

Aneurisma cardíaco apical en paciente chagásico agudo de avanzada edad. Reporte de un caso

Apical cardiac aneurism in acute chagasic aged patient. A case report

Néstor Añez^{1*}, Gladys Crisante¹, Henry Parada² & Francisco Sanchez³

RESUMEN

Se presenta el caso de un paciente de la tercera edad mostrando cuadro agudo sintomático con complicaciones cardíacas evidenciadas por detección de fibrilación auricular, miopericarditis, derrame pericárdico moderado, sin signos de taponamiento cardíaco, fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) < 30% y aneurisma, detectados mediante estudios electro y eco cardiográficos, respectivamente. El despistaje parasitológico reveló la presencia de *Trypanosoma cruzi* en muestra de sangre circulante y líquido pericárdico, con hemocultivo positivo y detección de ADN específico del parásito por ensayos de PCR. Asimismo, la presencia de altos niveles de anticuerpos circulantes anti-*T. cruzi* detectados con dos pruebas serológicas (TAD, IFI) y la observación de altos niveles IgM, corroboran el diagnóstico de un cuadro de enfermedad de Chagas en fase aguda de la infección. Además, la procedencia del paciente de una localidad andina del occidente de Venezuela, donde la enfermedad de Chagas es endémica, unido al hallazgo de ejemplares adultos de triatomíneos en la vivienda del paciente confirman el diagnóstico. Se discute la significación del presente hallazgo y se detallan las observaciones durante la re-evaluación en el seguimiento post tratamiento.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, Aneurisma cardíaco, Paciente avanzada edad.

INTRODUCCIÓN

El aneurisma cardíaco apical en la enfermedad de Chagas es una anormalidad peculiar observada con relativa frecuencia en el ápice del ventrículo izquierdo (VI) de pacientes chagásicos crónicos, lo cual podría contribuir a agravar la evolución clínica tornándose en amenaza de muerte súbita (Nogueira *et al.*, 1995). Esta lesión, observada por primera vez en autopsias de pacientes que habían

SUMMARY

A Clinical case from an aged patient with evidence of suffering heart failure showing arrhythmia, atrial fibrillation and pericarditis, pericardial effusion and left ventricle aneurism detected by electrocardiogram and echocardiogram respectively, is reported. Parasitological examination revealed presence of *Trypanosoma cruzi* in blood and pericardial fluid samples. In addition, hemoculture was positive and PCR assay revealed specific *T. cruzi* DNA. Serological techniques (DAT, IFAT) showed anti-*T. cruzi* circulating antibodies, including high level IgM. The sero-parasitological and molecular (PCR) findings confirmed the presumptive clinical diagnosis for Chagas disease acute infection. The significance of the present findings is discussed and clinical details observed during re-evaluation post-treatment, are included.

Palabras clave: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, Cardiac aneurism, Aged patient.

sufrido enfermedad de Chagas, fue posteriormente constatada por algunos autores en el 50% de necropsias realizadas en chagásicos, resultando más del 80% detectadas en VI (Oliveira *et al.*, 1981). Por otra parte, el uso de la ecocardiografía bidimensional como método no invasivo para la identificación de aneurisma en VI ha permitido su detección en individuos con infección inaparente por *Trypanosoma cruzi* con una sensibilidad sobre el 80% (Acquatella *et al.*, 1980, 2007; Lopes *et al.*, 1986; Ortiz *et al.*,

¹ Investigaciones Parasitológicas "J.F.Torrealba", Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, 5101, Venezuela.

² Unidad de Cardiología, Hospital General "Luis Razetti", MPPS, Barinas, Venezuela.

³ Instituto de Cardiología, Hospital Universitario de Los Andes, Mérida, 5101, Venezuela

*Autor de correspondencia: nanes@ula.ve

1987). En relación con la patogénesis del aneurisma cardíaco apical no existe acuerdo sobre las causas que ocasionan esta peculiar lesión del VI en enfermos chagásicos, habiéndose formulado varias hipótesis para explicar su aparición. Estas incluyen, entre otras, desbalance autonómico, factores mecánicos (presión sistólica), disturbios de conducción y la presencia de miocarditis. En este sentido, algunos autores implican la conjunción de miocarditis aguda o crónica con la presión sistólica como responsables del afinamiento del ápice a consecuencia del efecto inflamatorio sobre las capas internas del vórtice, lo cual produce desarreglo de la arquitectura y la progresiva separación de las fibras musculares sometidas a la presión intraventricular (Oliveira, 1985). Considerando el efecto de la miocarditis sobre la aparición del aneurisma apical, existe consenso sobre su detección en todas las fases de la enfermedad de Chagas y su presencia pareciera ser independiente de la edad del paciente, tamaño del corazón, función cardíaca global, anormalidades electro-cardiográficas o desbalance autonómico (Dávila *et al.*, 1992; Carrasco *et al.*, 1982). Asimismo, pareciera que la aparición de la lesión apical está ligada al proceso agudo de la infección chagásica considerando que el aneurisma del VI se evidencia en pacientes que han sobrevivido la fase aguda.

En el presente trabajo se registra un caso de infección aguda por *Trypanosoma cruzi* comprobado clínica, sero-parasitológica y molecularmente (PCR), con complicación cardíaca, detectado en un paciente de la tercera edad, sin antecedentes patológicos previos, proveniente de una localidad del piedemonte andino al occidente de Venezuela, donde la enfermedad de Chagas es endémica.

Descripción del caso y hallazgos clínicos

En la emergencia del Hospital Universitario de Los Andes (IHULA-Mérida), se presentó un caso correspondiente a un paciente masculino de 79 años, con síndrome febril prolongado, procedente de la localidad rural Caño Guayabo Bajo, Parroquia La Azulita, Municipio Andrés Bello, Mérida, Venezuela. El caserío se encuentra ubicado a 861m.s.n.m, con predominio de temperatura media anual de 25°C, humedad relativa >75%, localizado a 8° 49'35"N y 71° 27'48"O. Clínicamente, el paciente refiere malestar durante 21 días previos a la consulta hospitalaria, caracterizado por escalofríos, mialgia,

artralgia, cefalea, fiebre persistente, edema en miembros inferiores y manifiesto edema bpalpebral izquierdo. Referido a la Unidad de Coronarios del Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes (IHULA), el examen electro-cardiográfico (EKG) reveló taquicardia, QRS estrecho, RR irregular, onda P no visible, sugiriendo fibrilación auricular con respuesta ventricular rápida (FARVR). Asimismo, con la eco-cardiografía transtorácica (ECOTT) fue detectado un cuadro de miopericarditis, con derrame pericárdico moderado, sin signos de taponamiento cardíaco, fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) de 25-30% y aneurisma apical.

Debido al cuadro clínico el paciente fue llevado al laboratorio de Hemodinámica de la misma institución, donde se practicó pericardiocentesis. El líquido pericárdico colectado y muestra de sangre periférica fueron enviados al Laboratorio Investigaciones Parasitológicas "J.F.Torrealba", Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, para realizar exámenes sero-parasitológicos y moleculares y establecer diagnóstico etiológico.

Procesamiento de las muestras y hallazgos sero-parasitológicos y moleculares

Muestras de sangre periférica y líquido pericárdico fueron procesadas para realizar técnicas diagnósticas parasitológicas, serológicas y moleculares (PCR) con la finalidad de detectar el sospechado agente etiológico causante del cuadro clínico descrito previamente. Para llevar a cabo el diagnóstico parasitológico, alícuotas de 5µL de sangre y fluido pericárdico fueron directamente colocadas en portaobjetos de vidrio y cubiertas con cubreobjetos de 22x22 mm para ser analizadas en microscopio Axioskop-Zeiss-Germany acoplado a cámara digital Moticam-480 en interfase con Laptop HP, con la finalidad de detectar presencia y actividad de flagelados. Detectada la presencia de flagelados activos en ambos fluidos, una muestra de volumen similar al anterior fue extendida en portaobjeto de vidrio, secada, fijada con metanol y coloreada con Giemsa 1:10 en buffer fosfato pH7.2 siendo luego observada microscópicamente para hacer la identificación morfológica de los flagelados presentes. Posterior a la detección microscópica de flagelados, muestras de 0,5mL de sangre y fluido pericárdico

fueron separadamente transferidas asépticamente a medio de cultivo NNN, observándose cada 5 días para registrar su crecimiento y masificación, siendo los flagelados colectados para estudios posteriores. Asimismo, alícuotas de 0.1mL de cada uno de los líquidos examinados fueron inoculadas intradérmicamente en ratones sanos NMRI con la finalidad de observar su capacidad infectiva para modelos vertebrados. Detalles de la metodología utilizada han sido dados en previas publicaciones (Añez *et al.*, 2013; 2015; 2016).

RESULTADOS

Hallazgos parasitológicos

La observación microscópica de las muestras estudiadas reveló la presencia de activos flagelados sugestivo de tripomastigotes circulantes en sangre periférica y formas similares en el fluido pericárdico. Las formas detectadas en ambas muestras coloreadas fueron identificadas morfológicamente como tripomastigotes de *T. cruzi* y se muestran en la Fig.1. El masivo crecimiento observado en el medio de cultivo reflejó la gran cantidad de formas infectantes presentes en sangre circulante del paciente, habiéndose detectado hasta $1,3 \times 10^6$ flagelados/ml en muestras del cultivo *in vitro*. Asimismo, todos los ratones inoculados presentaron parasitemia patente, habiendo sido sacrificados a los 15 días post-infección para estudios histopatológicos posteriores. Resumen de los hallazgos parasitológicos se muestran en Tabla I. Constatado el diagnóstico parasitológico, fue iniciado tratamiento específico para infección aguda de enfermedad de Chagas con Nifurtimox. Asimismo, debido a la disfunción sistólica y la fibrilación auricular detectada, fue prescrita una dosificación con beta bloqueante e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA).

Hallazgos serológicos

Orientados por las observaciones parasitológicas, el diagnóstico serológico fue realizado utilizando técnicas convencionales de rutina para la detección de anticuerpos circulantes anti-*T. cruzi* incluyendo el test de aglutinación directa (TAD) y la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Asimismo, las muestras de suero fueron también procesadas con la prueba de IFI para la detección de inmunoglobulinas (IgM, IgG) específicas anti-*T. cruzi*. Las condiciones, procedimientos y criterio diagnóstico de las pruebas utilizadas han sido descritas en previas publicaciones (Añez *et al.*, 2001; 2011; 2016). Los resultados serológicos obtenidos revelaron la presencia de anticuerpos circulantes anti-*T. cruzi*, coincidiendo ambas pruebas serológicas realizadas (TAD, IFI) en la detección de los mismos títulos cumpliéndose el criterio establecido para

Fig. 1. Tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi* detectados en líquido pericárdico (A) y torrente sanguíneo (B) de paciente chagásico agudo.

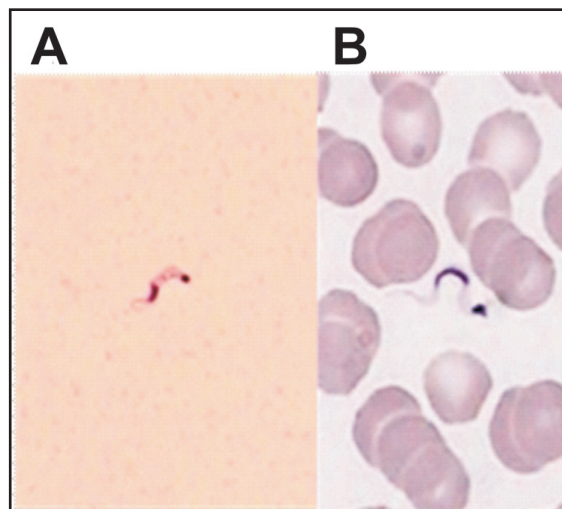
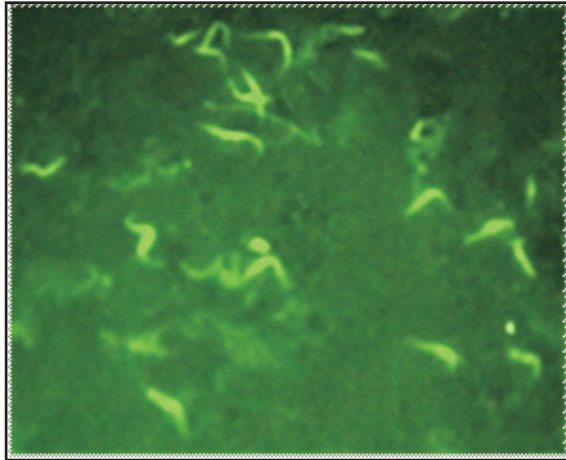


Tabla I. Hallazgos sero-parasitológicos, moleculares (PCR) y genotipaje de *Trypanosoma cruzi* en paciente chagásico agudo en Mérida, Venezuela.

Código	Edad (Años)	Sexo	Diagnóstico Serológico				Diagnóstico parasitológico				Ensayo PCR
			TAD	IFI (poly*)	IFI (IgM)	IFI (IgG)	Examen directo	HC	IAL	Sangre	Genotipo
A-7-15	79	M	1:1024	1:1024	1:256	1:256	+	+	+	+	DTU I

*: Polivalente anti-Ig (A, M, G); HC: Hemocultivo; IAL: Inoculación animales de laboratorio; DTU: Unidad discreta de tipaje.

Fig. 2. Seropositividad detectada utilizando la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en paciente en fase aguda de la enfermedad de Chagas.



considerar la muestra seropositiva. Asimismo, los niveles de inmunoglobulinas específicas anti-*T. cruzi* (IgM/IgG) detectadas por IFI también mostraron coincidencia, reflejando una infección aguda. Detalles sobre los valores serológicos detectados se muestran en la Tabla I y el resultado observado con la prueba de IFI se presenta en la Fig. 2.

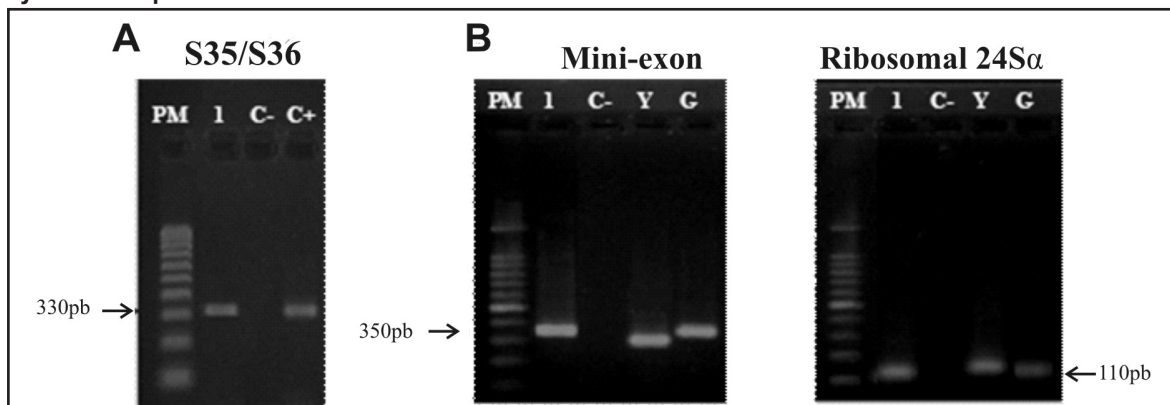
Hallazgos moleculares

Para corroborar la identificación morfológica de los flagelados observados en sangre circulante y fluido pericárdico del paciente, sendas muestras fueron utilizadas para realizar ensayos de PCR y demostrar la presencia de ADN de *T. cruzi*

usando para ello los primers S35 (5'-AAA TAA TGT ACG GGT GAG ATG CAT GA-3') y S36 (5'-GGG TTC GAT TGG GGT TGG TGT-3') siguiendo protocolo previamente establecido (Britto *et al.*, 1999). Asimismo, muestras de ADN de *T. cruzi* previamente identificadas fueron tipadas mediante amplificación usando los primers D71 (5'-AAG GTG CGT CGA CAG TGT GG-3') y D72 (5'-TTT TCA GAA TGG CCG AAC AGT-3') diseñados del dominio divergente del gen 24S α ARN y los primers TC (5'-CCC CCC TCC CAG GCC ACA CTG-3'), TC1 (5'-GTG TCC GCC ACC TCC TTC GGG CC-3') y TC2 (5'-CCT GCA GGC ACA CGT GTG TGT G-3') para amplificación de la región intergénica del gen del mini-exón siguiendo protocolo descrito por Souto *et al.* (1996). El ADN de las muestras de sangre y fluido pericárdico fue extraído utilizando el clásico método fenol-cloroformo y el producto de amplificación de PCR fue separado por electroforesis en gel de agarosa al 3% y coloreado con bromuro de ethidium como indicado previamente (Añez *et al.*, 2015).

El ensayo de PCR antes descrito permitió la detección de ADN específico de *T. cruzi* en las muestras de sangre del paciente cuyo caso se presenta, revelando amplificación de bandas de 330pb, la cual coincide con el ADN de *T. cruzi* utilizado como control. Asimismo, el tipaje genético del aislado obtenido reveló la presencia de DTU I de *T. cruzi* caracterizado por bandas de 110pb y 350pb detectadas luego de la amplificación de los genes ribosomal y del mini-exón, respectivamente. Muestras de los resultados de identificación y tipificación molecular obtenidos en las muestras de sangre se detallan en la Tabla I y Fig. 3.

Fig.3. A) Ensayo de PCR en muestra de sangre del caso registrado: Carril 1 ADN del paciente. C+: ADN control de *T. cruzi*. C-: Control interno de reacción. PM: Peso molecular. B) Tipaje del aislado de *T. cruzi* obtenido del paciente registrado. Nótese el producto de PCR en geles de agarosa al 3% generado de la amplificación de secuencias de los genes ribosomales y del mini-exón. G-Y ADN de referencia de DTU I y DTU II respectivamente.



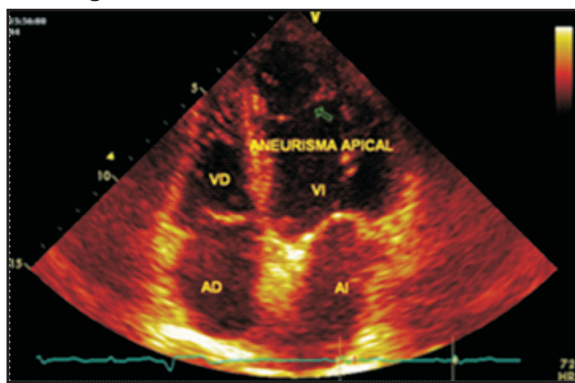
Re-evaluación clínica y sero-parasitológica del caso

Clinicamente el paciente fue cardiológicamente re-evaluado por ecocardiografía cuatro meses post infección primaria, revelando leve mejoría en lo que se refiere al aumento de la FEVI hasta 43% sin derrame pericárdico. La Fig.4 muestra el resultado de un ECO realizado durante la re-evaluación cardiológica. Asimismo, muestras para estudio de seguimiento sero-parasitológico fueron tomadas a los nueve meses de la infección aguda siguiendo técnicas antes descritas. En este caso no fue observado crecimiento de parásitos en los medios de cultivos utilizados durante la re-evaluación, indicando drástica disminución de la parasitemia y mejora en la condición física del paciente, quien a pesar de su edad fue reincorporándose a las tareas cotidianas propias del medio. Sin embargo, la re-evaluación serológica reveló altos títulos de anticuerpos anti-*T. cruzi* cuando pruebas para TAD (4096), IFI (128), IgM (128) e IgG (128) fueron realizadas, lo cual indica la instauración de una potente respuesta humoral observada por casi un año post-infección primaria, común en la mayoría de pacientes chagásicos de larga data.

Consideraciones éticas

El presente estudio fue realizado respetando las Normas de la Comisión de Ética del Hospital Universitario de Los Andes, Mérida, Venezuela, con conocimiento de la Unidad de Cardiología. Asimismo, los estudios de re-evaluación fueron llevados a cabo por autorización por escrito incluyendo un consentimiento previa información (CPI) obtenido del paciente y/o personas involucradas antes de la toma de muestras y la realización de los estudios aquí reportados.

Fig. 4. Ecocardiograma en re-evaluación de paciente de la tercera edad con aneurisma apical (flecha) detectado en fase aguda de la enfermedad de Chagas



DISCUSION

El presente caso corresponde a un paciente inequívocamente chagásico en fase aguda, diagnosticado por: i) la detección de tripomastigotes de *T. cruzi* circulando en sangre periférica y líquido pericárdico. ii) la presencia en suero sanguíneo de altos niveles de anticuerpos específicos anti-*T. cruzi*, incluyendo títulos de IgM (256) y iii) la observación de ADN de *T. cruzi* en muestras de sangre, cuando fueron utilizadas técnicas parasitológicas, serológicas y moleculares (PCR) respectivamente. La descripción de la sintomatología clínica revelada en el paciente se ajusta al diagnóstico de laboratorio y pareciera corresponder a una infección por *T. cruzi* transmitida por vía vectorial tomando en consideración, además de los signos y síntomas generales observados, la presencia de edema bpalpebral característico en la fase aguda de la enfermedad de Chagas ocurrida por esta vía, circunstancia que pudiera reafirmarse por la presencia de triatominos (*Panstrongylus geniculatus*) en el domicilio del paciente. Sin embargo, uno de los aspectos más relevantes en el presente caso fue la detección de importantes fallas cardíacas, incluyendo un cuadro de miopericarditis con derrame pericárdico moderado, revelándose una fracción de eyección inicial del ventrículo izquierdo (FEVI) menor de 30% y manifiesto aneurisma apical en VI, cuando se examinó con ecocardiografía transtorácica (ECOTT), lo cual podría interpretarse como variables de mal pronóstico. Los presentes hallazgos coinciden con previas observaciones ecocardiográficas realizadas por nuestro equipo en una serie de 58 pacientes con enfermedad de Chagas aguda con edades promedio de 18 ± 13 años (rango 1-51 años) en la que la anormalidad más relevante resultó la presencia de derrame pericárdico en el 42% de los individuos estudiados, quienes además mostraron FEVI anormal ($<30\%$) en el 37% y discinesia apical o anterior presente en 21% (Parada *et al.*, 1997; Añez *et al.*, 1999). Sin embargo, lo que pareciera de interés en el caso registrado es la detección de estas anormalidades o daños cardiacos en un paciente de la tercera edad (79 años) con un cuadro agudo de enfermedad de Chagas quien ha sobrevivido un año de seguimiento post-tratamiento, actualmente en ritmo sinusal, manteniendo alteraciones de cinesia regional con mejoría de su función sistólica, actualmente levemente deprimida (FEVI de 43%). Este hecho se resalta dado que en previas experiencias nuestros resultados han indicado que el factor pronóstico más importante en pacientes

chagásicos es la magnitud del daño miocárdico medido por la FEVI cuando es menor del 30%, constituyéndose en el índice más común para medir la contractilidad cardíaca (Carrasco *et al.*, 1994). No obstante, pareciera que el uso de betabloqueante en paciente con cardiopatía chagásica crónica, es un factor pronóstico importante en la sobrevida de estos pacientes (Bestetti *et al.*, 2011) cuestión no dilucidada en casos agudos como el registrado en el presente estudio.

Finalmente, es de interés señalar la detección de DTU I de *T. cruzi* como responsable de un cuadro severo de enfermedad de Chagas en su fase aguda, lo cual confirma previas observaciones sobre la severidad de la infección chagásica causada por este genotipo realizadas por nuestro equipo en el occidente de Venezuela (Añez *et al.*, 2016).

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado con soporte del CDCHTA-ULA-proyectos C-1821-13-07-AA (NA) y C-1820-13-07-B (GC). Los autores agradecen a Dra. Agustina Rojas y Dr. R.O. Rojas su colaboración durante la ejecución del presente trabajo y al Vice-rectorado administrativo de la Universidad de Los Andes por su apoyo.

REFERENCIAS

Acquatella H., Schiller N. B., Puigbó J. J., Giordano H., Suarez J. A., Casal H., *et al.* (1980). E-Mode and two dimensional echocardiography in chronic Chagas heart disease: a clinical and pathologic study. *Circulation*. **62**: 787-799.

Acquatella H. (2007). Echocardiography in Chagas heart disease. *Circulation*. **115**: 1124-1131.

Añez N., Crisante G., Rojas A. & Dávila D. (2013). Brote de enfermedad de Chagas agudo de posible transmisión oral en Mérida, Venezuela. *Bol Mal Sal Amb*. **53**: 1-11.

Añez N., Crisante G., Rojas A., Araujo S., Liuzza A., Mesa J. & Parada H. (2015). A follow up study of chagasic patients with special reference to *Trypanosoma cruzi* persistence and criteria of Chagas disease cure. *Int J Clin Med Res*. **2**: 20-29.

Añez N., Crisante G., Rojas A., Rojas R. O. & Bastidas J. (2016). A new acute oral Chagas disease outbreak in Merida, Venezuela: A comprehensive study. *Int J Clin Med Res*. **3**: 29-37.

Añez N., Crisante G., Rojas A., Carrasco H., Parada H., Yépez Y., *et al.* (2001). Detection and significance of inapparent infection in Chagas disease in Western Venezuela. *Am J Trop Med Hyg*. **65**: 227-232).

Añez N., Crisante G., Caraballo F., Delgado W. & Parada H. (2011). *Trypanosoma cruzi* persistence at oral inflammatory foci in chronic chagasic patients. *Act Tropica*. **117**: 207-211.

Añez N., Carrasco H., Parada H., Crisante G., Rojas A., González N., *et al.* (1999). Acute Chagas disease in Western Venezuela. A clinical, seroparasitological and epidemiological study. *Am J Trop Med Hyg*. **60**: 215-22.

Bestetti R., Otaviano A., Cardinalli A., Faria da Rocha T., Theodoropoulos A. D. & Cordeiro J. (2011). Effects of B-Blockers on outcome of patients with Chagas' cardiomyopathy with chronic heart failure. *Int. J. Cardiol*. **151**: 205-208

Britto C., Cardoso A., Silveira C., Macedo V. & Fernandes O. (1999). Polymerase chain reaction (PCR) as a laboratory tool for the evaluation of the parasitological cure in Chagas disease after specific treatment. *Medicina*, **59(Supl. II)**: 176-178.

Carrasco H., Barboza J. S., Inglessis G., Fuenmayor A. & Molina C. (1982). Left ventricular cineangiography in Chagas disease: Detection of early myocardial damage. *Am Heart J*. **104**: 595-602.

Carrasco H., Parada H., Guerrero L., Duque M., Durán D. & Molina C. (1994). Prognostic implications of clinical, electrocardiographic and hemodynamic findings in chronic Chagas disease. *Int J Cardiol*. **43**: 27-38.

Dávila D. F., Donis J. H., Torres A., Navas M., Bellabarba G., Vásquez C. J., *et al.* (1992). La inervación parasimpática cardíaca y su posible relación con el aneurisma apical ventricular

- izquierdo de los pacientes con enfermedad de Chagas. *Med-ULA*. **1**: 92-95.
- Lópes N. M. P., Filho J. M., Albanesi F. F. M., et al. (1986). Correlação entre os achados da ecocardiografia bidimensional e a cine ventriculografia esquerda na lesão apical do ventrículo esquerdo na cardiopatia chagásica crônica. *Arq Bras Cardiol*. **46**: 105-113.
- Nogueira E. A., Ueti O. M., Vieira W. R. (1995). The apical ventricular lesion in Chagas heart disease. *São Paulo Med J*. **113**: 785-790.
- Oliveira J. S. M., Oliveira J. A. M., Frederigue J. R., Climafe U. (1981). Apical aneurism of Chagas heart disease. *Br Heart J*. **46**: 432-437.
- Oliveira J. S. M. (1985). A natural model of intrinsic heart nervous system denervation: Chagas' cardiopathy. *Am Heart J*. **10**: 1092-1098.
- Ortiz J., Barreto A. C. P., Matsumoto A. Y., et al. (1987). Alteração contrátil segmentar na forma indeterminada da doença de Chagas. Estudo ecocardiográfico. *Arq Bras Cardiol*. **49**: 217-220.
- Parada H., Carrasco H., Añez N., Fuenmayor C., & Inglessis I. (1997). Cardiac involvement is a constant finding in acute Chagas' disease: a clinical, parasitological and histopathological study. *Int J Cardiol*. **60**: 49-54.
- Souto R. P., Fernandes O., Macedo A. M., Campbell D. A., Zingales B. (1996). DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*. **83**: 141-152

Recibido el 02/09/2016
Aceptado el 26/12/2016