

## Estudio clínico y determinación de la parasitemia en un grupo de pacientes infectados por *Trypanosoma cruzi* de la región de Atacama, Chile

Mauricio Carrasco V<sup>1</sup>, Winston Andrade L<sup>2</sup>,  
María Isabel Jercic L<sup>2</sup>, Jorge Fernández O<sup>2</sup>,  
Claudio Miranda C<sup>2</sup>, Juan Rivera Q<sup>1</sup>, Jorge González V<sup>3</sup>,  
Luis González A<sup>4</sup>, Eugenio Ramírez V<sup>2</sup>.

### *Clinical assessment of subjects infected with Trypanosoma cruzi*

**Background:** *Trypanosoma cruzi* infection is endemic in Northern/Central Chile. **Aim:** To perform a clinical assessment of patients infected with *Trypanosoma cruzi*. **Patients and methods:** Two hundred sixty three subjects with a positive serology for *Trypanosoma cruzi*, were invited by mail to a clinical assessment in a Regional Hospital. In a subsample of these, a polymerase chain reaction for *Trypanosoma cruzi*, was done. **Results:** Of all the invited subjects, 183 responded and were assessed at the hospital. Of these, 60 had cardiac affections, 52 had colon problems and 17, esophageal disease. Seventy four were asymptomatic. Of the 64 patients in whom polymerase chain reaction was done, 35 had a positive result. **Conclusions:** A high percentage of subjects infected with *Trypanosoma cruzi*, had clinical consequences of the infection. Polymerase chain reaction showed persistency of the parasite in more than half of the infected patients (Rev Méd Chile 2003; 131: 881-6).

**(Key Words:** Cardiomyopathy, congestive; Polymerase chain reaction; *Trypanosoma cruzi*)

Recibido el 3 de diciembre, 2002. Aceptado en versión corregida el 10 de junio, 2003.  
Hospital Regional de Copiapó<sup>1</sup>. Laboratorio Nacional y de Referencia de Parasitología y Unidad de Desarrollo, Instituto de Salud Pública, Santiago<sup>2</sup>. Departamento de Medio Ambiente, Provincia del Huasco, Servicio de Salud Atacama<sup>3</sup> y Epidemiología Servicio Salud Occidente, Santiago, Chile<sup>4</sup>.

La infección por *Trypanosoma cruzi*, en Chile, es endémica desde la I a la VI región<sup>1,2</sup>, área en que existe la presencia del *Triatoma infestans*, el principal transmisor de la enfermedad de Chagas en Chile. También es posible encontrar portadores en áreas no endémicas; por la migración inter-regional y transmisión transplacentaria de la infec-

ción parasitaria. Por lo tanto, la situación respecto al vector, no es la misma que respecto a la portación del parásito, ya que en lugares geográficos donde no hay vector, puede haber enfermedad, tal como sucede en Estados Unidos<sup>3,4</sup>.

En 1984 el Servicio de Salud Atacama (SSA) inició el programa de control del vector, mediante la aplicación sistemática de insecticidas, en las viviendas de las áreas endémicas; seguido de vigilancia entomológica y de educación a la comunidad. Ello ha significado una gran reducción de los focos de

Correspondencia a: Dr. Mauricio Carrasco V. Servicio de Medicina Interna, Hospital Regional de Copiapó. Fax: 56 52 212309. E mail: mcarrasco@hospitalcopiapo.cl

infestación del vector en las viviendas y, como consecuencia, se ha logrado certificar la interrupción de la transmisión vectorial de la enfermedad. Para evaluar el impacto del programa, en 1996 se efectuó un estudio serológico a 1.555 niños de 0 a 10 años de las áreas endémicas de Atacama, encontrándose que la seropositividad de este grupo etario se redujo de 9,8% en 1982 a 1% en 1996<sup>5,6</sup>. En 1999 se efectuó un estudio de 726 niños de 0 a 5 años, no encontrándose ninguno seropositivo por transmisión vectorial y tres casos infectados congénitamente<sup>7</sup>. Resultados similares se han descrito en estudios serológicos realizados con pacientes de otras regiones endémicas chilenas. Como resultado de lo anterior, la Organización Panamericana de la Salud reconoció a Chile en 1999 como un país que ha interrumpido la transmisión vectorial<sup>7</sup>.

Por otra parte, encuestas serológicas en donantes de sangre del Hospital de Copiapó muestran también una disminución de la portación desde 6,5% en el año 1983 hasta 2,4% en 1999; respecto de la pregunta: ¿qué pasa con la población expuesta por años al vector y a las otras formas de contagio que aún persisten? Sabemos que estudios chilenos sobre población chagásica, que determinan la condición de afección orgánica de portador asintomático y mortalidad son escasos, antiguos y parciales. En ellos se analizan: presencia o no de cardiopatía, basados principalmente en el electrocardiograma<sup>9,10</sup> y algunos se preocupan sólo de las complicaciones digestivas proponiendo 28,7% de megacolon en la población chagásica<sup>11</sup>. Los estudios existentes no brindan información sobre la presencia de estreñimiento sin megacolon o sintomatología esofágica v gr, asociación de disfagia y dolor torácico; sin acalasia radiológica, condiciones posibles en el espectro clínico del Chagas<sup>12-14</sup>.

Actualmente es posible determinar la presencia de parasitemia a través del xenodiagnóstico en la fase crónica de la enfermedad<sup>15,16</sup>. Sin embargo, esta metodología parece ser menos sensible que los métodos basados en técnicas de biología molecular, por ejemplo PCR, para determinar parasitemia<sup>17,18</sup>. En este estudio, se planteó como objetivos describir la distribución de los distintos tipos de compromiso orgánico y mortalidad en un grupo chagásico de la región de Atacama y evaluar la presencia de parasitemia en pacientes adultos en fase indeterminada o avanzada, mediante reacción de PCR, evaluando su posible relación con la condición clínica de los individuos infectados.

## MATERIAL Y MÉTODO

*Pacientes.* Desde enero de 1998 a junio de 2001, se pesquisaron 263 individuos con serología positiva para *Trypanosoma cruzi*. Estos pacientes seropositivos provenían del universo de sujetos a los que habitualmente se les realiza este examen: donantes de sangre o pacientes con sospecha clínica de la enfermedad o que pertenecen a un grupo familiar de un paciente chagásico o por provenir de sectores de alta endemia. Las personas así pesquisadas, fueron citadas por correspondencia, a un policlínico específico, en el Consultorio Adosado de Especialidades, en el Hospital Regional de Copiapó.

*Estudio clínico.* A cada individuo se le realizó una entrevista médica, un cuestionario sobre síntomas y datos biográficos, más un electrocardiograma (ECG) de reposo. A los pacientes con electrocardiograma normal y sin síntomas o signos, tales como: estreñimiento, disfagia, dolor torácico, disnea, edema, palpitaciones, o mareos, no se les realizó otro procedimiento diagnóstico. A su vez, a los pacientes que presentaban síntomas o alteración en el ECG se les realizaron de acuerdo a ello: enema baritada, tránsito esofágico, endoscopia digestiva alta o baja, radiografía (Rx) de tórax, Holter de ECG o ecocardiografía. Definiéndose así la condición clínica de los pacientes y separándose los siguientes subgrupos:

a. Ausente: persona con serología positiva confirmada para la infección por *T cruzi*, que no se presentó al control médico. b. Asintomático: Paciente que no refirió sintomatología durante la entrevista, con examen médico y electrocardiograma normal. c. Cardiópata: Trastornos del sistema exitoconductor, arritmias o insuficiencia cardíaca. d. Con afección de colón: estreñimiento con enema baritada normal o megacolon. e. Con afección de esófago: paciente con disfagia y dolor torácico, aunque endoscopia y Rx de esófago fueran normales o con acalasia demostrada por radiología.

Se obtuvo el número de fallecidos del grupo en estudio a través de la búsqueda por RUT, desde base de datos de certificados de defunción del SSA y el seguimiento de los pacientes bajo control.

*Exámenes parasitológicos.* Los exámenes serológicos fueron realizados en el Banco de Sangre del Hospital de Copiapó y confirmados por IFI en la sección parasitología del Instituto de Salud Pública (ISP).

Por razones de disponibilidad, sólo a 64 pacientes se les realizó reacción en cadena de polimerasa para *T cruzi* en el ISP, siguiendo para la extracción del DNA el método de Kirchoff<sup>19</sup>. Este método consiste en mezclar 1,0 ml de sangre periférica del paciente con 4 ml de buffer GEB (Isotiacianato de Guanidina 4 M, EDTA 0,2 M, Tritón X-100 1%). Se agrega 3 volúmenes de agua desionizada, 0,1 vol de MgCl<sub>2</sub> 1 M, 0,1 vol de CuSO<sub>4</sub> 200 mM, 0,1 vol de 1,10-Fenantrolina 20 mM, 0,1 vol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 7,5%. La reacción de digestión del DNA se realiza con 0,1 vol de ácido 3-Mercaptopropiónico, incubando por 90 min a 37°. La digestión se detiene con 0,1 vol de 2,9-Dimetil-1,10-Fenantrolina. Inmediatamente después de la digestión, cada muestra se extrae con 1/6 de vol de fenol:cloroformo:isoamilico. Luego, el DNA se precipita con acetato de sodio 3 M y etanol frío. El precipitado de DNA es resuspendido en 500 ml de agua desionizada.

Posteriormente se amplifica una región del gen de la proteína flagelar de 24 kDa que une calcio (TCFCABP) mediante un PCR anillado, de acuerdo a procedimientos previamente descritos<sup>20</sup>. Para el primer PCR se usan los partidores T3 (5'-AGA TGG GTG CTT GTG GGT CGA A-3') y T4 (5'-GGA CAC GGT GTT TAC ATT GGC GA-3'). Para el segundo PCR se emplean los partidores T1 (5'-GAC GGC AAG AAC GCC AAG GAC-3') y T2 (5'-TCA CGC GCT CTC CGG CAC GTT GTC-3'). El producto de la amplificación, un fragmento de 516 pares de bases, es detectado por electroforesis en gel de agarosa al 2%, teñido con bromuro de etidio.

### RESULTADOS

De un total grupal de 263 sujetos seropositivos, pesquizados entre enero de 1998 y junio de 2001, 80 sujetos no acudieron a la citación y 183 fueron evaluados y clasificados clínicamente en diferentes subgrupos, según lo establecido en material y método (Tabla 1). De los 183 pacientes estudiados, 74 (40,4%) eran asintomáticos (promedio de edad 40,57±10,59 años). Su distribución por sexo correspondió a 46 hombres y 28 mujeres; correspondiendo 49 de ellos a donantes de sangre. De los 109 (59,6%) sintomáticos sólo 31 fueron pesquizados al donar sangre.

De los 109 pacientes sintomáticos, 60 tenían algún tipo de compromiso cardíaco, cuyas alteraciones se distribuyeron en: 32 sujetos con alteraciones eléctricas, tanto en forma exclusiva como asociada a otro

compromiso orgánico, 19 individuos con miocardiopatías (2 asociadas a colopatías y 17 como único compromiso), 9 sujetos con marcapaso definitivo, 7 con compromiso único y 2 asociados a megacolon. El compromiso colónico estuvo dado por 21 casos con megacolon y 31 estreñidos sin megacolon (edades promedios 65,6±11,26 y 49,9±15,5 años, respectivamente). El compromiso esofágico, la menor de las formas clínicas, se distribuyó en 3 acalasia y en 14 asociación de los síntomas disfagia y dolor torácico sin acalasia radiológica.

Dentro de los enfermos, hubo compromiso de dos órganos diferentes en 20 sujetos: 14 colon/corazón, 5 colon/esófago y 1 esófago/corazón. En 8 pacientes cardiopatas, se comprobó coexistencia de arritmias, trastornos de conducción o insuficiencia cardíaca. La asociación más frecuente fue megacolon con bloqueo de rama derecha (6 pacientes), megacolon con marcapaso (2 pacientes) y megacolon con insuficiencia cardíaca (1 paciente).

La distribución por edad, se expone en la Tabla 2. Para agrupar por edad en el caso de alteraciones

**Tabla 1. Distribución de los pacientes estudiados según sexo y compromiso orgánico**

Compromiso orgánico	Femenino	Masculino	Total de pacientes	
			Nº	%
Asintomáticos	28	46	74	40,4
Corazón	17	28	45	24,5
Colon	19	14	33	18
Esófago	6	5	11	6
Dos órganos	7	13	20	11
Total	77	106	183	100

**Tabla 2. Promedio de edad según la condición clínica en pacientes infectados con *T cruzi***

Clasificación	Promedio edad (años)	P V/S asintomático
Asintomático	40,6±10,6	
Megacolon	65,6±15,5	<0,05
Estreñimiento	49,9±15,5	<0,05
Acalasia	56,6±16,9	<0,05
Disfagia/dolor Tx	46,1±9	>0,05
Insuficiencia cardíaca	68,4±12,9	<0,05
Marcapaso	54,1±8,6	<0,05
Alteraciones ECG	53,4±19,1	<0,05

eléctricas, se consideró sólo aquellos casos en que éste era su único compromiso, cuando se presentaba asociada a colopatía, esofagopatía o insuficiencia cardíaca, se consideró la edad del paciente dentro de estos últimos diagnósticos. La significación estadística, se analizó para cada grupo, aplicando la t de student *versus* el grupo asintomático.

A 64 pacientes, del total de 183, se les realizó reacción en cadena de polimerasa para *T cruzi*, obteniéndose un resultado positivo en 35 (54,7%) (Tabla 3). La Tabla 4 muestra la distribución de la parasitemia detectada mediante PCR, separando a los pacientes en asintomáticos y enfermos.

Al analizar la Tabla 4 mediante el ji cuadrado, como una tabla de contingencia de 2 x 2, se obtuvo una significación para el PCR; como marcador de mayor probabilidad de afección orgánica, en un individuo portador de *T cruzi*.

Respecto a las causas de muerte del grupo en estudio desde enero de 1998 a junio de 2001, se clasificó en tres grupos: causa directa por patología chagásica, causa indirecta y no relacionada con la enfermedad (Tabla 5). Las causas directas fueron: dos fallecimientos por insuficiencia cardíaca y uno por arritmia ventricular. Las causas indirectas fueron: un paciente, con trombosis cerebral y megacolon complicado con fecaloma; un paciente con cardiopatía chagásica tratado con amiodarona durante 8 años, que falleció por insuficiencia hepática. Las causas no relacionadas fueron: tres casos de neumonías, tres pacientes con cáncer de vejiga urinaria, dos casos de insuficiencia renal crónica y un paciente con cáncer de origen no precisado.

DISCUSIÓN

Este estudio que investiga globalmente el compromiso orgánico en un grupo de pacientes chagásicos

**Tabla 3. Distribución de 64 pacientes chagásicos según manifestación clínica y resultados de la Reacción en Cadena de Polimerasas para *T cruzi***

Compromiso orgánico	PCR		Total
	Positivo	Negativo	
Asintomático	10	16	26
Colon	8	4	12
Esófago	3	3	6
Corazón	8	4	12
Dos órganos	7	3	10
Total	35 (54,7%)	29 (45,3%)	64

**Tabla 4. Distribución de 64 pacientes estudiados según condición clínica y resultado de PCR para *T cruzi***

Resultado PCR	Asintomático	Sintomático	Total
Positivo	10 (28,6%)	25 (71,4%)	35
Negativo	16 (55,2%)	13 (44,8%)	29
Total	26	38	64

Ji cuadrado estándar: valor ji 4,65 y p= 0,03.

señala 59,6% de sintomáticos, en la población de individuos infectados. Este resultado es mayor de 25% a 30%, descrito previamente por otros autores<sup>11,21,22</sup>. Si se analiza el grupo con patologías más graves como megacolon, miocardiopatía y acalasia se obtiene 28,4% de sujetos afectados por alguna de estas complicaciones, lo cual concuerda con estudios anteriores.

Publicaciones previas señalan 28,7% de megacolon en un grupo de pacientes chagásicos<sup>11</sup>. Nosotros encontramos 40,3% de megacolon en un grupo de

**Tabla 5. Distribución de pacientes chagásicos fallecidos según causa de muerte, edad y sexo**

Categoría	Causa directa		Causa indirecta	No relacionada		Total
Fallecidos	3		2	9		14
Sexo	2 M	1 F	2 M	5 M	4 F	9 M 72,8±10
Edad (años)	73/86	80	81/52	81/73/77/70/63	80/60/72/70	5 F 72,4±8,3

M: masculino. F: femenino

sujetos afectados de la misma enfermedad, pero con estreñimiento. Parece sugerente, desde el punto de vista costo-beneficio, realizar enema baritada, más bien, a los pacientes estreñidos que a todos los portadores de *T. cruzi*. En coincidencia con otros autores<sup>13</sup>, podemos afirmar que no todos los sujetos chagásicos estreñidos tienen megacolon.

Respecto a los pacientes con cardiopatía, reportes clásicos informan 23,8% de prevalencia en un grupo chagásico estudiado, sólo con clínica y ECG<sup>22</sup>. En nuestro análisis se estableció que 33,7% tenían compromiso cardíaco exclusivo o asociado. Quizás, el empleo de mayor número de procedimientos diagnósticos, explicaría las diferencias entre ambos resultados.

La distribución clínica fue 33,7% de cardiopatías, 28,4% de colopatías y 9,3% de esofagopatías, confirmando el compromiso miocárdico como el más frecuente, tal como se ha descrito previamente<sup>10,23</sup>.

Por otra parte, la edad significativamente mayor de los enfermos respecto de los pacientes asintomáticos, confirma la importancia del tiempo en la expresión clínica de la enfermedad. Por ello es factible proyectar que continuarán apareciendo nuevos enfermos chagásicos en Chile, dentro de la población portadora, a pesar de la erradicación del vector.

La determinación de la parasitemia por PCR mostró resultados positivos en 54,6% de los casos estudiados (64 pacientes). Estos valores son muy similares a los publicados internacionalmente, cercanos a 59,4%<sup>18</sup>. Mediante el uso de PCR se detectó parasitemia en 38,4% y 65,7% de los pacientes asintomáticos (en fase indeterminada de la enfermedad) y enfermos (en etapas avanzadas de infección), respectivamente. Estos resultados muestran la persistencia del parásito, después de décadas del contagio. Además, nuestros resultados sugieren que la detección de la parasitemia, mediante PCR, podría emplearse como un marcador de mayor probabilidad de afección orgánica, en un individuo portador de *T. cruzi*. Esta situación no ha sido reportada previamente en la

literatura y debería ser confirmada en posteriores investigaciones sobre el tema.

La mortalidad total en el grupo, al cabo de 42 meses de seguimiento, fue 5,3% (9 hombres y 5 mujeres) con edades promedio de 72,8 y 72,4 años, respectivamente. La mortalidad relacionada directa o indirectamente a la Enfermedad de Chagas fue 1,9%. Finalmente llamó la atención el número de fallecidos por cáncer vesical, situación que se estudiará en trabajos futuros.

El número de sujetos afectados clínicamente por la infección con *T. cruzi* fue elevado. Esta es una población demandante de atención médica, tanto de consulta como de procedimientos diagnósticos (ECG, radiografías, ecocardiografía, Holter de ECG, manometría digestiva, endoscopia digestiva) y terapéuticos (instalación de marcapasos, cirugías digestivas complejas, medicación crónica sintomática según afección de la enfermedad). Todo esto es agravado por la sensación de abandono de los pacientes frente a la falta de tratamiento específico contra la enfermedad, estigmatizada como incurable. Esto a pesar de estudios que muestran un grado de efectividad en la fase crónica, ya sea, con nifurtimox (actualmente discontinuado), benznidazol (no disponible en Chile) o itraconazol<sup>24-26</sup>. Esta precaria situación para los pacientes plantea la necesaria innovación y búsqueda de recursos para el abordaje terapéutico de las complicaciones más graves de esta infección. La creación de policlínicos específicos, permite concentrar estos pacientes, tratar sus complicaciones e intervenir precozmente en la indicación de marcapasos o cirugías digestivas, antes de una situación de emergencia. Por otra parte, la evaluación y empleo de nuevos métodos como el PCR para apoyar el seguimiento clínico de estos pacientes y controlar respuestas a terapias parasiticidas, ya usado en enfermedad de Chagas infantil<sup>17</sup>, puede constituir una herramienta eficaz para mejorar la calidad de vida de los enfermos crónicos infectados con *T. cruzi*.

#### REFERENCIAS

1. SCHENONE H, VILLARROEL F, ALFARO E. Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en Chile, condiciones de la vivienda relacionadas con la presencia de *Triatoma infestans* y la proporción de humanos y animales infectados con *Trypanosoma cruzi*. *Bol Chil Parasitol* 1978; 33: 2-7.
2. RODRÍGUEZ J, BERTOGLIA J, GORDILLO N, MENDOZA J, ROJAS J, CONTRERAS M ET AL. Infestación triatomídea domiciliar e infección por *Trypanosoma cruzi* en la III Región de Atacama, Chile. *Bol Chil Parasitol* 1982; 37: 29-30.
3. GRANT I, GOLD J, WITTNER M, TANOWITZ H, NATHAN C,

- MAYER K ET AL. Transfusion associated acute Chagas disease acquired in the United States. *Ann Intern Med* 1989; 111: 849-51.
4. HERWALDT B, GRIJALVA M, NEWSOME A, MCGHEE C, POWELL M, NEMEC D ET AL. Use of polymerase chain reaction to diagnose the fifth reported US case of autochthonous transmission of *Trypanosoma cruzi*, in Tennessee, 1998. *J Infect Dis* 2000; 181: 395-9.
  5. SCHENONE H, CONTRERAS M DEL C, SALINAS P, SANDOVAL L, ROJAS A, VILLARROEL F. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en Chile. Frecuencia de la enfermedad de Chagas en Chile. Frecuencia de infección humana por *Trypanosoma cruzi* por grupos de edad y por regiones. *Bol Chil Parasitol* 1995; 50: 84-9.
  6. GONZÁLEZ J, CONTRERAS M, SCHENONE H, ADAOS H, CABEZAS R. Enfermedad de Chagas: impacto del programa de control del *Triatoma Infestans* en la comuna del Alto del Carmen, provincia de Huasco, III región Atacama, Chile. *Bol Chil Parasitol* 1996; 51: 28-30.
  7. LORCA M, GARCÍA A, BAHAMONDE M, FRITZ A, TASSARA R. Certificación serológica de la interrupción de la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas en Chile. *Rev Méd Chile* 2001; 129: 264-9.
  8. ROJAS R, CONTRERAS M, ROJAS J, MENDOZA J, SANDOVAL L, AMIGO C ET AL. Enfermedad de Chagas en Chile. Sectores urbanos. Prevalencia de la infección chagásica en donadores de sangre del Hospital de Copiapó, III Región, Chile. *Bol Chil Parasitol* 1983; 38: 26-8.
  9. ARRIBADA A, APT W, ARRIBADA A, UGARTE J, SANDOVAL J. Cardiopatía chagásica en la provincia de Chañaral. *Rev Méd Chile* 1980; 108: 1118-24.
  10. ARRIBADA A. Cardiopatía chagásica: Historia natural. Enfermedades Parasitarias. *Series Clínicas*, Sociedad Médica de Santiago 1988, VII: 83-96.
  11. CALDERÓN C, ALDANA M. Estudio del colon en 150 pacientes con enfermedad de Chagas. *Parasitol al día* 1985, 9: 79-80.
  12. DANTAS R, DEGHAIDE N, DONADI E. Esophageal manometric and radiologic findings in asymptomatic subjects with Chagas' disease. *J Clin Gastroenterol* 1999; 28: 245-8.
  13. SANTOS L, BARCELOS I, MESQUITA M. Total and segmental colonic transit time in constipated patients with Chagas' disease without megacolon. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33: 43-9.
  14. DE OLIVEIRA R, REZENDE FILHO J, DANTAS R, IAZIGI N. The spectrum of esophageal motor disorders in Chagas' disease. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 1119-24.
  15. 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.
  16. ARRIBADA A, APT W, AGUILERA X, SOLARI A, ARRIBADA M, SANDOVAL J. Cardiopatía chagásica en la primera región de Chile. Estudio clínico, epidemiológico y parasitológico. *Rev Méd Chile* 1990; 118: 846-54.
  17. SOLARI A, CONTRERAS M, LORCA M, GARCÍA A, SALINAS P, ORTIZ S ET AL. Utilidad del xenodiagnóstico y PCR en la evaluación de quimioterapia específica para enfermedad de Chagas en niños. *Bol Chil Parasitol* 1998; 53: 27-30.
  18. JUNQUEIRA A, CHIARI E, WINCKER P. Comparison of the polymerase chain reaction two classical parasitological methods for the diagnosis of Chagas disease in an endemic region of north-eastern Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996; 90: 129-32.
  19. KIRCHHOFF L, VOTARA J, OCHS D, MOSER D. Comparison of PCR and microscopic methods for detecting *T cruzi*. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1171-75.
  20. GODSEL L, TIBBETTS R, OLSON C, CHANDIOR B, ENGMAN D. Utility of recombinant flagellar calcium-binding protein for serodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2082-5.
  21. ACUÑA M, ROTHAMER F, MORENO R, BARTON S, ARRIBADA A, APT W ET AL. Evidencias genéticas corroboran la hipótesis de Neghme sobre la mayor benignidad de la Tripanosomiasis americana en Chile. *Rev Méd Chile* 1992; 120: 233-8.
  21. ARRIBADA A, APT W, UGARTE J, ARRIBADA A, SANDOVAL J. Epidemiología de la cardiopatía chagásica en Chile. *Rev Méd Chile* 1981; 109: 1199-207.
  23. ATIAS A. Enfermedad de Chagas digestiva en Chile, experiencia de 20 años. *Bol Hosp S J de Dios* 1980; 27: 251-7.
  24. OPS/HCP/HCT/140/99. Tratamiento etiológico de la Enfermedad de Chagas. Fundación Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Brasil 23-25 abril, 1998.
  25. FERREIRA H. Tratamento da forma indeterminada da doença de Chagas com nifurtimox e benznidazol. *Rev Soc Bras Med Trop* 1990; 23: 209.
  26. APT W, AGUILERA X, ARRIBADA A, PÉREZ C, MIRANDA C, SÁNCHEZ G ET AL. Treatment of chronic Chagas' disease with itraconazole and allopurinol. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59: 133-8.