octubre de 2011

Correspondencia a:

Rodrigo Fuentes B.
rifuentes@uc.cl

Efficacy of nifurtimox for the treatment of chronic Chagas disease

Background: Most Chagas patients belong to the chronic indeterminate stage, in which pharmacological treatment has an inconclusive outcome. **Objective:** To evaluate the efficacy of nifurtimox treatment in chronic asymptomatic *Trypanosoma cruzi* infection. **Methods:** We performed a systematic review and meta-analysis of electronically published literature, with no language, type of study, age or gender restrictions, until September 2010. Studies of chronic asymptomatic Chagas disease patients treated exclusively with nifurtimox were included in the analysis. Treatment efficacy was evaluated using parasitological or serological parameters. **Results:** Of 463 identified studies, 7 were finally selected: 6 observational studies and 1 randomized clinical trial; 4 of the studies were in adults, 3 in children < 14 years. In 6 studies, outcomes were defined by serological techniques. Summary estimate (log odds) was 0.37 (CI_{95%} -1.32 - 2.07). **Conclusions:** The analyzed studies gave discordant results. Those might be explained by differences in the populations studied, follow-up periods, diagnostic techniques, and sample size. More studies are necessary to obtain conclusive results about treatment efficacy of nifurtimox in this clinical phase of *T. cruzi* infection.

Key words: Nifurtimox, Chagas, *Trypanosoma cruzi*.

Palabras clave: Nifurtimox, Chagas, *Trypanosoma cruzi*.

Introducción

La enfermedad de Chagas es una zoonosis causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, endémica en el continente americano (presente desde el sur de los E.U.A. hasta Chile y Argentina). Se estima que 80 a 100 millones de personas se encuentran en riesgo de contraer la enfermedad, con una incidencia de 41.200 nuevos casos por año, una prevalencia de 8 a 10 millones de casos y 12.500 muertes al año^{1,2} ocupando actualmente el cuarto lugar de importancia como carga de enfermedad medida en años de vida ajustados según discapacidad (AVAD) en América, después de las infecciones respiratorias, gastrointestinales y SIDA².

El parásito *T. cruzi* se transmite comúnmente a los seres humanos por un insecto vector de la subfamilia *Triatominae* conocido como vinchuca, el que se encuentra presente en las zonas endémicas de la enfermedad. Otras formas de transmisión son por transfusión de sangre, trasplante de órganos, transplacentaria de la madre al feto y por ingestión de alimentos contaminados³.

Se describen tres formas de presentación para esta enfermedad: *fase aguda*, *fase crónica indeterminada* (asintomática) y *fase crónica determinada* (sintomática). Durante la fase aguda, los parásitos circulantes son numerosos y capaces de infectar diversos tejidos, dando origen a 1- 2% de los casos. El diagnóstico se realiza

mediante técnicas denominadas directas que consisten en la observación del parásito o su material genético². En los seres humanos, la fase aguda es corta (2 meses) pudiendo recuperarse en forma espontánea en más de 95% de los pacientes para luego entrar en una fase crónica asintomática caracterizada por una baja parasitemia y que representa aproximadamente 50-70% de los enfermos. Alrededor de un tercio de los pacientes desarrollará síntomas clínicos tales como cardiopatía, megacolon o megaesófago luego de 10 a 30 años^{2,4}. En las etapas crónicas de la enfermedad adquieren importancia los denominados métodos indirectos basados en la detección serológica de anticuerpos específicos para el *T. cruzi*².

El uso de técnicas de laboratorio de mayor sensibilidad han demostrado que el parásito se esconde profundamente en el corazón y otros tejidos, circulando en la sangre en bajo número, lo que coincide con las fases crónicas de la enfermedad⁵.

En la actualidad sólo existen dos fármacos específicos para el tratamiento de esta enfermedad, los cuales fueron desarrollados hace más de 30 años, uno de ellos es nifurtimox⁵. Este fármaco, un análogo de nitrofuranos, actúa como tripanocida contra todas las formas de *T. cruzi*^{6,7}.

El tratamiento de la enfermedad de Chagas se recomienda durante todas sus fases, como también en pacientes con SIDA, trasplante de órganos o que reciben fármacos inmunosupresores, los cuales presentan mayor

riesgo para la reactivación de la infección⁸. Durante la fase aguda, la quimioterapia conduce a la regresión de la parasitemia y síntomas clínicos, pero se desconoce la eficacia durante la etapa indeterminada y crónica determinada, siendo los resultados de los estudios controversiales y no convincentes, lo que se explicaría por las características intracelulares del parásito^{2,5}.

Bajo este marco, la presente investigación tiene como objetivo principal evaluar mediante una revisión sistemática la eficacia del tratamiento en base a nifurtimox en la fase crónica asintomática de la infección por *T. cruzi*.

Material y Método

La búsqueda de artículos se realizó en base a la literatura científica publicada en forma electrónica, sin restricción de lenguaje, hasta septiembre de 2010, en las siguientes bases de datos: Medline, BVS, Highwire Press, Artemisa y scielo. Además se realizó una búsqueda secundaria a través de la consulta de las referencias incluidas en los artículos primarios y en otras revisiones sistemáticas encontradas en la literatura. Las palabras clave utilizadas fueron *nifurtimox*, *Chagas* y *Trypanosoma cruzi*. Para que un estudio fuese incluido, debió tener las siguientes características: los participantes deben haber sido pacientes con diagnóstico de Chagas en etapa crónica indeterminada (asintomática), sin restricción de edad o género, y que hubiesen recibido tratamiento exclusivamente con nifurtimox en forma oral al menos por 30 días a una dosis de 8-10 mg/kg/día. No se realizó restricción por tipo de estudio. Por otro lado, se excluyeron los estudios que no fueron realizados en humanos, en pacientes con co-morbilidades, en pacientes con Chagas agudo, congénito o sintomático, que no utilizaron nifurtimox como medicamento de elección, que utilizaron nifurtimox en combinación con otro fármaco, o que no permitieron aislar el efecto propio de nifurtimox, casos clínicos o revisiones. El resultado principal analizado en los estudios incluidos fue la negativización de los parámetros serológicos (inmunodiagnóstico de anticuerpos a través de ELISA o inmunofluorescencia indirecta; detección del material genético del parásito a través de RPC) o parasitológicos (detección visual del parásito a través de xenodiagnóstico), además de la no evidencia de signos clínicos concordantes con la etapa sintomática de la enfermedad de Chagas. El proceso de selección de un estudio se realizó, en primer lugar a través de su título, luego mediante el resumen y finalmente a través de la lectura del texto completo. Ambos investigadores realizaron este proceso en forma independiente y las discordancias fueron resueltas en reuniones de consenso con otros investigadores.

El meta-análisis de los estudios seleccionados se realizó en base al modelo de efectos aleatorios, con la

información de la proporción de individuos que negativizaron los parámetros serológicos o parasitológicos en cada estudio. Se partió de la premisa que nifurtimox tiene un efecto sobre estas variables, el cual podría variar con los años de seguimiento de los participantes, tipo de estudio o técnica diagnóstica utilizada. Para llevar a cabo los análisis estadísticos se utilizó el programa estadístico R⁹ y el paquete “metafor”. Se comienza con los estimados independientes de tamaño de efecto. El modelo de efectos aleatorios está dado por:

$$Y_i = \mu + v_i + \varepsilon_i$$

donde $v_i \sim N(0, \tau^2)$ y $\varepsilon_i \sim N(0, \nu^2)$. De esta forma, el objetivo es la estimación de μ (el efecto conjunto) y τ^2 (la cantidad total de heterogeneidad entre los efectos independientes). Luego de esto se realizó la metaregresión ajustando un modelo de efectos mixtos a los datos más la co-variable grupo etéreo, utilizando el estimador restrictivo de máxima verosimilitud para la estimación de τ^2 ¹⁰.

Resultados

La revisión de trabajos generó un total de 463 estudios primarios, siendo descartados 455 estudios (236 realizados en animales; 44 que evaluaron otro fármaco o la combinación de nifurtimox con otro fármaco; 5 realizados en participantes con co-morbilidades; 26 realizados en participantes con enfermedad de Chagas con infección congénita, 40 realizados en participantes infectados con *T. cruzi* con infección aguda, sintomáticos o casos clínicos; 102 revisiones que no incluían los datos primarios; y dos revisiones sistemáticas más meta-análisis). Como existía superposición de estudios entre las bases de datos, luego de filtrar por estudios repetidos se aislaron finalmente ocho estudios para la preselección, todos ellos localizados en Medline. De estos últimos, el estudio de Schenone (1999) fue descartado porque no cumplió con el requisito de seguimiento para la evaluación del tratamiento.

Los siete estudios seleccionados correspondieron a seis estudios de cohorte y un ensayo clínico randomizado. Un total de tres estudios fueron publicados originalmente en inglés (Fabbro 2007¹¹, Solari 2001¹², Gallerano 1990¹³), dos en portugués (Streiger 2004¹⁴, Coura 1997¹⁵) y dos en español (Solari 1998¹⁶, Cerisola 1977¹⁷). Seis estudios fueron publicados en revistas especializadas en parasitología o medicina tropical (Fabbro 2007, Streiger 2004, Coura 1997, Solari 1998, Gallerano 1990, Cerisola 1977) mientras que el restante fue publicado en una revista especializada en quimioterapia antimicrobiana (Solari 2001). No se reportaron asociaciones con compañías farmacéuticas u otro tipo de conflictos de interés en ninguno de los estudios. Las características generales de los estudios primarios seleccionados se describen en la Tabla 1.

Los resultados se obtuvieron en base a la estimación

Tabla 1. Características generales de los estudios primarios seleccionados

Autor	Año	País	n	Eventos	Seguimiento (años)	Grupo etéreo* (inicio)	Resultado	Tipo de estudio
Fabbro et al. ¹¹	2007	Argentina	27	11	23,4 (promedio)	Adultos	ELISA	Cohorte
Streiger et al. ¹⁴	2004	Argentina	7	6	24	Niños	ELISA	Cohorte
Solari et al. ¹²	2001	Chile	66	66	3	Niños	RPC	Cohorte
Solari et al. ¹⁶	1998	Chile	27	10	0,5	Niños	RPC	Cohorte
Coura et al. ¹⁵	1997	Brasil	19	0	1	Adultos	IFI	ECR
Gallerano et al. ¹³	1990	Argentina	38	11	10,25 (promedio)	Adultos	IFI	Cohorte
Cerisola et al. ¹⁷	1977	Argentina Chile Brasil	89	76	3	Adultos	XD	Cohorte

*Adultos corresponden a participantes sobre 17 años de edad; N: número de pacientes; ELISA: Enzimoimmunoensayo; RPC: Reacción de polimerasa en cadena; IFI: Inmunofluorescencia indirecta; XD: Xenodiagnóstico, ECR: Ensayo clínico randomizado.

Figura 1. Gráfico de Forest de evaluación del efecto de nifurtimox por estudios primarios y su medida de resumen estimada.

del logaritmo natural de la chance de la negativización de los parámetros serológicos y parasitológicos estimados en ausencia de signos clínicos.

Tres de los estudios primarios presentan una mayor variabilidad en relación a sus intervalos de confianza: Streiger (2004) (log odds 1,79; IC_{95%} -0,33 – 3,91), Solari (2001) (log odds 4,89; IC_{95%} 2,11 – 7,67) y Coura (1997) (log odds -3,66; IC_{95%} -6,47 – -0,86) (Figura 1).

Los estimados puntuales para cada estudio y el estimado puntual conjunto (log odds, o bien, el logaritmo natural de la chance de negativizar los parámetros serológicos y

parasitológicos en ausencia de signos clínicos) más sus intervalos de confianza al 95%, analizados a través de un modelo de efectos aleatorios fue de 0,37 (-1,32 – 2,07) como aparece en la Figura 1.

Luego del análisis conjunto de los datos para las medidas de efecto, la cantidad de heterogeneidad total se estimó en $\tau^2 = 4,5275$, además, la heterogeneidad entre los estudios a través del estadístico I^2 (variabilidad de la estimación del tamaño del efecto) arrojó un valor de 95,08% lo que implica una heterogeneidad alta entre los estudios. Por otro lado, la prueba de heterogeneidad Q de Cochran arrojó un valor $p < 0,0001$, lo que corrobora la presencia heterogeneidad entre los estudios primarios.

Al ajustar la meta-regresión, la cantidad de heterogeneidad total se estimó en $\tau^2 = 4,5196$, es decir, 0,17% de la heterogeneidad puede ser atribuida al incluir el grupo etéreo (niño-adulto) como moderador del modelo, con lo cual podemos concluir que esta característica no incidiría en la explicación de la efectividad del antiparasitario. Esto se ve confirmado a través de la prueba de ómnibus ($Q_M = 1,7$, $df = 1$, $p = 0,18$), así se acepta H_0 donde el grupo etéreo para la explicación del modelo no tendría efecto.

Discusión

Al analizar los resultados se puede evidenciar la alta heterogeneidad existente entre los estudios. Esta heterogeneidad se puede explicar por diversas razones. Los estudios de Solari (2001 y 1998) y Streiger (2004) se realizaron en niños bajo 14 años de edad. Se ha descrito que la eficacia del fármaco disminuye a medida que transcurre mayor tiempo desde el inicio de la infección¹⁸,

tiempo que podría ser menor en niños respecto a adultos. A través del modelo de efectos mixtos se observó que dicha característica binaria (niño o adulto) no afectó a la explicación del modelo; sin embargo, tanto τ^2 como I^2 son a menudo estimados imprecisamente, especialmente cuando el número de estudios es pequeño¹⁰.

Otra variable a tomar en consideración es el control de la re-infección. Ninguno de los estudios incluidos describe la ubicación geográfica de los participantes en relación a las áreas endémicas; sin embargo, se podría asumir que no existió riesgo de re-infección en los estudios de Solari (2001 y 1998) ya que fueron realizados en Chile, país declarado libre de la transmisión vectorial de la enfermedad por la OPS en el año 1999. Además, ninguno de los estudios documenta la probabilidad de re-infección a través del tamizaje o vigilancia periódica de las tasas de seroconversión; sin embargo, uno de ellos (Cerisola, 1977) hace referencia a que los participantes se mantuvieron hospitalizados durante el periodo de tratamiento y seguimiento con el fin de evitar re-infecciones. La re-infección podría interpretarse como una menor eficacia de nifurtimox por menores tasas de negativización de las pruebas serológicas.

Otra fuente de heterogeneidad entre los estudios se explicaría por los años de seguimiento, los cuales varían entre seis meses (Solari 1998) y 24 años (Streiger 2004); esto se suma a la diversidad de métodos diagnósticos utilizados, RPC (Solari 1998 y 2001), ELISA (Streiger 2004, Fabbro 2007), IFI (Gallerano 1990, Coura 1997) y xenodiagnóstico (Cerisola 1977). Se describe en la literatura médica que existe directa relación entre los métodos diagnósticos utilizados y la probabilidad de detectar la infección por *T. cruzi*, debido a que la conversión serológica (no detección de anticuerpos contra *T. cruzi*) demora años o décadas en ocurrir luego del tratamiento⁷, como también por la disminución progresiva de la parasitemia haciéndose prácticamente indetectable para los métodos directos en fase indeterminada. En el caso del xenodiagnóstico, los falsos negativos alcanzarían a 40-80%^{2,19,20} por lo que la presencia de un resultado parasitológico negativo no asegura la ausencia de infección; por consiguiente, esta técnica no es de utilidad para la confirmación diagnóstica. Por su parte, las técnicas en base a RPC poseen niveles de sensibilidad variables que limitan su uso en pacientes con enfermedad crónica. De esta forma, aún no existe consenso en la comunidad científica en cuanto al examen confirmatorio de valor probado o criterios de cura específicos a utilizar para definir la eficacia del tratamiento⁷.

Además, las reacciones adversas a medicamentos serían un factor importante en el abandono del tratamiento, hecho descrito en ocho de los 27 pacientes en el estudio de Coura (1997). En dos estudios se describe una prevalencia de efectos adversos entre 31 y 32% (Gallerano 1990 y Fabbro 2007), lo que concuerda con los valores aproxi-

mados de 30 a 40% reportados en la literatura científica^{2,18}. Lamentablemente no se describen las características de los participantes que abandonaron el estudio, específicamente en sus hallazgos clínicos y serológicos.

Las dosis de nifurtimox oscilaron en un rango de 5 a 15 mg/kg/día (Coura 1997 y Streiger 2004, respectivamente) y el periodo de tratamiento varió entre 30 y 120 días (Coura 1997 y Cerisola 1977, respectivamente). Sólo en tres estudios (Cerisola 1977, Gallerano 1990 y Fabbro 2007) se utilizó la dosis recomendada de 8-10 mg/kg/día, pero con periodos de administración distintas. Su importancia radica en que se describe en la literatura médica que la incidencia de efectos adversos sería dosis dependiente, lo que influiría directamente en la tasa de abandono. Sin embargo, el principal factor responsable de la eficacia del nifurtimox sería la fase de la enfermedad en la cual se inicia el tratamiento, lo que es controlado mediante criterios de inclusión al estudio, debido a que sólo se consideraron participantes en fase crónica indeterminada.

El número de participantes también fue un factor de importancia en la presencia de heterogeneidad. El rango osciló entre siete casos (Streiger 2004) y 89 participantes (Cerisola 1977), que proporciona la importante variabilidad observada tanto intra-estudio como entre los estudios. De este modo, los resultados de la eficacia del nifurtimox sobre la infección crónica asintomática por *T. cruzi* en los distintos estudios deben ser interpretados en base a un escaso número de participantes, y en estudios donde no necesariamente se evaluó un resultado clínico.

Conclusiones

El análisis de la información obtenida mediante la presente revisión sistemática con meta-análisis concluye que los resultados son dudosos y discordantes. Esta incertidumbre refleja las diferencias en las distintas poblaciones estudiadas, sus periodos de seguimientos, técnicas diagnósticas y tamaño de las muestras.

La evidencia que existe hoy en día es limitada para definir los efectos del fármaco en pacientes con enfermedad de Chagas crónica²¹⁻²³. Por lo tanto, es necesario realizar nuevos estudios controlados y randomizados que consideren los problemas señalados con anterioridad y que permitan obtener resultados concluyentes sobre la eficacia de nifurtimox en esta fase clínica de la infección por *T. cruzi*.

Existe evidencia que nifurtimox es efectivo en casos agudos y crónicos, por lo que, a pesar de no observar resultados sustentables y significativos a favor de esta terapia en la presente revisión, los autores concuerdan que durante la etapa indeterminada, la prevención secundaria con este fármaco sería recomendable a la luz de los antecedentes clínicos, epidemiológicos y de laboratorio. Esto debido a que la intervención terapéutica antiparasitaria precoz

disminuye los costos socioeconómicos, aumenta la calidad de vida de los pacientes y la de su familia.

Resumen

Introducción: La mayoría de los pacientes con enfermedad de Chagas se encuentran en fase crónica indeterminada donde los resultados de tratamiento farmacológico no han sido concluyentes. **Objetivo:** Evaluar la evidencia que apoya la eficacia del tratamiento con nifurtimox en la infección crónica por *Trypanosoma cruzi* asintomática. **Método:** Revisión sistemática y meta-análisis de literatura publicada en forma electrónica, sin restricción de lenguaje, tipo de estudio, edad y género, hasta septiembre de 2010. Se incluyeron estudios de pacientes con enfermedad de Chagas crónica asintomáticos

que recibieron tratamiento exclusivo con nifurtimox. La eficacia del tratamiento fue evaluada mediante métodos parasitológicos o serológicos. **Resultados:** Se identificaron 463 estudios primarios seleccionando finalmente siete: seis observacionales y un ensayo clínico randomizado; cuatro en pacientes adultos y tres en niños bajo 14 años de edad. En seis estudios los resultados se midieron mediante técnicas serológicas. La medida resumen (log de la chance) fue de 0,37 (IC_{95%} -1,32 – 2,07). **Conclusiones:** Los resultados son discordantes. La incertidumbre se manifiesta por las diferencias en las poblaciones estudiadas, periodos de seguimiento, técnicas diagnósticas y tamaño de las muestras. Es necesario realizar nuevos estudios que consideren las fuentes de incertidumbre para obtener resultados concluyentes sobre la eficacia del nifurtimox en esta fase clínica de la infección por *T. cruzi*.

Referencias

- 1.- Pérez-Molina J A, Pérez-Ayala A, Moreno S, Fernández-González M C, Zamora J, López-Velez R. Use of benznidazole to treat chronic Chagas' disease: a systematic review with a meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64: 1139-47.
- 2.- Ministerio de Salud. Guía Clínica "Guías de Diagnóstico, Tratamiento y Prevención de la Enfermedad de Chagas". Santiago, MINSAL 2006. *Rev Chil Infectol* 2008; 25: 189-93; 194-99; 285-8; 289-92; 378-83; 384-9.
- 3.- Matsuda N M, Miller S M, Evora P R. The chronic gastrointestinal manifestations of Chagas disease. *Clinics (Sao Paulo)* 2009; 64: 1219-24.
- 4.- de Meis J, Morrot A, Farias-de-Oliveira D A, Villa-Verde D M, Savino W. Differential regional immune response in Chagas disease. *PLoS Negl Trop Dis* 2009; 3: e417.
- 5.- Clayton J. Chagas disease 101. *Nature* N° 465. Published online 23 June 2010. Disponible en: http://www.nature.com/nature/journal/v465/n7301_suppl/full/nature09220.html
- 6.- Maya J D, Orellana M, Ferreira J, Kemmerling U, López-Muñoz R, Morello A. Chagas disease: Present status of pathogenic mechanisms and chemotherapy. *Biol Res* 2010; 43: 323-31.
- 7.- Bern C, Montgomery S P, Herwaldt B L, Rassi A Jr, Marin-Neto J A, Dantas R O, et al. Evaluation and treatment of Chagas disease in the United States: a systematic review. *JAMA* 2007; 298: 2171-81.
- 8.- Britto C C. Usefulness of PCR-based assays to assess drug efficacy in Chagas disease chemotherapy: value and limitations. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009; 104 Suppl 1: 122-35.
- 9.- R Development Core Team (2009). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- 10.- Viechtbauer W. Conducting meta-analyses in R with the metafor Package. Vol. 36, Issue 3, Aug 2010. Disponible en <http://www.jstatsoft.org/>.
- 11.- Fabbro D L, Streiger M L, Arias E D, Bizai M L, del Barco M, Amicone N A. Trypanocide treatment among adults with chronic Chagas disease living in Santa Fe city (Argentina), over a mean follow-up of 21 years: parasitological, serological and clinical evolution. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40: 1-10.
- 12.- Solari A, Ortiz S, Soto A, Arancibia C, Campillay R, Contreras M, et al. Treatment of *Trypanosoma cruzi*-infected children with nifurtimox: a 3 year follow-up by PCR. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 515-9.
- 13.- Gallerano R H, Marr J J, Sosa R R. Therapeutic efficacy of allopurinol in patients with chronic Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 43: 159-66.
- 14.- Streiger M L, del Barco M L, Fabbro D L, Arias E D, Amicone N A. Longitudinal study and specific chemotherapy in children with chronic Chagas' disease, residing in a low endemicity area of Argentina. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37: 365-75.
- 15.- Coura J R, de Abreu L L, Willcox H P, Petana W. Comparative controlled study on the use of benznidazole, nifurtimox and placebo, in the chronic form of Chagas' disease, in a field area with interrupted transmission. I. Preliminary evaluation. *Rev Soc Bras Med Trop* 1997; 30: 139-44.
- 16.- Solari A, Contreras M C, Lorca M, García A, Salinas P, Ortiz S, et al. Yield of xenodiagnosis and PCR in the evaluation of specific chemotherapy of Chagas' disease in children. *Bol Chil Parasitol* 1998; 53: 27-30.
- 17.- Cerisola J A, Neves da Silva N, Prata A, Schenone H, Rohwedder R. Evaluation of the efficacy of nifurtimox in chronic human chagasic infection by using xenodiagnosis. *Bol Chil Parasitol* 1977; 32: 51-62.
- 18.- La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Nota descriptiva N°340. Mayo de 2010. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/index.html>
- 19.- Clayton J. Chagas disease: pushing through the pipeline. *Nature* N° 465. Published online 23 June 2010. Disponible en: http://www.nature.com/nature/journal/v465/n7301_suppl/full/nature09224.html.
- 20.- Castro C, Macedo V, Prata A. The behavior of *Trypanosoma cruzi* parasitemia in chronic chagasics over 13 years. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; 32: 157-65.
- 21.- Reyes P A, Vallejo M. Trypanocidal drugs for late stage, symptomatic Chagas disease (*Trypanosoma cruzi* infection). *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (4):CD004102.
- 22.- Villar J C, Marin-Neto J A, Ebrahim S, Yusuf S. Trypanocidal drugs for chronic asymptomatic *Trypanosoma cruzi* infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; (1): CD003463.
- 23.- Jannin J, Villa L. An overview of Chagas disease treatment. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007; 102 Suppl 1: 95-7.