



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

SEROPREVALENCIA DE INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN  
BANCOS DE SANGRE PÚBLICOS DEL ESTADO SUCRE  
(Modalidad: Tesis de Grado)

FAVIANNY JOSEFINA GONZÁLEZ JIMÉNEZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2011

SEROPREVALENCIA DE INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN BANCOS  
DE SANGRE PÚBLICOS DEL ESTADO SUCRE

APROBADO POR:

  
Dra. Marjolga Berrizbeitia  
Asesora

  
MSc. Jéssicca Rodríguez  
Co-Asesora

  
Dra. Chelita Hernández  
Jurado

  
Profa. Del Valle Guilarte  
Jurado

## ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTO .....	i
DEDICATORIA.....	ii
LISTA DE TABLAS .....	iii
LISTA DE FIGURAS .....	iv
RESUMEN .....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA.....	8
Muestra poblacional .....	8
Obtención de la muestras.....	8
Detección de anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> .....	9
Pruebas confirmatorias .....	10
Análisis de datos .....	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
CONCLUSIONES.....	26
RECOMENDACIONES .....	27
BIBLIOGRAFÍA .....	28
HOJA DE METADATOS.....	35

## **AGRADECIMIENTO**

A la Dra. Mariolga Berrizbeitia asesora de esta tesis, por todos sus conocimientos y enseñanzas transmitidos para la elaboración de este trabajo de grado, por todo su apoyo y comprensión, GRACIAS.

A la MSc. Jéssica Rodríguez, Lcda. María Figuera y Lcda. Mayelis González por su importante colaboración y aprendizaje.

Al personal encargado de los bancos de sangre del estado Sucre por abrirme sus puertas y permitir la realización de este trabajo, especialmente a la Lcda. Daxis Molina, Lcda. Carolina Marval y Lcdo. Pablo Malavé.

Al Postgrado en Biología aplicada por toda su colaboración.

A todos aquellos que de alguna manera han estado presentes en el transcurso de mis años de estudio.

## **DEDICATORIA**

A Dios Todopoderoso por ser esa imagen de fortaleza, valor y sabiduría en mi vida y así poder llegar a la culminación de una de mis metas.

A mi mamá Francis por su apoyo, comprensión y enseñanza para poder lograr mis objetivos.

A mi papá Iván por todo su amor y confianza en el trayecto de mi vida.

A mis padres Antonio e Isidra por ser ese pilar fundamental de unión y perseverancia.

A mi hermana Francis por estar siempre a mi lado y ser mi amiga incondicional.

A toda mi familia porque siempre tuvieron esa confianza en mí y así lograr culminar mi carrera profesional.

A mi novio Alexis por siempre tener una palabra de aliento brindándome cariño y amor llenando mi vida de felicidad.

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Estadística descriptiva para la edad de los donantes de los bancos de sangre públicos del estado Sucre y su distribución según el género. ....	13
Tabla 2. Seroprevalencia para la infección por Trypanosoma cruzi en los dos bancos de sangre evaluados en el estado Sucre.....	14
Tabla 3. Frecuencia de las distintas variables epidemiológicas evaluadas en los donantes de los dos bancos de sangre públicos del estado Sucre. ....	21

## **LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1. Porcentaje de donantes evaluados en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (Cumaná) y el banco de sangre del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” (Carúpano), estado Sucre..... 12
- Figura 2. Resultado confirmatorio por la prueba de Western blot en los donantes seropositivos para ELISA. Est: marcador de peso molecular, C+: control positivo, C-: control negativo, 1 - 4: resultados de individuos positivos en la prueba de ELISA. ... 15

## RESUMEN

Se evaluó la seroprevalencia de anticuerpos tipo IgG anti-Trypanosoma cruzi, en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (Cumaná) y el banco de sangre del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” (Carúpano), estado Sucre. El total de donantes que participaron en el estudio fué de 799 individuos en edades comprendidas entre 18 a 59 años, de ambos sexos, 462 donantes pertenecientes al banco de sangre de Cumaná y 337 al banco de sangre de Carúpano. El diagnóstico serológico fue realizado mediante la prueba de ELISA, utilizando antígenos fijados de las formas epimastigotes de T. cruzi, por otra parte, se utilizó la técnica de Western blot (TESA-blot) como prueba confirmatoria para los sueros positivos por la técnica de ELISA. Se obtuvo una seropositividad de anticuerpos tipo IgG anti-T. cruzi de 0,50% (4 donantes) en el banco de sangre de Cumaná mientras que en el banco de sangre de Carúpano no se encontraron donantes positivos para la infección por T. cruzi. Se aplicó una encuesta para evaluar las variables epidemiológicas, de los posibles factores de riesgo asociados a la infección por T. cruzi, sólo dos de los cuatros donantes seropositivos afirmaron haber sido sometidos a cirugías. La prueba de ELISA aplicada en esta investigación demostró ser más sensible que la técnica comercial utilizada en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. La seroprevalencia de infección por T. cruzi en los dos bancos de sangre públicos evaluados en el estado Sucre es baja; sin embargo, se recomienda aplicar más de una prueba serológica para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en los bancos de sangre de Venezuela.



## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, es la infección de mamíferos y de triatominos producida por un protozoo zoonótico flagelado, perteneciente a la familia *Trypanosomatidae*, denominado *Trypanosoma cruzi*, en cuyo ciclo biológico intervienen hospederos mamíferos que pueden ser el hombre y algunos animales domésticos o silvestres y un insecto hematófago vector del orden Hemiptera, familia *Reduviidae*, género *Triatoma* (Atias, 1998).

En sus diversos hospederos y en medios de cultivos, *T. cruzi* presenta tres aspectos morfológicos fundamentales. El tripomastigote es de aspecto fusiforme, de unos 20  $\mu\text{m}$  de largo, con citoplasma granuloso y un núcleo ventral vesiculoso. Posee un cinetoplasto subterminal, posterior al núcleo, del cual emerge una membrana ondulante que recorre al parásito y en cuyo borde libre lleva un flagelo que emerge por extremidad anterior. Éste se encuentra en la sangre de los mamíferos, no se multiplica, pero constituye la forma infectante para los mamíferos. El epimastigote, también es fusiforme y mide 20  $\mu\text{m}$  de largo, el cinetoplasto está ubicado delante del núcleo; presenta una corta membrana ondulante y un flagelo libre, es la forma de multiplicación del parásito en el intestino del triatoma y predominante en los medios de cultivo. Por último, el amastigote, se trata de un elemento redondeado, de unos 2  $\mu\text{m}$  de diámetro, en el cual se distingue el núcleo y el cinetoplasto. Posee un flagelo corto no emergente; es la forma de multiplicación del parásito y lo hace en el interior de las células de los mamíferos (Tanowitz *et al.*, 1992; Atias, 1998).

Los insectos vectores, se infectan al ingerir la sangre de los mamíferos que contienen tripomastigotes. En el lumen del intestino medio del insecto, los parásitos se multiplican por fisión binaria hasta epimastigotes y luego, se desarrollan los tripomastigotes metacíclicos en el intestino posterior del triatoma. Cuando el insecto infectado pica al mamífero, emite eyecciones con tripomastigotes metacíclicos, que

atraviesan la piel por el sitio de la picadura o por las mucosas. En el mamífero, los tripomastigotes metacíclicos se introducen en el tejido laxo, adquieren la forma amastigotes, éstos se multiplican por fisión binaria, repletan las células, las cuales al romperse quedan libres los parásitos en la circulación bajo la forma de tripomastigotes, diseminándose por todo el organismo, produciendo inflamación local y sanguínea de ganglios, hígado, bazo, pulmón y miocardio. El ciclo biológico se completa cuando los tripomastigotes son ingeridos por otro vector, por vía hematofaga (Botero y Restrepo, 2003).

Después del período de incubación, de 7-10 días en caso de transmisión vectorial y de 20-40 días en caso de transmisión por transfusiones sanguíneas, aparecen los síntomas de la enfermedad, la cual se distingue en tres períodos: agudo, latente o indeterminado y crónico (Cevallos y Hernández, 2003).

En el período agudo de la enfermedad de Chagas, la inmensa mayoría de los pacientes adquieren la infección sin manifestaciones clínicas evidentes y sólo alrededor del 5,00% de los infectados presentan síntomas, los cuales se evidencian de 1 a 2 semanas después de adquirir la infección, dentro de los afectados cerca del 90,00% son niños. Las manifestaciones de la fase aguda incluyen fiebre, anorexia, diarrea, inflamación de los ganglios, hepatoesplenomegalia, miocarditis y compromiso nervioso. La sintomatología de esta fase se resuelve espontáneamente de 4 a 8 semanas. El período latente o indeterminado se caracteriza porque la sintomatología desaparece una vez transcurrido el período agudo, en esta etapa ocurre una lenta multiplicación intracelular de los parásitos y oligoparasitemias, sin signos clínicos; sin embargo, las pruebas serológicas son positivas. Este período puede durar toda la vida o pasar a la forma crónica de la enfermedad, la cual aparece en forma habitual después de diez o más años de la primoinfección. Se caracteriza por el daño irreversible de algunos parénquimas, especialmente el corazón y los órganos huecos (Atias, 1998).

La transmisión natural de *T. cruzi* en la que interviene el vector se lleva a cabo en

tres ciclos: el doméstico, en el cual el vector infesta de manera exclusiva la vivienda humana en áreas rurales y suburbanas; el peridoméstico, donde se mantienen alrededor de núcleos de población humana, y el enzoonótico, que se presenta alejado de asentamientos humanos y con participación exclusiva de reservorios silvestres y ecotopos naturales. Sin embargo, la enfermedad de Chagas se puede transmitir mediante otros mecanismos: vía transplacentaria, corresponde a la infección congénita; vía transfusional considerada como el segundo mecanismo más importante de la transmisión de la enfermedad de Chagas; otras vías son la transmisión por alimentos, lactancia materna y accidentes de laboratorio (Wendel *et al.*, 1992; Hómez *et al.*, 2007).

La enfermedad de Chagas transfusional proviene de unidades sanguíneas de donantes infectados asintomáticos y que ignoran su padecimiento. El receptor puede presentar cuadro clínico de sepsis caracterizado por hipertermia, hepatoesplenomegalia y poliadenopatías, chagomas o una miocarditis aguda o encefalitis. Por lo general, la evolución es favorable a pesar de la gran parasitemia, aunque está condicionada a la cepa infectante y el estado inmunológico del individuo. Es importante destacar que la prevalencia de infección por *T. cruzi* en los bancos de sangre no sólo se evidencia en poblaciones ubicadas en zonas endémicas, sino que debido a la migración interna en cada país se observa también en localidades donde la enfermedad no es endémica (Storino y Jörg, 2002).

Las condiciones que favorecen una transmisión transfusional de *T. cruzi* son su prevalencia elevada en la población de donantes de sangre de las áreas endémicas y la viabilidad del parásito en las condiciones de almacenamiento de la sangre. El *T. cruzi* puede sobrevivir en plaquetas almacenadas a temperatura ambiente, en sangre total o glóbulos rojos a 4°C entre 18 a 21 días y en plasma entre -20°C o -30°C hasta por dos meses (Blejer *et al.*, 2002).

La infección por *T. cruzi* a través de la transfusión sanguínea, fue descrita por primera vez por Mazza (1936); posteriormente fue confirmado por Freitas *et al.* (1952),

en bancos de sangre de Brasil. La importancia de esta forma de infección se ha puesto de manifiesto al reportarse casos de la enfermedad de Chagas en países no endémicos como Canadá, Estados Unidos, España y Alemania (Leiby *et al.*, 2002; Steele *et al.*, 2007; Muñoz *et al.*, 2009).

El incremento de la enfermedad de Chagas en los países industrializados se debe a la migración de pobladores de áreas endémicas rurales hacia las grandes ciudades, pudiendo evitarse este riesgo de transmisión realizando respectivos controles serológicos a las unidades de sangre. Según Schmunis y Cruz (2005), la adecuada selección de los donantes, el uso de pruebas de detección sensibles y la aplicación de un sistema obligatorio de garantía de calidad son esenciales para la seguridad del suministro de sangre, ya que existen leyes, decretos, normas o reglamentos que son aplicables a estos aspectos de las transfusiones sanguíneas en 16 de los 17 países latinoamericanos (Rodríguez *et al.*, 1995).

En un reciente estudio demográfico realizado en donantes de sangre de Estados Unidos, se encontró que de 1 104 030 donantes de los Ángeles y 181 139 de Miami, el 7,30% y 14,30%, respectivamente, respondieron de forma afirmativa haber visitado o provenir de un país endémico, indicando un aumento significativo en las tasas de seroprevalencia para infección por *T. cruzi* desde 1996 hasta 1998 (Leiby *et al.*, 2002). En un estudio de seroprevalencia de *T. cruzi* realizado en los refugiados inmigrantes latinoamericanos en Canadá, se encontró una prevalencia de 1,00% para la enfermedad de Chagas; sin embargo, en otro estudio realizado en Barcelona (España) en el año 2009, donde de un total de 489 individuos provenientes de Latinoamérica, el 41,00% estaban infectados por *T. cruzi*, y el país de origen más frecuente fue Bolivia (Steele *et al.*, 2007; Muñoz *et al.*, 2009).

La vía transfusional se considera como la segunda en importancia en la dinámica de la transmisión, y cada vez adquiere mayor relevancia, ya que aún en países donde la enfermedad de Chagas no se presenta en forma endémica, se han reportado casos

postransfusionales, como es el caso de Estados Unidos donde ocurrió una infección por *T. cruzi* debido a una transfusión de plaquetas (Grant *et al.*, 1989). En México, se encontró una prevalencia de 0,28% de anticuerpos contra *T. cruzi* en los donantes que asistieron al banco de sangre en el área metropolitana (Ramos *et al.*, 1993). En Costa Rica, la prevalencia obtenida fue de 0,08%, siendo el porcentaje más bajo del área Centroamericana (Torres *et al.*, 2004). En Argentina, se detectó una seropositividad para infección por *T. cruzi* de 2,41% en los donantes de sangre que asistieron al Banco de Sangre General de Corrientes (Czernik *et al.*, 2006). En Chile, la prevalencia de individuos con anticuerpos anti *T. cruzi* fue de un 0,31% en el año 2004, lo cual demostró un descenso en relación con la prevalencia descrita para el año 1968 que era de 3,00% (Galaz *et al.*, 2007).

Recientemente, en un estudio realizado en México para el año 2010, donde se determinó la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* en donantes de sangre de los 71 bancos de sangre del país (n= 230 074), se encontró una prevalencia de 0,40% para la infección por *T. cruzi* (Garza *et al.*, 2010).

En Venezuela, los territorios con mayor prevalencia de la enfermedad de Chagas, se ubican en las regiones del occidente y centro del país, en los cuales se han reportado una seroprevalencia para esta parasitosis de 9,20%, estimándose que la población en riesgo a esta infección es de 4 millones de individuos (Aché y Matos, 2001).

Maekelt (1957) reportó por primera vez en Venezuela, el peligro de la transmisión de la infección chagásica por transfusión de sangre, encontrando 12,00% de seropositivos en 449 donantes del banco de sangre de Valencia, estado Carabobo. Mora *et al.* (1960) reportó en 1 650 soldados donantes procedentes del banco de sangre de las Fuerzas Armadas de Venezuela una seropositividad para *T. cruzi* de 8,20%. Pifano *et al.* (1961) estimaron que entre 3,50% y 5,00% de los donantes de sangre de Venezuela eran portadores de anticuerpos contra *T. cruzi*. Salazar *et al.* (1962) comprueban la transmisión de *T. cruzi* por transfusiones de sangre, al confirmar 3 casos de infección

post-transfusión.

Estudios de prevalencias realizados en los bancos de sangre de Venezuela, demuestran el descenso que ha existido desde el año 1993 hasta 2005, debido a que es obligatorio en todos los bancos de sangre venezolanos realizar el tamizaje para *T. cruzi* al 100,00% de los donantes. De esta forma, para el año 1993 la seroprevalencia era 13,20% (n= 204 316), para 1995 la prevalencia fue de 8,00% (n= 202 515), en 1997 existió un 7,80% de seroprevalencia (n= 262 295), luego para 1999 descendió hasta un 6,00% de prevalencia (n= 302 100), desde ese momento la seroprevalencia para la infección por *T. cruzi* se mantuvo entre 6,70%, 6,50% y 6,10% para los años 2001, 2003 y 2005 respectivamente (Schmunis, 2010).

En un estudio realizado en Venezuela (2006) para validar diferentes antígenos de *T. cruzi* (epimastigotes y tripomastigotes fijados, antígenos de excreción secreción de las formas tripomastigotes de *T. cruzi*) en un ensayo inmunoenzimático ligado a una enzima (ELISA), se analizaron 2 038 muestras provenientes de bancos de sangre del estado Bolívar y el estado Portuguesa, lograron una sensibilidad de 100,00% y una especificidad mayor de 99,00%. Igualmente, al realizar las pruebas confirmatorias para infección para *T. cruzi* en los donantes, se encontró que las pruebas validadas fueron superiores a la prueba de diagnóstico de rutina utilizada en esos bancos de sangre venezolanos, ya que fueron capaces de identificar siete reacciones falsas negativas y dos reacciones falsas positivas (Berrizbeitia *et al.*, 2006).

En un estudio realizado para confirmar infección por *T. cruzi* de muestras provenientes de bancos de sangre públicos y privados de Venezuela, se encontró que de 254 donantes, 129 fueron confirmados como positivos (50,79%) por la técnica de ELISA, usando como antígeno extracto total de epimastigotes y el 8,50% por xenodiagnóstico artificial. De los 129 donantes confirmados serológicamente, 68 eran residentes de la región capital y 61 del interior del país (Díaz *et al.*, 2008).

Debido a la elevada prevalencia que existe en Venezuela para la enfermedad de Chagas y el alto riesgo de transmisión por transfusiones sanguíneas en los bancos de sangre, la cual es la segunda vía más importante después de la vectorial y la principal vía de transmisión en los países no endémicos, es de gran importancia conocer la situación de la infección por *T. cruzi* en los bancos de sangre utilizando métodos serológicos altamente sensibles y específicos. Por tal motivo, en el presente trabajo de investigación se evaluó la seroprevalencia de infección por *T. cruzi* y su asociación con ciertas variables epidemiológicas en los bancos de sangre públicos del estado Sucre, igualmente, con el presente trabajo, se utilizó una herramienta serológica autóctona, lo cual permitió introducir una técnica propia, confiable y económica, utilizando un antígeno estable sustituyendo así a las pruebas comerciales utilizadas.

## **METODOLOGÍA**

### **Muestra poblacional**

Los sueros que fueron utilizados en este trabajo de investigación se recolectaron en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (n=462) y el banco de sangre del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” (n=337), en el periodo comprendido desde mayo 2009 a marzo 2010, y se almacenaron a -70°C hasta su procesamiento. Las muestras de suero para este estudio fueron consecutivas para así poder establecer, la seroprevalencia real en el banco de sangre evaluado. Asimismo, se siguieron los lineamientos establecidos por la declaración de Helsinki y las normas internacionales para las investigaciones biomédicas en poblaciones humanas promulgadas por el Consejo de Organización Internacional de Ciencias Medicas (CIOMS), en el que se establece, que previo a la realización de la investigación, al paciente (donante) en cuestión se le debe informar, de los objetivos, métodos y procedimientos a utilizarse, la finalidad de la investigación y beneficio que puede traer, tanto individual como colectivo. De estar de acuerdo con lo antes propuesto, se procedió a formalizar su autorización por escrito para su participación en la investigación (Apéndice 1) (CIOMS, 1993; Penchaszadeh, 2002).

Posteriormente, a cada donante se le realizó una encuesta que incluyó: datos personales y aspectos epidemiológicos del donante. (Apéndice 2 y 3).

### **Obtención de la muestras**

Las muestras de sangre fueron obtenidas directamente durante el proceso de la donación por la técnica de venopunción, con una aguja de calibre 16 (previa asepsia), de la cual se tomó una alícuota de la bolsa de donación en tubos de ensayo previamente rotulados, estos fueron enviados al Laboratorio de Serología del banco de sangre



respectivo. Estas muestras se centrifugaron a 1 000 g por 10 minutos, con la finalidad de separar el suero del paquete globular. Los sueros de cada donante se dispensaron en tubos Eppendorf de 1,5 ml, identificados con el código del donante y la fecha de la recolección. Luego, las muestras de sueros se transportaron en cavas con bolsas refrigerantes hasta el Laboratorio de Diagnóstico Serológico en Enfermedades Infecciosas (LDSEI) ubicado en el Postgrado en Biología Aplicada de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, donde fueron conservadas a una temperatura de -70°C, hasta el momento que se les realizaron las pruebas serológicas.

### **Detección de anticuerpos anti- *T. cruzi***

Se empleó la técnica de ELISA utilizando las formas epimastigotes fijadas de *T. cruzi* (aislado AU), siguiendo el procedimiento descrito por Berrizbeitia *et al.* (2004).

La microplaca de 96 pocillos se sensibilizó con  $1 \times 10^6$  epimastigotes/ml diluidos en  $1 \text{ mol.l}^{-1}$  de carbonato de sodio pH 9,6 (fijados con formaldehído al 2,00%) a 4°C durante 24 horas en cámara húmeda. Las placas fueron lavadas cuatro veces con solución amortiguadora fosfato salino (PBS) (pH 7,4) conteniendo 0,05% de Tween 20 (solución de lavado). Posteriormente, las placas se bloquearon por 1 hora a 37°C en PBS con 5,00% de leche descremada y 0,10% de Tween 20 (solución bloqueadora). Luego, se le adicionó el suero del donante, previamente diluido con solución bloqueadora (1:400) y se incubó por 1 hora a 37°C. Seguidamente, se realizaron 4 lavados con PBST, se le agregó una solución de anti-IgG humana conjugada a peroxidasa de rábano picante, diluida 1:45 000 con solución bloqueadora y se incubaron por 30 minutos a 37°C, después de 4 nuevos lavados con PBST, se reveló la reacción con tetrametilbencidina (TMB) por 10 minutos a temperatura ambiente y en la oscuridad. La reacción se detuvo con ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )  $1 \text{ mol.l}^{-1}$  (50  $\mu\text{l}$  cada pocillo).

El procedimiento fue realizado por duplicado en cada placa. Una mezcla de controles positivos y negativos, confirmados por tres pruebas serológicas diferentes en el

Laboratorio de Inmunodiagnóstico de Chagas ubicado en Maracay, se incluyó en cada placa por duplicado. Los resultados fueron aceptados sólo si el coeficiente de variación (CV) para cada placa fue menor o igual a 15,00%; de otro modo las muestras fueron analizadas nuevamente. El punto de corte para esta prueba fue determinado utilizando la curva: *Receiver operating characteristic curves* (curva ROC). Esta curva definió el valor de 0,400 de densidad óptica (DO), el cual permitió la mejor discriminación entre valores positivos y negativos (Berrizbeitia *et al.*, 2006).

Se realizaron las lecturas de las densidades ópticas en un lector de ELISA automático marca Biotrak II (Biochrom, London) con filtro de 450 nm, y se consideraron positivas todas las muestras cuyo promedio de DO fueron superiores o igual al valor del punto de corte (0,400 DO).

### **Pruebas confirmatorias**

Los sueros que resultaron positivos para *T. cruzi* por la técnica de ELISA, fueron confirmados mediante la prueba de Western blot.

#### Electroforesis unidimensional en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE)

Se realizó la separación de las proteínas de los antígenos de excreción/secreción de las formas tripomastigotes de *T. cruzi* (antígenos TESA) por electroforesis unidimensional, en base al método descrito por Laemmli (1970). La separación electroforética se llevó a cabo en geles al 7,00% de poliacrilamida y un espesor de 0,8 mm. La corrida electroforética, se realizó por 2 horas en solución amortiguadora tris-glicina (25 mmol.l<sup>-1</sup> Tris, 192 mmol.l<sup>-1</sup> glicina, 0,10% dodecilsulfato sódico (SDS), pH 8,3), a un voltaje constante de 120 V. Marcadores de amplio rango de masa molecular fueron incluidos en cada corrida electroforética (Biorad).

#### Western blot de las proteínas TESA

Las proteínas separadas en SDS-PAGE fueron transferidas en hojas de nitrocelulosa (MFS, Pleasanton, CA), como lo descrito por Towbin *et al.* (1979). Usando un minitanque electroforético (Biorad). La transferencia, se realizó por 1 hora a 4°C en 25 mmol.l<sup>-1</sup> tris-base, 192 mmol.l<sup>-1</sup> de glicina y 20,00% v/v de metanol a pH 8,3, a una corriente constante de 0,25 A. Una vez realizada la transferencia de las bandas proteicas, las membranas fueron bloqueadas toda la noche a 4°C con PBS conteniendo 5,00% de leche descremada (Parmalat) y 0,10% Tween 20 (solución bloqueadora). Al cabo de este tiempo, se cortaron tiras de 4 mm de espesor aproximadamente, y éstas se colocaron en una bandeja de incubación, con canales individuales. Cada tira fue incubada con su correspondiente suero diluido 1/400, en solución bloqueadora, durante 2 horas a temperatura ambiente y en agitación continua. Luego, se realizaron cinco lavados de 5 minutos con PBST. Posteriormente, las tiras fueron incubadas por 2 horas a temperatura ambiente con anticuerpo de cabra anti-IgG humano conjugado con peroxidasa de rábano (Perkin-Elmer Life Science, Boston, MA), en una dilución 1:4 000, en PBST. Las tiras de nitrocelulosa se lavaron nuevamente cinco veces con PBST, y los complejos inmunes se revelaron utilizando diaminobencidina (Sigma).

### **Análisis de datos**

Los resultados obtenidos fueron presentados en tablas y gráficos. La seroprevalencia de infección por *T. cruzi*, fue determinada aplicando la fórmula descrita por Gordis (2004).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluaron un total de 799 donantes de ambos sexos, de los cuales 337 (42,20%) fueron del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” de Carúpano y 462 (57,80%) del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de Cumaná, estado Sucre (Figura 1), en el período comprendido desde mayo 2009 a marzo 2010.

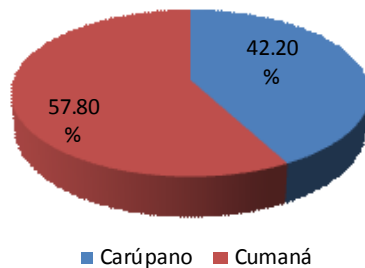


Figura 1. Porcentaje de donantes evaluados en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (Cumaná) y el banco de sangre del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” (Carúpano), estado Sucre.

En la tabla 1, se muestra la estadística descriptiva para la edad de los individuos del presente estudio, así como también la distribución según el género. En esta se observa que el total (n=799) de donantes estuvo comprendido por individuos entre 18 a 59 años, la cual es el rango de edad establecido para donar sangre en los dos bancos de sangre públicos del estado Sucre. La edad promedio de los 799 donantes fue  $31,5 \pm 9,6$  años. Igualmente, en relación con el género se encontró un predominio del género masculino en relación con el género femenino, donde el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de Cumaná presentó una proporción del género masculino con respecto al femenino de 7:1 y para el banco de sangre del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” de Carúpano la proporción fue 9:1.

Tabla 1. Estadística descriptiva para la edad de los donantes de los bancos de sangre públicos del estado Sucre y su distribución según el género.

Bancos de Sangre (n)	Edad		Rango	Género	
	X	DS	Min – Max	F (%)	M
Cumaná (462)	31,66 9,54		18 – 59	56 (12,10) (87,90)	406
Carúpano (337)	31,26 9,71		18 – 59	31 (9,20) (90,80)	306

n: población; x: media; DS: desviación estándar; Min: mínimo; Max: máximo; F: femenino; M: masculino; %: porcentaje

En un estudio de seroprevalencia para infección por *T. cruzi* en donantes de sangre, realizado en México, se encontró un intervalo mayor (18-65 años) de edades en un total de 420 donantes a la encontrada en este trabajo, con una edad promedio de 35,4 años. Igualmente, en esta misma investigación se reportó una proporción superior (22:1) del género masculino con respecto al género femenino (Ligonio *et al.*, 2006). El rango de edad establecido para ser donante de sangre está comprendido entre 16 a 65 años de acuerdo a lo descrito en la Ley Nacional de Sangre (1983) en su capítulo XV de los donantes, sin embargo, este rango varía de acuerdo al banco de sangre. Asimismo, el predominio de hombres en un proceso de donación está relacionado con el peso y la condición física. Para ser donante se establece un peso mínimo de 50 kilos (Del Valle *et al.*, 1996).

En la presente investigación se evaluó la infección por *T. cruzi* utilizando epimastigotes fijados en el formato de ELISA. Todas las muestras que resultaron positivas por la prueba de ELISA fueron confirmadas por TESA-blot, de esta forma la clasificación de la infección por *T. cruzi* siguió el criterio descrito por la Organización

Mundial de la Salud (OMS, 2008). En la tabla 2, se muestra las seroprevalencias confirmadas por ambos métodos serológicos para la infección por *T. cruzi* en los dos bancos de sangre evaluados. Como se puede observar la seroprevalencia general obtenida en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” fue de 0,50% y una prevalencia específica de 0,85%. Como se muestra únicamente en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de Cumaná, se detectaron individuos seropositivos mientras que en el banco de sangre del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” de Carúpano no se encontró ningún donante con serología positiva durante el periodo evaluado.

Tabla 2. Seroprevalencia para la infección por *Trypanosoma cruzi* en los dos bancos de sangre evaluados en el estado Sucre.

Banco de Sangre	(n)	Neg (n)	Pos (n)	PG	IC 95%	PE	IC 95%
Cumaná	462	458	4	0,50%	0-1,14%	0,86%	0,02-1,71%
Carúpano	337	337	0	0	---	-----	-----
Total	799	795	4	0,50%	0-1,14%	-----	-----

PG: prevalencia general; PE: prevalencia específica

Neg: negativos; Pos: positivos; IC: intervalo de confianza

N: población; %: porcentaje

En la figura 2, se presentan los resultados de la prueba confirmatoria de Western blot, en la cual se puede observar que los sueros de los individuos diagnosticados con infección por *T. cruzi* en la prueba de ELISA reconocieron diferentes bandas polipeptídicas de las proteínas TESA. La mayoría de las bandas reconocidas por los sueros positivos fueron mayores de 80 Mr. Asimismo, el patrón de reconocimiento de las proteínas TESA no fue el mismo en todos los sueros confirmados.

El TESA-blot es una prueba que ha demostrado tener un 100,00% de sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, presentando un mínimo de reacciones cruzadas y además usada como prueba confirmatoria para *T. cruzi* en Brasil (Araujo *et al.*, 2008). Esta prueba fue desarrollada por Umezawa *et al.* (1996) como un método inmunodiagnóstico para la enfermedad de Chagas, los antígenos TESA son proteínas excretadas al sobrenadante de cultivos infectados con *T. cruzi*, los cuales han sido clasificados como transalidasas.

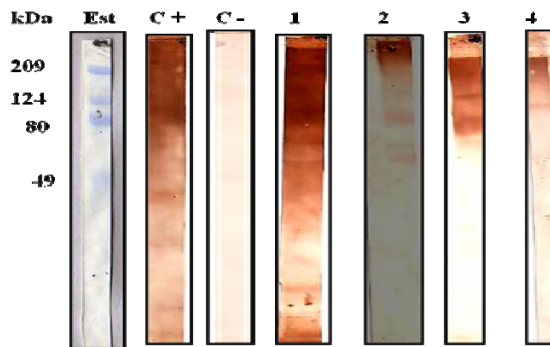


Figura 2. Resultado confirmatorio por la prueba de Western blot en los donantes seropositivos para ELISA. Est: marcador de peso molecular, C+: control positivo, C-: control negativo, 1 - 4: resultados de individuos positivos en la prueba de ELISA.

Como se puede observar en la presente investigación, todos los sueros positivos a infección por *T. cruzi* reconocieron bandas proteicas mayores a 80 Mr. De acuerdo con lo descrito por Umezawa *et al.* (1996) los individuos en fase aguda de la enfermedad de Chagas reconocen polipéptidos de TESA de 130 a 200 Mr mientras que los sueros de individuos en fase crónica reaccionaron con polipéptidos de elevado peso molecular (150 a 160 Mr). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en este trabajo de investigación, donde se demostró el reconocimiento de bandas proteicas de elevada masa molecular por los sueros positivos. Igualmente, se demuestra la excelente sensibilidad y especificidad que presenta la técnica de TESA-blot, constituyendo un método confirmatorio para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, el cual genera resultados confiables.

Asimismo, la alta sensibilidad de la prueba de ELISA utilizando epimastigotes fijados ha sido previamente descrita por Berrizbeitia *et al.* (2006), en un trabajo realizado en Venezuela en donantes provenientes de bancos de sangre del estado Bolívar y Portuguesa (n=2 038). En este trabajo utilizaron la prueba de ELISA con diferentes antígenos (TESA, epimastigotes y tripomastigotes fijados), las pruebas validadas fueron capaces de identificar siete reacciones falsas negativas y dos reacciones falsas positivas comparado con las pruebas de rutina comerciales utilizadas en los bancos de sangre evaluados.

Los resultados de seroprevalencia de la infección por *T. cruzi* en donantes de sangre encontrados en la presente investigación son similares con los datos reportados por la Dirección de Saneamiento Ambiental y Control de Endemias del estado Sucre, para el año 2010, la cual reportó 20 donantes positivos (0,45%, n= 4 396) para el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de Cumaná, mientras que para en el banco de sangre del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” de Carúpano, se reportó un sólo donante positivo (n= 3 231) con una prevalencia de 0,03% para la infección por *T. cruzi*. Estos datos fueron facilitados por la Dirección de Saneamiento y Control de Endemias del estado Sucre.



Seroprevalencias similares a las encontradas en el presente trabajo fueron observadas en un estudio realizado en donantes de sangre de la Seguridad Social en Costa Rica, donde se reportó una prevalencia de 0,60% (n=305) utilizando las técnicas de ELISA y Western blot (Torres *et al.*, 2004). Asimismo, en un trabajo de investigación para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* en un banco de sangre de México, se encontró un 0,32% de prevalencia (n=8 356) utilizando la técnica de ELISA y al confirmar por inmunofluorescencia indirecta no se obtuvieron resultados positivos (González *et al.*, 2004), esto demuestra la gran importancia de realizar distintos diagnósticos serológicos para la enfermedad de Chagas, como es el caso de Brasil (2008), donde utilizan tres métodos serológicos (ELISA, HAI, IFI) para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* y confirman por TESA-blot (Araujo *et al.*, 2008).

Asimismo los resultados de la seroprevalencia a la infección por *T. cruzi* encontrada en la presente investigación concuerdan con otros trabajos realizados en bancos de sangre venezolanos. En un trabajo realizado en el banco de sangre “Dr. José Jesús Boada Boada” de Barquisimeto, se encontró 0,46% de seropositividad para *T. cruzi* (n=1 077) utilizando una prueba de ELISA comercial (BioELISA) y 0,65% cuando utilizaron tres métodos de diagnóstico: ensayo Inmunoenzimático, inmunofluorescencia indirecta y la técnica de aglutinación directa (Monsalve *et al.*, 2004).

Aché (1993) reportó las seroprevalencias interanuales nacionales en Venezuela entre 1984 a 1992 para infección por *T. cruzi* donde los valores oscilaron entre 0,06% a 5,47%. Entre los estados que presentaron niveles mayores de seroprevalencias se encontraron Portuguesa (5,47%), Barinas (1,45%), Lara (1,20%), Trujillo (2,38%), Táchira (1,48%), Cojedes (2,61%) y Carabobo (2,34%) los cuales están ubicados en el área endémica del pie de monte y serranías de la cordillera de los Andes. Sin embargo, para ese año el estado Sucre reportó una seroprevalencia de 1,47% (n= 12 813), lo cual indica que la seroprevalencia a la infección por *T. cruzi* en los bancos de sangre de este estado han descendido en los últimos 18 años tal y como quedó demostrado en la presente investigación.

De acuerdo con la VI reunión de la Comisión Intergubernamental realizada en Lima en el año 2004, se informó la iniciativa que poseen los países andinos (Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú) sobre el control de tamizaje en los bancos de sangre con respecto al diagnóstico de la enfermedad de Chagas, observándose para ese año, en Venezuela, una reducción del 90,00% en las tasas de infección por *T. cruzi*. La cobertura de tamizaje en los bancos de sangre era de un 100,00% y la prevalencia de infección por *T. cruzi* ya había descendido hasta un 0,78%, en donde los casos agudos se encontraban en los estados Barinas, Lara y Portuguesa (Aché y Matos, 2001).

En relación con los países de América latina, desde 1992 han reportado las prevalencias de la infección por *T. cruzi* en donantes de sangre, de esta forma se muestra para Bolivia 25,00%, 5,00% Argentina, 6,00% en Paraguay y 3,00% a 5,00% en El Salvador y Guatemala, respectivamente. Igualmente entre 1,00% a 2,00% para Brasil, Chile, Colombia, Honduras y Venezuela, y menos de 1,00% en Ecuador y Nicaragua. Luego para 1993, la situación había mejorado y en ese momento sólo Honduras y Venezuela contaban con un nivel de tamizaje de 100,00% en los bancos de sangre. En comparación con otros países de Latinoamérica, Venezuela ha presentado seroprevalencias mínimas en los bancos de sangre por la alta cobertura de tamizaje y esto concuerda con la prevalencia obtenida en la presente investigación (Schmunis, 1999).

En América Latina desde 1994 a 1997, se estimó un riesgo de contraer infección por *T. cruzi* en transfusiones; en este sentido, la cobertura de detección para esta parasitosis se había incrementado de forma importante, observándose que para 1994 existía un 100,00% de detección en dos de nueve países de Latinoamérica y en 1997 se elevó a cuatro de once países, existiendo un riesgo de transmisión de 36,00% a través de transfusiones sanguíneas en Latinoamérica (Schmunis *et al.*, 2001). Asimismo, para el año 2005 se estableció la aplicación de leyes, normas y reglamentos, a fin de garantizar el mantenimiento de la seguridad en el suministro de sangre, la cual es existente en 16 de los 17 países de América Latina (Schmunis y Cruz, 2005).

En la presente investigación, todos los individuos clasificados como positivos fueron del género masculino y eran procedentes de las poblaciones de San Juan de Macarapana (municipio Sucre), Araya (municipio Cruz Salmerón Acosta), Santa Fe (municipio Sucre) y Cumanacoa (municipio Montes) del estado Sucre. En otros trabajos realizados en el estado Sucre describen a los municipios, Montes, Sucre y Ribero con altas seroprevalencias para infección por *T. cruzi*, como Abreu (2003), en un estudio seroepidemiológico realizado en la población de los Altos de Sucre (municipio Sucre), reportó una seroprevalencia para *T. cruzi* de 12,50%, mientras que Flores (2003) indicó un 15,26% de prevalencia en diferentes localidades del municipio Montes. Por último, Ayala (2010) reportó una seropositividad para la infección por *T. cruzi* de 8,00% en individuos de la población Sabaneta (municipio Montes).

Es importante resaltar que la prueba de ELISA casera fue más sensible que la prueba comercial utilizada en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, ya que permitió identificar dos sueros positivos confirmados posteriormente por la prueba de TESA-blot, los cuales no fueron detectados por la prueba comercial utilizada en el banco de sangre. La discordancia en el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* es un problema ampliamente reportado en diferentes trabajos, los resultados obtenidos en la presente investigación, demuestran la importancia de implementar más de una prueba serológica en los bancos de sangre de Venezuela, para de esta forma aumentar la sensibilidad del diagnóstico y evitar reacciones falsas negativas (Pirard *et al.*, 2005; Berrizbeitia *et al.*, 2006).

Para el desarrollo de esta investigación inicialmente se propuso la prueba de chi cuadrado con la intención de determinar la asociación existente entre diversas variables epidemiológicas y la infección por *T. cruzi* en donantes de sangre. Sin embargo, esta prueba no se pudo aplicar, ya que la distribución de la muestra no cumplió con los criterios mínimos establecidos para utilizar un método estadístico que garantizara resultados confiables. Por tal motivo, los resultados de la encuesta epidemiológica se presentaron en forma de frecuencias (Tabla 3).

Las variables evaluadas fueron (Apéndice 2 y 3): haber sido rechazado previamente como donante, haber sido sometido a cirugías, recibir transfusión sanguínea, poseer alguna enfermedad del corazón, haber padecido de hepatitis, manifestar haber sido picado por el insecto vector (chipo), presentar algún signo o síntoma de enfermedad como fiebre, malestar general, cefalea, alteraciones gastrointestinales, la semana antes donar sangre.

En la tabla 3, se muestra la frecuencia de las distintas variables epidemiológicas evaluadas en los donantes de los dos bancos de sangre públicos del estado Sucre. Aquí se demuestra que la mayoría de las variables evaluadas no estuvieron presentes en los individuos que resultaron seropositivos a la infección por *T. cruzi*, sólo dos seropositivos manifestaron haber sido sometidos previamente a cirugías. Con respecto a esta última variable, en un estudio realizado en Guatemala se determinó la seroprevalencia de infección por *T. cruzi* en soldados; en este estudio se encontró que de un total de 908 pacientes sólo cuatro (0,40%) indicaron que habían sido operados y el resto (99,30%) respondió que no; entre los soldados que admitieron no haber sido sometidos a cirugías se encontraban los seropositivos para *T. cruzi* con un 4,00% de prevalencia para esta parasitosis (Monzón, 2002).

De los pacientes que resultaron seropositivos para *T. cruzi* ninguno manifestó haber recibido previamente transfusiones sanguíneas. Sin embargo, una de las formas de transmisión de la enfermedad de Chagas es por transfusiones de sangre, pero gracias al control de la infección por *T. cruzi* en la mayoría de los bancos de sangre de Latinoamérica, en donde se realiza el tamizaje para *T. cruzi* de todos los donantes, se ha logrado controlar la transmisión de este parásito a través de transfusiones sanguíneas (Schmunis y Cruz, 2005). En un trabajo de investigación donde se evaluó la utilidad de la realización de encuestas para identificar donantes infectados por *T. cruzi*, se encontró que de acuerdo a la encuesta realizada, de un total de 1 581 donantes, el 1,80% (n=29) respondieron haber recibido transfusiones sanguíneas, la cual no fue un factor de riesgo para la infección por *T. cruzi* en este trabajo (Vásquez *et al.*, 1999).

Tabla 3. Frecuencia de las distintas variables epidemiológicas evaluadas en los donantes de los dos bancos de sangre públicos del estado Sucre.

Variable	Presente n (%)	Ausente n (%)	Individuos positivos a infección por <i>T.</i> <i>cruzi</i>
Cirugía	193 (24,16)	606 (75,84)	2
Paludismo	15 (1,88)	784 (98,12)	0
Habitar en áreas palúdicas	21 (1,38)	788 (98,62)	0
Enfermedad previa a la donación	15 (1,88)	784 (98,12)	0
Hepatitis	2 (0,25)	797 (99,75)	0
Picadura de chipo	2 (0,25)	797 (99,75)	0
Rechazo previo como donante	11 (1,38)	788 (98,62)	0
Enfermedad cardiaca	7 (0,88)	792 (99,12)	0

n: población; %: porcentaje

Igualmente, en un trabajo realizado en soldados para la detección de la infección por *T. cruzi* en Guatemala, se reportó que de un total de 908 pacientes, sólo 18 (2,00%) indicaron haber recibido transfusiones sanguíneas, demostrando así la no existencia de una asociación significativa entre la seropositividad para *T. cruzi* y el haber recibido transfusiones (Monzón, 2002).

Con respecto a la variable de ser donante diferido, no se encontraron trabajos de investigación que describan la asociación entre ser un donante diferido y la infección por *T. cruzi*, sin embargo, las instrucciones básicas para un banco de sangre y transfusiones indica que cada donante debe tener los valores mínimos establecidos para la hemoglobina, leucocitos y plaquetas así como también debe tenerse información sobre la presión arterial, peso y temperatura para poder ser una persona aceptada como donante (Del Valle *et al.*, 1996).

En este trabajo ninguno de los pacientes con infección por *T. cruzi* manifestaron presentar enfermedad cardíaca conocida, sin embargo, se conoce que *T. cruzi* afecta el corazón cuando la enfermedad se encuentra en su fase crónica donde se manifiestan principalmente daño al tejido muscular del corazón y trastornos de la conducción de la señal eléctrica de éste, lo que produce insuficiencia cardíaca y facilita la producción de tromboembolias. Igualmente, es conocido que los individuos en fase indeterminada no presentan síntomas o signos asociados a la enfermedad, ni alteraciones radiográficas o electrocardiográficas y la única forma de diagnóstico es a través de la serología positiva, es posible que los donantes que resultaron seropositivos en este trabajo, podrían encontrarse en fase indeterminada ya que, manifestaron no presentar signos o síntomas asociados a la enfermedad de Chagas (Cevallos y Hernández, 2003).

En un estudio realizado en Argentina, se evaluaron las alteraciones electrocardiográficas (ECG) en jóvenes aparentemente sanos y su relación con la enfermedad de Chagas, donde se encontró que de un total de 902 pacientes, 714 resultaron no tener alteraciones en el ECG mientras que 188 sí presentaron. De los

pacientes que no tenían alteraciones se encontraban 34 (4,80%) con serología positiva para *T. cruzi* y de los pacientes con alteraciones sólo 19 tenían seropositividad para *T. cruzi*, sin embargo, en este trabajo no se aplicó una prueba estadística que determinara la asociación entre estas dos variables. (Manzullo *et al.*, 2001).

Igualmente, en la presente investigación los individuos con diagnóstico positivo de infección por *T. cruzi* no manifestaron haber sufrido de hepatitis, malaria o vivir en áreas palúdicas. A tales efectos, en un estudio realizado en Guatemala (2002), se encontró que de un total de 908 soldados, ocho (0,90%) refirieron haber padecido de hepatitis, de los cuales, ninguno resultó con serología positiva para la infección por *T. cruzi*, y no se encontró asociación entre aquellas personas que afirmaron haber contraído hepatitis y la seropositividad para la infección por *T. cruzi* (Monzón, 2002).

Con respecto a la picadura del vector y la seropositividad a *T. cruzi* no se encontró ninguna investigación en bancos de sangre que relacionara esta variable. Sin embargo, en un estudio realizado en el municipio Nirgua (estado Yaracuy), se evaluó la seroprevalencia de *T. cruzi* en poblaciones rurales de este municipio y la asociación de ciertas variables epidemiológicas. En cuanto a la asociación entre la picadura del vector y la detección de anticuerpos anti – *T. cruzi* en los habitantes, se observó que hubo una asociación estadística significativa entre estas dos variables (Loyo, 2004).

La transfusión sanguínea se ha mantenido como una importante alternativa terapéutica, sin embargo, ésta ha demostrado ser un excelente medio para difundir o transmitir un gran número de infecciones, siendo una complicación de gran importancia en relación con la morbimortalidad en receptores de sangre (Organización Panamericana de la Salud, 2001a; Blejer *et al.*, 2002).

Se calcula que en todo el mundo hay entre 16 y 18 millones de personas infectadas por *T. cruzi*, de los cuales cada año mueren 50 000. A pesar de la transmisión local de la enfermedad de Chagas en Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica,

Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Perú y Venezuela; debido a la migración existente, el número de casos ha aumentado en Europa y los Estados Unidos de América y este aumento plantea riesgos adicionales de transmisión a través de transfusión de sangre en países no endémicos (Organización Mundial de la Salud, 2008).

La infección de *T. cruzi* por transfusión sanguínea ha tenido menor impacto epidemiológico y se considera, como la segunda vía de infección en zonas endémicas y la primera en países no endémicos (Cerisola *et al.*, 1972; Pinto, 1984), tomando en cuenta que el riesgo de transmisión depende de la prevalencia de la infección en los donantes, el alcance del diagnóstico serológico, la sensibilidad de las pruebas utilizadas y sobre todo, la seguridad de los resultados obtenidos (Moraes, 1999).

Desde 1998, en Venezuela existe un programa de tamizaje obligatorio para *T. cruzi* y la prevalencia de donaciones de sangre infectadas en los bancos de sangre de todo el país se ha reducido de 1,16% en 1993 a 0,78% en 1998. Luego, en el año 2000 se tamizaron serológicamente 3 127 donantes de sangre de Venezuela, encontrando 16 seropositivos (0,50%) (Organización Panamericana de la Salud, 2001b).

En 1991, se definió un control de tamizaje serológico transfusional en el encuentro del Programa Iniciativo del Cono Sur para todos los países, donde manifestaron que el diagnóstico para la enfermedad de Chagas debería ser realizado a través de dos métodos serológicos con principios diferentes (Días y Schofiel, 1998). Luego, la Organización Mundial de la Salud recomendó la realización de tres pruebas serológicas para la detección de anticuerpos anti- *T. cruzi*: ensayo Inmunoenzimático (ELISA), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y aglutinación directa (TAD). Con relación a esta propuesta, se demostró que al utilizar diferentes métodos de diagnóstico aumenta la sensibilidad y disminuye el riesgo de transmisión. De acuerdo a lo anteriormente descrito, la seroprevalencia de la infección por *T. cruzi* determinada en este trabajo, en los dos bancos de sangre evaluados siguió el lineamiento de la OMS, de esta forma se



pudo determinar un resultado confiable. Asimismo, se evitó el sesgo en el diagnóstico ya que los sueros fueron procesados sin conocer los resultados correspondientes a cada banco de sangre, y una vez culminada la evaluación de las técnicas aplicadas (ELISA y Western blot) se conoció los resultados de clasificación de los donantes realizada por una prueba comercial.

## CONCLUSIONES

La seroprevalencia de infección por *T. cruzi* en los bancos de sangre públicos evaluados del estado Sucre es baja.

La prueba de Western blot permitió confirmar todos los sueros que resultaron positivos por la prueba de ELISA.

La detección de donantes con infección para *T. cruzi* fue mayor en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de Cumaná en relación con el banco de sangre del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” de Carúpano.

Los individuos que resultaron seropositivos para la infección por *T. cruzi* provenían de San Juan de Macarapana (municipio Sucre), Santa Fe (municipio Sucre), Araya (municipio Cruz Salmerón Acosta) y Cumanacoa (municipio Montes) del estado Sucre.

La combinación de dos pruebas serológicas diferentes aumenta la sensibilidad y confiabilidad del diagnóstico de la infección por *T. cruzi*.

En la presente investigación no se pudo establecer la asociación entre las variables epidemiológicas evaluadas con la infección por *T. cruzi* en donantes de sangre.

## RECOMENDACIONES

Aplicar más de una prueba serológica para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* en los bancos de sangre para disminuir resultados falsos negativos.

Realizar más estudios de seroprevalencia en bancos de sangre de Venezuela para obtener datos más recientes de la infección por *T. cruzi*.

## BIBLIOGRAFÍA

Abreu, L. 2003. Evaluación seroepidemiológica de la enfermedad de Chagas en la población de los Altos de Sucre del municipio Sucre, estado Sucre. Trabajo de pregrado, Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Aché, A. 1993. Prevalencia de infección humana por *Trypanosoma cruzi* en bancos de sangre en Venezuela. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 35(5): 443-448.

Aché, A. y Matos A. 2001. Interrupting Chagas disease transmission in Venezuela. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 43: 37-43.

Araujo, A.; Vianna, E. y Berne, M. 2008. Anti-*Trypanosoma cruzi* antibody detection in blood donors in the southern Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 12(6): 480-482.

Atias, A. 1998. *Parasitología médica*. Publicaciones técnicas. Mediterráneo Ltda. Santiago, Chile.

Ayala, N. 2010. *Trypanosoma cruzi*: seroprevalencia, epidemiología, diagnóstico serológico y Proteína C Reactiva (PCR) en individuos del centro poblado Sabaneta, municipio Montes, estado Sucre. Trabajo de pregrado, Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Berrizbeitia, M.; Ndao, M.; Bubis, J.; Gottschalk, M.; Aché, A.; Lacouture, S.; Medina, M. y Ward, B. 2006. Field evaluation of four novel enzyme immunoassays for Chagas disease in Venezuela blood banks: comparison of assays using fixed-epimastigotes, fixed-trypomastigotes or trypomastigotes secreted-excreted antigens (TESA) from two *T. cruzi* strains. *Transfusion Medicine*, 16: 419-431.

Berrizbeitia, M.; Ndao, M.; Gottschalk, M.; Aché, A.; Vasquez, F.; Lacouture, S.; Mehudy, M. y Ward, B. 2004. Development and comparison of an enzyme immunoassays for diagnoses of Chagas disease using fixed forms of *Trypanosoma cruzi* (epimastigotes, amastigotes and trypomastigotes) and assessment of antigen stability for the three assays. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(4): 1766-1769.

Blejer, J; Carreras, L. y Salamone, M. 2002. Riesgo de transmisión de infecciones por vía transfusional. *Medicina*, 62(3): 259-278.

Botero, D. y Restrepo, M. 2003. *Parasitosis humanas*. Cuarta edición. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia.

Cerisola, J.; Rabinovich, A. y Álvarez, M. 1972. Enfermedad de Chagas y la transfusión de sangre. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 73: 203-221.

Cevallos, A. y Hernández, R. 2003. *Trypanosoma cruzi* y la enfermedad de Chagas. *Revista Biomédica*, 51(4): 695-726.

Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS), 1993. Normas éticas internacionales para la investigación biomédica con sujetos humanos, Publicación Científica 563.

Czernik, G.; Cuenca, E.; Dabski, M. y Marder, G. 2006. Seroprevalencia chagásica en hemodonantes del banco de sangre central de corrientes. Argentina. *Revista de Postgrado de la Cátedra de Medicina*, 160: 5-8.

Del Valle, L.; Montero, J. y Caballero, A. 1996. Hemoterapia instrucciones básicas para banco de sangre y transfusión. Costa Rica. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 31: 1-2.

Dias, J. y Schofiel, C. 1998. Transfusional transmission control of Chagas disease in the Southern Cone initiative. *Revista de Sociedades Brasileira de Medicina Tropical*, 31: 373-383

Díaz, Z.; Zavala, R.; Díaz, M.; Mauriello, L.; Maekelt, A. y Alarcón de Noya, B. 2008. A confirmatory diagnosis of antibodies anti-*Trypanosoma cruzi* in donors referred by blood banks in Venezuela. *Investigación Clínica*, 49(2): 141-150.

Flores, V. 2003. Evaluación seroepidemiológica de la enfermedad de Chagas en diferentes localidades del municipio Montes, estado Sucre. Trabajo de pregrado, Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Freitas, J.; Biancalana, A.; Amato, V.; Nussenzweig, V.; Sonntag, R. y Barreto, J. 1952. Primeiras verificações de transmissão acidental de molestia de Chagas ao homen por transfusão de sangue. *Revista Paulista de Medicina*, 40: 36-40.

Galaz, P.; García, S.; Mercado, R.; Orrego, E.; Pagliero, B.; Contreras, M.;

Salinas, P. y Arancibia, C. 2007. Aspecto parasitológico y epidemiológicos de los donantes de sangre seropositivos para *Trypanosoma cruzi* en un hospital universitario. *Revista Médica de Chile*, 135: 1291-1295.

Garza, B.; Benítez, G.; Peña, A.; Galván, J. y Morales, A. 2010. Detección de *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre. México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 48(2): 139-144.

González, M.; Hernández, C.; Valle, F. y Bordes, J. 2004. Detección de anticuerpos séricos contra el *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre. México. *Medica Sur Sociedad de Médicos*, 11(3): 169-174.

Gordis, L. 2004. *Epidemiology*. Tercera edición. Elsevier Saunders, Philadelphia.

Grant, I.; Gold, J.; Wittner, M.; Tanowitz, H.; Nathan, C.; Mayer, K.; Reich, L.; Wollner, N.; Steinherz, L.; Ghavimi, F. y Armstrong, D. 1989. Transfusion associated acute Chagas' disease acquires in the United States. *Annals of Internal Medicine*, 111: 849-851.

Hómez, J.; Soto, R.; Tarazón, S.; Méndez, H. y Mármol, P. 2007. *Parasitología*. Undécima edición. Editorial de la Universidad del Zulia. Venezuela.

Laemmli, V. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.

Leiby, D.; Herron, R.; Read, E.; Lenes, B. y Stumpf, R. 2002. *Trypanosoma cruzi* in Los Angeles and Miami blood donors: impact of evolving donor demographics on seroprevalence and implications for transfusion transmission. *Transfusion*, 42: 549-555.

“Ley Nacional de Sangre N° 22 990 y Decreto Reglamentario N° 375/89BuenosAires”. <<http://www.ramosmejia.org.ar/downloads/leyes/sangre.doc>>(17/04/2011).

Ligonio, A.; Ramírez, M.; González, J.; Rosales, J. y López, A. 2006. Prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre de IMSS, Orizaba, Veracruz, México. *Salud Pública de México*, 48: 13-21.

Loyo, Y. 2004. Seroprevalencia de *Trypanosoma cruzi*, índice de infestación de los hogares y lugares a triatominos y factores de riesgo para la enfermedad de Chagas en comunidades rurales del municipio Nirgua, estado Yaracuy. Trabajo de maestría.

Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado”, Yaracuy.

Maekelt, G.1957. Investigación de sangre de donantes mediante la reacción de fijación de complemento para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Acta Médica Venezolana*, 5: 104-107.

Manzullo, E.; Boggero, M.; Andrade, J.; Foglia, L. y Masaútis, A. 2001. “Alteraciones electrocardiográficas en jóvenes, aparentemente sanos”. “Centro de Investigaciones Epidemiológicas, Academia Nacional de Medicina” <[www.fac.org.ar/scvc/llave/PDF/manzulle.PDF](http://www.fac.org.ar/scvc/llave/PDF/manzulle.PDF)> (04/04/2011).

Mazza, S.; Montana, A.; Benítez, C. y Juzin, E. 1936. Transmisión del *Schizotrypanum cruzi* al niño por leche de la madre con enfermedad de Chagas. *Misión de Estudios de Patología Regional Argentina*, 28:42-46.

Monsalve, Y.; Mujica, M.; Silva, R.; Mirolo, M.; Álvarez, C.; Rodríguez, C.; Gil, A.; Bonfante, R.; Andrade, R.; Rea, T. y Rodríguez, R. 2004. Importancia del diagnóstico de anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* en donantes voluntarios mediante metodología recomendado por la OMS comparada con la utilizada en banco de sangre “Dr. José Jesús Boada Boada” y su relación con antecedentes epidemiológicos para la enfermedad de Chagas. Barquisimeto-Venezuela. *Boletín Médico de Postgrado*, 20(2):1-5

Monzón, A. 2002. Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en elemento de tropa del ejército de Guatemala. Trabajo de pregrado. Facultad de Medicina, Universidad Francisco Marroquín. Guatemala.

Mora, R.; Arape, I. y Maekelt, G. 1960. Estudio sobre la incidencia de la infección chagásica entre los donantes de sangre de las Fuerzas Armadas de Venezuela. *Archivos Venezolanos de Medicina Tropical y Parasitología Médica*, 3: 126-131.

Moraes, H. 1999. Chagas infection transmission control: situation of transfusional in Brazil and other countries of Latin America. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 94: 419-423

Muñoz, J.; Gómez, J.; Gállego, M.; Gimeno, F.; Treviño, B.; López, P.; Ribera, O.; Molina, L.; Sanz, S.; Pinazo, M.; Riera, C.; Posada, E.; Sanz, G.; Portús, M. y Gascon, J. 2009. Clinical profile of *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic

setting: immigration and Chagas disease in Barcelona (Spain). *Acta Trópica*, 111(1): 51-55.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2008. Informe de la secretaria. Enfermedad de Chagas: control y eliminación.

Organización Panamericana de la Salud. 2001a. Boletines epidemiológicos. Los bancos de sangre en la vigilancia en salud pública de enfermedades transmitidas por la sangre.

Organización Panamericana de Salud. 2001b. Informe de la IV Reunión de la Comisión Intergubernamental de la Iniciativa de Centro América, Ciudad de Panamá.

Penchaszadeh, V. 2002. Debate: ética de la investigación biomédica en poblaciones humanas. *Revista Cubana de Salud Pública*, 28: 2.

Pifano, F.; Maekelt, G. y Anselmi, A. 1961. Estado actual de la enfermedad de Chagas en Venezuela. *Revista Venezolana de Sanidad*, 26:17-24.

Pinto, D. 1984. Chagas disease and blood transfusion. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 79: 139-147.

Pirard, M.; Lihoshi, N.; Boelaert, M.; Basanta, P.; Lopez, F. y Van der Stuyft, P. 2005. The validity of serologic tests for *Trypanosoma cruzi* and the effectiveness of transfusional screening strategies in a hyperendemic region. *Transfusion*, 45(4): 554-561.

Ramos, A.; Monteón, V. y Reyes, P. 1993. Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre. *Salud Pública de México*, 35(1): 351-356.

Rodríguez, M.; Zabala, J.; Barrera, M.; Guzmán, E.; Ramírez, M. y Álvarez, R. 1995. Riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas por donantes de sangre. *Revista Biomédica*, 6: 70-75.

Salazar, J.; Arends, T. y Maekelt, G. 1962. Comprobación en Venezuela de la transmisión del *Schizotrypanum cruzi* por transfusión de sangre. *Archivos Venezolanos de Medicina Tropical y Parasitología Médica*, 4:355-363.

Schmunis, G. 1999. Prevention of transfusional *Trypanosoma cruzi* infection in Latin América. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 94(1): 93-101.

Schmunis, G.; Zicker, F.; Cruz, J. y Cuchi, P. 2001. Safety of blood supply for



infectious diseases in Latin American countries, 1994-1997. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 65(6): 924-930.

Schmunis, G. y Cruz, J. 2005. Safety of the blood supply in Latin América. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(1): 12-29.

Schmunis, G. 2010. “La enfermedad de Chagas y la transmisión transfusional de *Trypanosoma cruzi*: condiciones para certificar la interrupción de la transmisión”. “Programa Regional para el Control de la Enfermedad de Chagas en América Latina” <<http://chagas.zoonosis.gub.uy/Documentos/InfoConsultores/InformeGabrielSchmunis.pdf>> (24/04/2011).

Steele, L.; MacPherson, D.; Kim, J.; Keystone, J. y Gushulak, B. 2007. The seroprevalence of antibodies to *Trypanosoma cruzi* in Latin American refugees and immigrants to Canada. *Journal of Immigrant and Minority Health*, 9(1): 43-47.

Código de campo cambiado

Storino, R. y Jörg, M. 2002. La enfermedad de Chagas en el siglo XXI: consenso para una asignatura pendiente. *Revista Argentina de Cardiología*, 70(1): 15-39

Tanowitz, M.; Kirchhoff, L.; Simón, D.; Morris, S.; Weiss, L. y Wittner, M. 1992. Chagas disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 5(4): 400-419.

Torres, L.; García, Z.; Arauz, P. y Taylor, L. 2004. Prevalencia de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi* en donantes de sangre de la seguridad social. Costa Rica. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 25(3-4): 15-26.

Towbin, H.; Stachelin, T. y Sordon, J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76: 4350-4354.

Umezawa, E.; Junqueira, A. y Camargo, M. 1996. Immunoblot assay using excreted-secreted antigens of *Trypanosoma cruzi* in serodiagnosis of congenital, acute, and chronic Chagas disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(9): 2143-2147.

Vásquez, M.; Vidal, S.; Espinoza, C.; Palomo, I.; Torres, M.; Alvarado, C.; Canales, M.; Salinas, A.; Pereira, J. y Jerez, G. 1999. Utilidad de una encuesta para identificar donantes de sangre de zonas no endémicas, potencialmente infectados con *Trypanosoma cruzi*. Chile. *Parasitología al Día*, 23: 3-4

Wendel, S.; Brener, Z.; Camargo, M. y Rassi, A. 1992. Chagas' disease (American Tripanosomiasis): Its impact on transfusions and clinical medicine. *International Society Blood Transfusión*, 92: 49-80

## HOJA DE METADATOS

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

<b>Título</b>	SEROPREVALENCIA DE INFECCIÓN POR <i>Trypanosoma cruzi</i> EN BANCOS DE SANGRE PÚBLICOS DEL ESTADO SUCRE
<b>Subtítulo</b>	

#### Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
	GONZÁLEZ FAVIANNY	CVLAC
e-mail		<a href="mailto:favy025@hotmail.com">favy025@hotmail.com</a>
e-mail		
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

#### Palabras o frases claves:

<i>Trypanosoma cruzi</i>
Seroprevalencia

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
CIENCIAS	BIOANALISIS

### Resumen (abstract):

Se evaluó la seroprevalencia de anticuerpos tipo IgG anti-*Trypanosoma cruzi*, en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (Cumaná) y el banco de sangre del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” (Carúpano), estado Sucre. El total de donantes que participaron en el estudio fué de 799 individuos en edades comprendidas entre 18 a 59 años, de ambos géneros, 462 donantes pertenecientes al banco de sangre de Cumaná y 337 al banco de sangre de Carúpano. El diagnóstico serológico fue realizado mediante la prueba de ELISA, utilizando antígenos fijados de las formas epimastigotes de *T. cruzi*, por otra parte, se utilizó la técnica de Western blot (TESA-blot) como prueba confirmatoria para los sueros positivos por la técnica de ELISA. Se obtuvo una seropositividad de anticuerpos tipo IgG anti-*T. cruzi* de 0,50% (4 donantes) en el banco de sangre de Cumaná mientras que en el banco de sangre de Carúpano no se encontraron donantes positivos para la infección por *T. cruzi*. Se aplicó una encuesta para evaluar las variables epidemiológicas, de los posibles factores de riesgo asociados a la infección por *T. cruzi*, sólo dos de los cuatros donantes seropositivos afirmaron haber sido sometidos a cirugías. La prueba de ELISA aplicada en esta investigación demostró ser más sensible que la técnica comercial utilizada en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. La seroprevalencia de infección por *T. cruzi* en los dos bancos de sangre públicos evaluados en el estado Sucre es baja; no obstante, se recomienda aplicar más de una prueba serológica para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en los bancos de sangre de Venezuela.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail
<b>MARIOLGA BERRIZBEITIA</b>	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC 6119292
	e-mail <a href="mailto:mberriz@yahoo.com">mberriz@yahoo.com</a>
	e-mail
<b>JESSICCA RODRIGUEZ</b>	ROL CA <input checked="" type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC 12505363
	e-mail <a href="mailto:jnrmr@gmail.com">jnrmr@gmail.com</a>
	e-mail
<b>CHELITA HERNANDEZ</b>	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC 5681460
	e-mail <a href="mailto:figher@cantev.net">figher@cantev.net</a>
	e-mail
<b>DEL VALLE GUILARTE</b>	ROL CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC 9306352
	e-mail <a href="mailto:delquifa67@gmail.com">delquifa67@gmail.com</a>
	e-mail

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2011	10	21
------	----	----

Lenguaje: spa

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS-gonzalezf.doc	Application/Word

Alcance:

Espacial : Universal (Opcional)

Temporal: Intemporal (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio: Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente Núcleo de Sucre

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

**JUAN A. BOLANOS CUMBELE**  
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

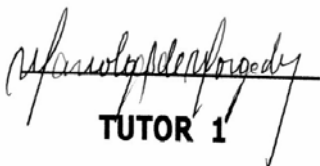
Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso –  
6/6

**Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE GRADO (vigente a partir del II semestre 2009, según comunicación CU-034-2009):**  
"los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y solo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización".



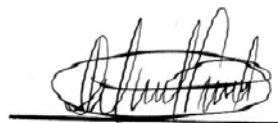
**AUTOR 1**



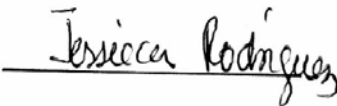
**TUTOR 1**



**JURADO 1**



**JURADO 2**



**TUTOR 2**