



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

SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN LA
POBLACIÓN RURAL DE MIRAFLORES, ESTADO MONAGAS.
ESTABILIDAD Y DIFERENCIA DE REACTIVIDAD DE
EPIMASTIGOTES FIJADOS
(Modalidad: Investigación)

GIOVANNA NATALY AGUILERA RODRÍGUEZ

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

CUMANÁ, 2008

SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN LA
POBLACIÓN RURAL DE MIRAFLORES, ESTADO MONAGAS.
ESTABILIDAD Y DIFERENCIA DE REACTIVIDAD DE
EPIMASTIGOTES FIJADOS
(Modalidad: Investigación)

APROBADO POR:

Dra. Mariolga Berrizbeitia
Asesora Académica

INDICE

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMEN.....	viii
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	10
Área de estudio.....	10
Selección de la muestra.....	10
Toma de muestra	10
Diagnóstico serológico.....	11
Estabilidad de los epimastigotes fijados (mezcla de cepas Tulahuen-Brasil).....	12
Análisis estadístico.....	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
BIBLIOGRAFÍA	28
ANEXOS	37

DEDICATORIA

A mis padres Jesús y Dorelys quienes han sido un ejemplo de lucha y perseverancia para alcanzar este objetivo.

A mis gemelas que son una bendición y excelente impulso para el logro de esta meta.

A mis hermanos Antonio, Heidy, Dore, Gaby, Salvador y Rebeca por estar a mi lado siempre.

A mi esposo Jesús Alejandro por todo su apoyo y cariño.

A mi sobrinita Camila Isabel por llenar de alegría a nuestra familia.

A quienes han compartido muy de cerca conmigo durante mis estudios Franne, Gabyth, Daniel, Edith, Candy, Sara e Inés, gracias por su amistad y apoyo.

AGRADECIMIENTO

A Dios todopoderoso y a Jesucristo dueño y señor de mi vida.

A mi asesora Dra. Mariolga Berrizbeitia quien fue pilar y base fundamental en la realización de este trabajo, gracias por su apoyo y comprensión.

Al Postgrado en Biología aplicada por toda su colaboración.

A la MSc. Jessica Rodríguez por su valiosa colaboración en la realización de esta investigación.

A tan prestigiosa casa de estudios UDO por brindarme la formación académica.

A todos aquellos que de alguna manera han estado presentes brindando su ayuda y colaboración durante los años de estudios.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Media, desviación estándar y rango de la densidad óptica de los controles positivos y negativos obtenidos en la prueba de ELISA utilizando antígenos fijados de <i>T. cruzi</i> (complejo cepas Tulahuen-Brasil) en los años 2003 y 2008.....	19
Tabla 2. Media, desviación estándar y rango de las densidades ópticas obtenidas en la determinación de anticuerpos tipo IgG anti <i>T. cruzi</i> por el método de ELISA para la mezcla de cepas Tulahuen-Brasil y RG1.	20
Tabla 3. Correlación de la densidad óptica en la prueba de ELISA y la edad de los individuos analizados utilizando diferentes cepas de <i>T. cruzi</i> en la población rural de Miraflores, estado Monagas.....	22
Tabla 4. Variables epidemiológicas relacionadas con la infección por <i>T. cruzi</i> en la población rural de Miraflores, estado Monagas.....	23

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de seropositividad para anticuerpos tipo IgG anti- <i>Trypanosoma cruzi</i> en la población rural de Miraflores, estado Monagas.	14
Figura 2. Material de construcción de la vivienda presente en la población rural de Miraflores, estado Monagas.	25

RESUMEN

Se evaluó la seroprevalencia de anticuerpos tipo IgG anti- *Trypanosoma cruzi*, en la población rural de Miraflores del municipio Acosta, estado Monagas. El grupo de participantes estuvo compuesto por 106 individuos con edades comprendidas entre 4 a 79 años, de ambos sexos. El diagnóstico serológico fue realizado mediante la prueba de ELISA utilizando antígenos fijados de las formas epimastigotes de *T. cruzi*, asimismo, se evaluó la estabilidad del antígeno utilizado y las diferencias en cuanto a la reactividad de dos cepas distintas de *T. cruzi* (complejo Tulahuen-Brasil y cepa RG1). La seropositividad de anticuerpos tipo IgG anti- *T. cruzi* fue de 2,83%. Se observó una correlación positiva entre la edad de los pacientes y la densidad óptica de la determinación de anticuerpos tipo IgG anti-*T. cruzi* presentada por la prueba de ELISA, para las dos cepas utilizadas en el estudio. La cepa Tulahuen-Brasil presentó mayor reactividad que aquella presentada por la cepa RG1. Además, los antígenos fijados (mezcla de cepas Tulahuen-Brasil) mantuvieron su estabilidad y reactividad por un período de 5 años, lo cual hace de este tipo de antígeno un excelente candidato de diagnóstico. En la zona de estudio estuvieron presentes todas las variables epidemiológicas relacionadas con la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas, lo cual indica que si no se establecen las medidas de control, podría establecerse una reemergencia de esta infección en esta región de Venezuela.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es una infección parasitaria, producida por el protozoario flagelado *Trypanosoma cruzi*, la cual es transmitida al hombre y a otros mamíferos por insectos hematófagos de la familia Triatominae (Rassi y cols., 1991). Este protozoario pertenece al reino Protista, sub-reino Protozoa, phylum Sarcomastigophora, subphylum Mastigophora, clase Zoomastigophora, orden Kinetoplastida, familia *Tripanosomatidae*, género *Trypanosoma*, subgénero *Shizotrypanum*, especie *Trypanosoma cruzi* (Goldsmith y Heyneman, 1995).

En 1909, Carlos Chagas realizando estudios sobre el paludismo en Brasil, observó gran cantidad de insectos artrópodos que infectaban las barracas y succionaban la sangre, durante la noche, de los trabajadores de las vías férreas en Lassance. Chagas descubrió un protozoario flagelado en el intestino de estos insectos (hemíptero). Al mismo tiempo, al tratar una niña de 3 años (Rita) y examinar su sangre encontró los mismos flagelados encontrados en el insecto. Posteriormente, Chagas expuso algunos primates a los posibles vectores del parásito, encontrando el protozoario en la sangre de estos animales. Este talentoso científico identificó el agente, los reservorios, los vectores y los signos y síntomas clínicos de la enfermedad que lleva su nombre (Faust y cols., 1981; Bastien, 1998).

T. cruzi presenta cuatro estadios básicos de desarrollo (epimastigote, tripomastigote metacíclico, amastigote y tripomastigote sanguíneo), estos estadios tienen dos fases; una en el vector invertebrado y otra en el hospedero mamífero. Cada estadio se diferencia entre sí según la ubicación de sus estructuras internas. El epimastigote es la forma replicativa, no infectiva para el ser humano o mamífero, y se encuentra en el vector invertebrado multiplicándose en el intestino para dar lugar a los tripomastigotes metacíclicos; esta última forma no es replicativa pero sí infectiva para el hombre u otros mamíferos. También se describe la forma amastigote que distingue *T. cruzi* de otros miembros del género, viene a ser la forma replicativa intracelular en el hospedero y tiene la capacidad de infectar a otras células alojándose en los tejidos. Por su parte, el tripomastigote sanguíneo es la forma no replicativa pero sí infectiva para el insecto vector y el mamífero, esta surge de la

diferenciación del amastigote (Becerril y Romero, 2004).

Algunos autores explican que el parásito posee un ciclo silvestre, de naturaleza zoonótica, donde el protozooario circula entre vectores y reservorios silvestres que depende de factores como el clima, altitud, humedad, disponibilidad de alimentos y ciertos ecosistemas (palmeras, cocos, troncos, pedregales) donde los vectores forman colonias; un ciclo doméstico cuyo principal reservorio es el hombre, y un ciclo peridoméstico en el que intervienen mamíferos: roedores domésticos, marsupiales, gatos, perros (Rodríguez y cols., 2004).

El ciclo biológico de *T. cruzi* se inicia cuando el vector infectado se alimenta de sangre y simultáneamente defeca sobre la piel y mucosas del mamífero, de esta manera, deposita junto con su excremento las formas infectantes del parásito, las cuales pueden penetrar al organismo por la lesión que deja el insecto al alimentarse o a través de las mucosas y la conjuntiva ocular. Una vez que atraviesan estas barreras, los parásitos se introducen en las células cercanas al sitio de penetración y se transforman en amastigotes. Las primeras células en infectar son los macrófagos, dentro de los cuales se multiplican por fisión binaria, la gran cantidad de parásitos intracelulares conllevan a la ruptura de estas células fagocíticas. Posteriormente, los parásitos regresan al torrente circulatorio pero ahora en forma de tripomastigotes, los cuales infectan gran cantidad de células del hospedero: miocitos, testículos, ovarios, tiroides, glándulas adrenales y el sistema nervioso central. El ciclo se completa cuando un triatómino se alimenta de un mamífero infectado y adquiere al parásito. A nivel del tracto digestivo del vector, el parásito se transforma en forma epimastigote y a nivel del ano en la forma infectante: tripomastigote metacíclico (Becerril y Romero, 2004).

Los insectos vectores son hematófagos de la familia *Reduviidae*, género *Triatoma*, *Rhodnius* y *Pastrongylus*. Los vectores potenciales incluyen 129 especies y 17 géneros diferentes. En Venezuela, los vectores más importantes epidemiológicamente incluyen: *Rhodnius prolixus*, *Triatoma maculata* y *Panstrongylus geniculatus*, siendo *R. prolixus* el vector mayormente implicado en la transmisión de la enfermedad por su carácter

intradomiciliario (Lent y Wygodzinsky, 1979; Borges, 2000). En los últimos años a *P. geniculatus* también se le atribuye la posible domiciliación considerándose como un vector de alto riesgo en la transmisión de la enfermedad, incluso en áreas no consideradas endémicas (Feliciangeli y cols., 2004; Carrasco y cols., 2005). Bofante y cols. (2007) sostienen que en las últimas dos décadas *P. geniculatus* está sustituyendo a *R. prolixus* como vector de la enfermedad de Chagas en Venezuela.

Se describen diversos mecanismos por medio de los cuales el hombre puede adquirir la infección, siendo la vía vectorial la más importante. Igualmente, el parásito se puede transmitir por vía placentaria, por transfusiones de sangre, transplantes de órganos y por accidentes en el laboratorio (Atías, 2004).

La patogenia de la enfermedad de Chagas es compleja, tanto, que los mecanismos lesivos de *T. cruzi* no se han establecido con certeza. Sin embargo, se conoce que el parásito evade el primer contacto con la respuesta inmunitaria ya que presenta un sistema enzimático membranal capaz de contrarrestarla. También se han descrito factores de resistencia a la infección propios del hospedero. La etiología de la enfermedad de Chagas es explicada mediante tres teorías: la primera explica un daño directo que produce el parásito al invadir a las células del hospedero provocándoles la muerte y al consiguiente proceso inflamatorio localizado. La segunda señala una teoría autoinmunitaria ya que algunas proteínas del parásito poseen epítopes compartidos con proteínas del hospedero, además se ha informado de anticuerpos que reconocen partículas proteicas propias como extrañas, así como también, la activación de un proceso inmunológico humoral y celular en contra de los órganos del hospedero; la tercera teoría explica el daño que produce el parásito en las células del sistema parasimpático que inerva los órganos afectados, puesto que hay una estimulación simpática excesiva, que a través de los años causa una lesión irreversible por sobrecarga de trabajo (Atías, 2004). El establecimiento de la enfermedad de Chagas va a depender de ciertos factores que lo determinan, entre los que figuran: la cantidad de parásitos dispuestos en el inoculo inicial, el linaje de *T. cruzi* inoculado (I, ZII, Z3 o híbridos Z1/Z3), la calidad de aislados y clones del parásito (biodema), la especificidad clonal e histotrópica en los receptores del hospedero, la reinfección y el tipo

de respuesta inmune del individuo (Coura, 2007).

La enfermedad presenta diferentes etapas: la fase aguda, la fase indeterminada y la fase crónica (Tanowitz y cols., 1992). En la fase aguda de la enfermedad de Chagas, se observan ciertas manifestaciones como: fiebre acompañada de lesiones cutáneas (chagoma de inoculación), manifestaciones oculares (signo de Romaña), linfadenopatías y alteraciones del sistema nervioso central, esta fase puede durar de 6 a 8 semanas y se presenta principalmente en niños (OMS 2002; Moncayo, 2003). La mortalidad en esta fase, varía del 10 al 15%, y por lo general, las causas del deceso son: miocarditis, meningoencefalitis, accesos febriles y complicaciones como la bronconeumonía (Botero y Restrepo, 2003). Durante la fase indeterminada, la enfermedad cursa de forma silente y los individuos infectados se caracterizan por no presentar manifestaciones clínicas, pero sí la presencia de anticuerpos específicos contra *T. cruzi* (Días y Shofield, 1999).

La fase indeterminada de esta parasitosis ocurre después del desarrollo de una respuesta inmune que provoca la disminución de la parasitemia en los órganos infectados; en este período, los mecanismos inmunológicos originan autoinmunidad y persistencia de lesiones inflamatorias que van a afectar principalmente los plexos parasimpáticos de las vísceras intestinales y el corazón (Kierszenbaum, 1999). Luego de varios años (10 a 20), se inicia la fase crónica, en esta fase entre el 20 al 35% de los individuos infectados pueden desarrollar lesiones irreversibles en el sistema nervioso autónomo, corazón, esófago, colon y en el sistema nervioso periférico (Prata, 2001; Moncayo, 2003). La principal lesión es una dilatación del músculo cardíaco e hipertrofia, llamada cardiopatía chagásica (Storino y col., 1998). Las alteraciones en el tubo digestivo, colon y esófago originan los síndromes llamados megas, cuya aparición es más frecuente en los países del cono sur: Argentina, Chile, Paraguay y Uruguay (Botero y Restrepo, 2003).

Para el diagnóstico eficaz de la enfermedad de chagas es importante la evaluación de los antecedentes epidemiológicos, la realización de estudios parasitológicos y serológicos. Una vez diagnosticada la enfermedad resulta imprescindible que se le haga un estudio básico (exploración física, electrocardiograma y ecocardiografía) para evaluar completamente al paciente y poder suministrar tratamiento, ya que todo paciente con

infección por *T. cruzi*, debe ser atendido a tiempo, a fin de retardar las complicaciones ya que en la fase crónica las probabilidades de curación son muy bajas (Acquatella, 2007; Gascón y cols., 2007).

Se han descrito varias técnicas útiles para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. En la fase aguda, debido a que existe una elevada parasitemia, generalmente, se emplea el xenodiagnóstico, hemocultivo, examen de sangre al fresco, la gota gruesa y la técnica de concentración de Strout para la observación microscópica del parásito (Maekelt, 2000). En la fase crónica, en la cual los parásitos en sangre son escasos, se utilizan métodos serológicos como hemaglutinación indirecta (HAI), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el ensayo inmunoenzimático (ELISA) entre otros (Zicker y cols., 1991; Botero y Restrepo, 1994). Se recomienda emplear tres técnicas serológicas para que el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en el laboratorio sea certero. Sin embargo, en la mayoría de los países donde la enfermedad es endémica, carecen de recursos económicos, se sugiere el empleo de al menos dos metodologías distintas con antígenos diferentes (Moraes y Bordin, 1996).

La prueba ELISA ha demostrado ser una valiosa herramienta diagnóstica detectando antígenos o anticuerpos en muchas enfermedades infecciosas. Las ventajas de esta prueba incluyen: simplicidad, sensibilidad, especificidad, automatización, además es relativamente económica y adaptable a estudios de campo. Una gran diversidad de antígenos de *T. cruzi* han sido usados para el diagnóstico como son: epimastigotes sonicados (Araujo y Guptill, 1984; Antas y cols., 2000), proteínas extraídas de las formas epimastigotes (Solana y cols., 1995), proteínas glicoconjugadas de las formas tripomastigotes (Almeida y cols., 1997), antígenos excretados/secretados de las formas tripomastigotes (Umezawa y cols., 1996; Nakasawa y cols., 2001; Umezawa y cols., 2001; Berrizbeitia y cols., 2006a). Berrizbeitia y cols. (2006b) validaron diferentes antígenos en el formato de ELISA, demostrando que las formas epimastigotes fijadas presentaron una elevada sensibilidad y especificidad, siendo estos antígenos adaptables a laboratorios de pocos recursos económicos debido a su fácil producción.

En lo que se refiere al tratamiento de la enfermedad de Chagas, se conoce que el acceso al tratamiento en las zonas rurales de América Latina es muy escaso. Sin embargo, se han empleado por más de 30 años, el benznidazole y el nifurtimox (Villa y cols., 2007). En estudios recientes se demostró el beneficio del thioridazine, sin efectos cardiotoxicos cuando es utilizado en la dosis y horario adecuado, por lo que puede considerarse un buen agente en el tratamiento de la enfermedad de Chagas en su fase crónica (Bustamante y cols., 2007).

La enfermedad de Chagas constituye un problema de salud pública en Latinoamérica donde 16 a 18 millones de personas se encuentran afectadas y la incidencia reportada es de 500 000 nuevos casos por año (OMS, 2002). Esta enfermedad presenta una problemática que excede el marco bio-psico-social, dado que involucra factores de poder político y económicos, además engloba la participación del estado, los investigadores, los médicos, los portadores y enfermos chagásicos, la sociedad, los medios de comunicación y la industria farmacéutica, para que mediante un esfuerzo conjunto exista un control real de la situación (Storino, 2000).

En Latinoamérica la enfermedad de Chagas ocupa el primer lugar entre las enfermedades tropicales y el cuarto entre las enfermedades transmisibles, representa una pérdida económica de 6,5 billones de dólares por año. La mayoría de los países que conforman Latinoamérica se han involucrado en el control de la enfermedad (Días y cols., 2002).

En México la enfermedad de Chagas es motivo de preocupación, la región de Puebla alcanza una seroprevalencia de 7,7%. Por su parte, en el estado de Veracruz se reporta una prevalencia que va de 0 a 2,8% (Segura y Escobar, 2005; Sanchez y cols., 2006). En un estudio realizado en refugiados e inmigrantes que viven en Canadá se halló una seroprevalencia de 1,0% y en donantes de sangre de América central se reporta un 4,6% de seropositividad, lo que implica alto riesgo de transmisión transfusional (Ponce y cols., 2005; Steele y cols., 2007).

Los países integrantes del cono sur (Argentina, Brasil, Bolivia, Chile, Paraguay y Uruguay) han sido bastante afectados por la enfermedad de Chagas, sin embargo, desde 1991 han establecido programas de control para la interrupción de la transmisión de la enfermedad, alcanzando reducir las cifras de infección y la tasas de infestación vectorial, en tal sentido diferentes países han sido declarados libres de transmisión vectorial de infección por *T. cruzi* como son Chile y Uruguay (Moncayo, 2003).

Se informa de un alto riesgo de transmisión activa y de invasión vectorial en zonas endémicas y no endémicas de los países que conforman la región Andina (Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela), reportándose 1,46% de seropositividad en un estudio realizado en 15 departamentos de Colombia donde 735 de un total de 50 329 niños con edades entre 0 a 14 años resultaron positivos (Guhl y Shofield, 2005). En lo que se refiere a Ecuador, se estima que 1,38% de la población general esta infectada con la enfermedad de Chagas y el riesgo de transmisión transfusional resulta elevado (3,08%), el control ha sido escaso en este país, apenas desde el 2003 fue que se consideró abordar el problema (Grijalva y col., 2003). En Perú la prevalencia es de 7,7% sobre todo en el suroeste del país, calculándose un total de 24 000 personas infectadas (Guhl, 2007).

En Venezuela, el programa nacional para el control de la enfermedad de Chagas iniciado en 1960 logró reducir sustancialmente la transmisión vectorial intradoméstica a través de diferentes intervenciones: rociamiento de insecticidas (dieldrín, hexaclorociclohexano, fenitroton), mejoramiento de las viviendas rurales y programas de educación a la población. Sin embargo, análisis de indicadores epidemiológicos en los últimos 10 años han mostrado que la transmisión no ha sido interrumpida sino por el contrario puede estar aumentando (Feliciangeli y cols., 2003; Añez y cols., 2004; Carrasco y cols., 2005).

El alerta epidemiológico sugerido por diferentes investigadores venezolanos en años recientes, se puso en evidencia cuando recientemente (diciembre, 2007) se detectó por primera vez en Venezuela contaminación oral por *T. cruzi*, en la escuela Municipal Andrés Bello (municipio Chacao, estado Miranda), en donde 121 individuos (estudiantes, personal

obrero y docente) resultaron serológicamente positivos y con manifestaciones clínicas relacionadas a la infección por *T. cruzi*, después de ingerir un jugo contaminado con las heces u orinas de vectores infectados con el parásito (MPPS, 2007; Salazar, 2007; Morales, 2008).

La enfermedad de Chagas afecta a los estratos más pobres de las comunidades rurales y la pobreza es un factor de riesgo para contraer la enfermedad así como para el desarrollo de las complicaciones. Para la década de los 90 en Venezuela se reportaron prevalencias entre el 8,3 y 9,2% (Aché y Matos., 2001). Históricamente, en el país los estados más afectados han sido Trujillo, Lara, Portuguesa y Barinas, debido a sus características geográficas. Por otra parte, los estados con mayores tasas de prevalencia para el período 1992 a 2000 fueron Carabobo (35,7%), Lara (15,8%), Anzoátegui (9,9%), Portuguesa (9,7%), Táchira (9,5%) y Cojedes (8,9%). Para el año 2000 la seroprevalencia en Venezuela alcanzó un 8,3% (OMS, 2002).

Mientras que el Ministerio de Salud y Desarrollo Social (MSDS, 2000) reporta una baja incidencia y prevalencia de esta infección en la población venezolana, diferentes trabajos sugieren una posible re-emergencia de la enfermedad de Chagas (Felicangeli y cols., 2003; Añez y cols., 2004). En un estudio realizado en el estado Lara se reportó una seroprevalencia de 6,9% observándose seropositividad en menores de 10 años (8,3%) y de 20 años (16,7%) (Bofante y cols., 2007). En un estudio realizado en 10 estados (Anzoátegui, Apure, Barinas, Cojedes, Falcón, Mérida, Monagas, Portuguesa, Trujillo y Yaracuy) durante el periodo 1995 - 2002 se reportó una prevalencia de 11,7%, donde 38 niños menores de 10 años resultaron positivos (Añez y cols., 2004). En el estado Sucre, la situación es alarmante, se reportan seroprevalencias que van desde el 5,8% hasta 25,8% para la parroquia Santa Fe y el municipio Ribero, respectivamente, siendo esta última cifra la más alta entre todas las reportadas para los diversos municipios de dicho estado, con el hallazgo de casos positivos en individuos menores de 20 años (Aguilera, 2003; Aza, 2003).

La enfermedad de Chagas es un problema de salud que afecta casi la totalidad del territorio nacional, donde se ha demostrado una posible reemergencia y transmisión activa

de la enfermedad. Por lo tanto, se consideró necesario la realización de estudios que permitan conocer la situación actual de la enfermedad de Chagas en Venezuela utilizando una técnica simple, sencilla y con una elevada sensibilidad y especificidad. Por tal motivo, en el presente trabajo de investigación se evaluó la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas, su asociación con ciertas variables epidemiológicas y se comparó el índice de reactividad entre cepas diferentes de *T. cruzi*, en una población rural del estado Monagas (Miraflores), de la cual se tuvo información de la presencia de los vectores de esta enfermedad en las áreas domiciliarias y peridomiciliarias. Asimismo, con el presente trabajo, se incorporó una nueva herramienta de diagnóstico serológico autóctona, lo cual permitió introducir una técnica propia, confiable y económica, utilizando un antígeno estable sustituyendo así a las pruebas comerciales utilizadas.

METODOLOGÍA

Área de estudio

La presente investigación se llevó a cabo durante el período enero-abril de 2008 en la población rural de Miraflores, municipio Acosta, estado Monagas, localizado a 10° 11' 19,96" de latitud norte y a 63° 37' 45,21" de longitud oeste.

Selección de la muestra

Se realizaron tres visitas a la población de Miraflores. Durante la primera visita se sensibilizó a la población, a través de un líder comunitario y la enfermera del centro poblado. Igualmente se explicaron las razones del trabajo de investigación y se establecieron las fechas para la recolección de las muestras de sangre. En la segunda y tercera visita se recolectaron las muestras de los individuos quienes voluntariamente quisieron participar en el estudio (apéndice 1).

Según la información obtenida del resumen del Censo Sanitario, centro poblado Miraflores año 2007, esta población tiene un total de 451 habitantes. Se evaluaron 106 individuos lo cual representó el 23,50% de la población.

Toma de muestra

Siguiendo las normas de ética establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para los trabajos de investigación en humanos según la declaración de Helsinki (CIOMS, 1993), se seleccionaron aleatoriamente individuos de diferentes grupos etarios y sexo quienes asistieron para la toma de muestra, en el dispensario médico de la población de Miraflores (estado Monagas). Todos los participantes del estudio firmaron un consentimiento escrito, previa información de aceptación de participación voluntaria, después de haber conocido mediante una entrevista personal con los investigadores participantes, los detalles metodológicos, beneficios, efectos adversos y los objetivos de

este estudio (apéndice 1).

Las muestras sanguíneas fueron tomadas por punción venosa previa asepsia, con jeringas de plástico desechables aguja calibre 21, recolectando a cada individuo 10 ml de sangre completa en tubos estériles sin anticoagulante. Las muestras se transportaron en hielo hasta el laboratorio, seguidamente fueron centrifugadas a 1000 g durante 10 min a temperatura ambiente para la obtención del suero sanguíneo, éste se colocó en tubos secos y estériles, conservándose a una temperatura de -70°C hasta el momento de la realización de las pruebas serológicas (Contreras, 1994).

Posteriormente, se aplicó una encuesta epidemiológica (apéndice 2) con la finalidad de evaluar los factores de riesgo que pudieran estar asociados con la seropositividad de anticuerpos anti-*T. cruzi*, en la población de estudio.

Diagnóstico serológico

Se empleó la técnica ELISA utilizando las formas epimastigotes fijados de *T. cruzi* (mezcla de dos cepas v/v: Brasil y Tulahuen, cepas de referencia), esta mezcla de cepas fue donada por el Laboratorio de Diagnóstico Serológico, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, (LDSEI). Asimismo, se utilizó la cepa RG1 (epimastigotes fijados) de *T. cruzi* (cepa autóctona), obtenida de un vector en Venezuela, donada por el Centro de Investigaciones de Ciencias de la Salud (CICS), Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente, y se siguió el procedimiento descrito por Berrizbeitia y cols. (2004).

Cada pocillo de la placa (96 pocillos) se recubrió con 100 µl de 1×10^6 epimastigotes.ml⁻¹ (fijados con formaldehído al 2%) a 4°C durante toda la noche en cámara húmeda en 1 mol.l⁻¹ de sodio carbonato a pH 9,6. Las placas fueron lavadas cuatro veces con buffer fosfato salino (PBS, pH 7,4) conteniendo 0,05% de Tween 20 (PBST). Posteriormente, las placas fueron bloqueadas por 1 h a 37°C en PBS conteniendo 5% de leche descremada y 0,1% de Tween 20 (solución bloqueadora). Seguidamente, se adicionó el suero del paciente, el cual fue diluido (1:400) en la solución bloqueadora y se incubó por

1 h a 37°C. Al cabo de este tiempo, se realizaron cuatro nuevos lavados con PBST y se incubó con una dilución óptima, en solución de bloqueo, de anti-IgG humana conjugada a peroxidasa de rábano picante a 37°C por 30 min, después de 4 nuevos lavados con PBST, se reveló la reacción con 100 µl de 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) por 15 min a temperatura ambiente y en la oscuridad. La reacción fue detenida con H₂SO₄ 1 mol.l⁻¹ (50 µl/por pocillo). Los experimentos fueron realizados por duplicados en cada placa y en diferentes días. Un “pool” de controles positivos y negativos, confirmados por tres pruebas serológicas diferentes en el Laboratorio de Inmunodiagnóstico de Chagas (Maracay, Venezuela), fueron incluidos en cada placa. Los resultados fueron aceptados sólo si el coeficiente de variación (CV) para cada placa y entre placas fué menor o igual a 15%; de otro modo las muestras fueron analizadas nuevamente. El punto de corte para esta prueba fue determinado utilizando la curva: “Receiver-operating characteristic curves”. Esta curva definió el valor de 0,400 de densidad óptica (DO) como el valor óptimo, el cual permitió la mejor discriminación entre valores positivos y negativos (Berrizbeitia y cols., 2006b).

Se realizaron las determinaciones en un lector de ELISA automático marca Biotrak II, modelo G020155160 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).

Estabilidad de los epimastigotes fijados (mezcla de cepas Tulahuen-Brasil)

La estabilidad de los antígenos epimastigotes fijados utilizados en la prueba de ELISA se realizó comparando la media de la DO de los controles positivos y controles negativos obtenida en los diferentes ensayos (prueba de ELISA) del presente trabajo de investigación con los mismos valores obtenidos en la prueba de ELISA realizada en el año 2003. Estos últimos datos fueron suministrados por el LDSEI. Los controles positivos y negativos utilizados fueron obtenidos utilizando un “pool” de 75 muestras de sueros positivos y negativos para infección por *T. cruzi*. Estas muestras fueron clasificadas por tres técnicas serológicas diferentes: IFA, HAI y ELISA en el Centro Nacional de Referencia para el Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas (Maracay).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron expresados en porcentajes y representados en forma de tablas y gráficos. La seroprevalencia de la infección por *T. cruzi* fue determinada aplicando la fórmula descrita por Gordis (2004). Se aplicó la prueba de t de student para comparar la reactividad de las cepas de *T. cruzi* utilizadas y para evaluar la estabilidad de la mezcla de cepas Tulahuen-Brasil. Igualmente, se realizó una prueba de correlación (Pearson) para asociar las densidades ópticas obtenidas en los ensayos con las edades de los individuos participantes del estudio (Wayne, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio participaron 62 de individuos del sexo masculino (58,49%) y 44 del sexo femenino (41,51%). La media de la edad de los pacientes fue de 33 ± 18 años, con un rango comprendido entre 4 y 79 años.

La información obtenida del Censo Sanitario, centro poblado Miraflores, estado Monagas, año 2007, indicó un total de 451 habitantes, de los cuales 106 individuos participaron voluntariamente en el estudio, lo cual representó el 23,50% de la población total. En la figura 1, se representa el porcentaje de individuos seropositivos y seronegativos a la infección por *T. cruzi* en la población estudiada. De los 106 individuos evaluados sólo 3 resultaron seropositivos para anticuerpos tipo IgG anti-*T. cruzi*, representando un 2,83% de seropositividad. De estos individuos 2 fueron del sexo femenino y 1 del sexo masculino. La media de la edad de los pacientes seropositivos fue 59 ± 12 años. Igualmente, dos de los pacientes seropositivos manifestaron no tener conocimiento sobre la enfermedad de Chagas pero sí conocer al vector, haberlo visto alrededor y dentro de sus casas más no haber sido picados por el insecto.

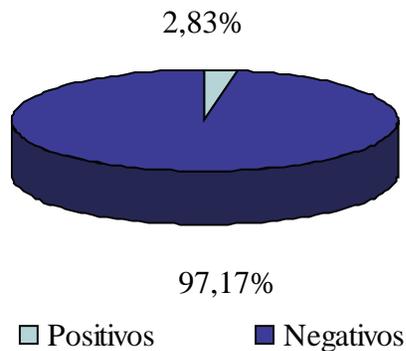


Figura 1. Porcentaje de seropositividad para anticuerpos tipo IgG anti-*Trypanosoma cruzi* en la población rural de Miraflores, estado Monagas.

Seroprevalencias similares han sido reportadas en una población endémica de Panamá (La Chorrera) en la que se informó 2,90% de seropositividad ($n = 206$) (Saldana y cols., 2005). Así también, en el estado de Veracruz, México, la seroprevalencia estuvo entre

0 y 2,80% y en el estado de Colima alcanzó el 2,40% con respectiva transmisión activa (Coll y cols., 2004; Segura y Escobar, 2005).

Estudios realizados en la región oriental de Venezuela reportaron prevalencias bajas de infección por *T. cruzi* semejantes a las encontradas en el presente trabajo. Aguilera (2003) en un estudio realizado en comunidades de Cocollar, municipio Montes, estado Sucre (n = 378) reportó una seroprevalencia de 5,82%. En el estado Anzoátegui, en la población de San Francisco, se hallaron 5 casos positivos, siendo la seroprevalencia encontrada de 5,95% (n = 84) (Millán y cols., 2006). En una investigación más amplia realizada en varios caseríos rurales del estado Anzoátegui, que incluyó el estudio epidemiológico de reservorios, vectores y humanos infectados por *T. cruzi*, se halló un alto índice de reservorios mamíferos (*Didelphis Marsupialis*) y vectores (*R. prolixus* y *P. geniculatus*) infectados con el parásito en comparación con el escaso número de humanos positivos, el cual fue de 4,5% (n = 67) mediante la técnica de xenodiagnóstico (Morocoima, 2002).

En un estudio realizado en 13 comunidades rurales del municipio Nirgua, estado Yaracuy, se reportó una seroprevalencia global de 5,6%, el estudio incluyó un grupo de niños con edades entre 5 y 10 años, siendo la seroprevalencia para los mismos de 1,6% (Loyo, 2003). Sin embargo, otros trabajos señalan seroprevalencias mayores. En los Altos de Sucre (municipio Sucre) y en diferentes localidades (Cogollal, Boquete, Medianía y 19 de Abril) del municipio Montes, la seroprevalencia para infección por *T. cruzi* fue 12,50 y 15,26%, respectivamente (Abreu, 2003; Flores, 2003).

Asimismo, en el estado Trujillo, en ocho comunidades endémicas, controladas y no colonizadas por el vector conocido (*R. prolixus*), se informó un 19,20% de seroprevalencia en los individuos adultos, mientras que en niños menores de 10 años fue de 2,80%. Igualmente fueron hallados 14 triatomíneos del género *Rhodnius sp* infectados con *T. cruzi* (Sandoval y cols., 2003). Adicionalmente, en la localidad de Caballito, municipio Simón Planas (estado Lara), la seropositividad de anticuerpos anti-*T. cruzi* fue de 24,2% donde el mayor número de casos positivos se halló en el grupo de 6 y 10 años de edad (Traviezo y

Bonfante, 2004).

Las diferencias entre las seroprevalencias en las diferentes regiones donde la presencia del vector ha sido confirmada, se puede deber al tipo de vector presente en cada comunidad, ya que de acuerdo a las características de cada género tendrán mayor o menor poder infectante. Además, el poder infectante de los vectores se puede analizar por medio de diversos factores como sus ecotopos, capacidad vectorial (según el tiempo que tarda en defecar durante o después de su ingesta de sangre), características biológicas, índices entomológicos, entre otros. Por ejemplo, en un estudio realizado en México donde se evaluaron dichos factores para tres especies de triatominos *Triatoma barberi*, *T. pallidipennis* y *T. dimidiata*, se determinó que *T. barberi*, defeca durante su alimentación, mientras que *T. pallidipennis* y *T. dimidiata* lo hacen de 10 a 20 y de 20 a 30 minutos después de iniciado el proceso, respectivamente. En cuanto al índice de infección natural e índice metaciclogénicos (que indican porcentajes de tripomastigotes metacíclicos en intestino posterior de los vectores), se halló el porcentaje más alto para *T. barberi* que para los otros dos vectores, por tanto, concluyeron que ese vector es el mejor transmisor de la infección por *T. cruzi* en México (Paz y cols., 2005).

En una investigación realizada en Chile, donde se estimó la capacidad vectorial (según número de picadas potencialmente infectantes que puede producir la población de vectores, a partir de la picada infecciosa sobre un caso índice) y la eficiencia de transmisión, creando además un nuevo estimador denominado impacto vectorial, que representa la proporción de la infección de la que es responsable un determinado vector, se obtuvo que *T. infestans* es capaz de causar la infección por *T. cruzi* en mayor proporción que *T. spinolai*, siendo necesarias 8 picadas potencialmente infectantes para producir enfermedad por parte de *T. infestans* (Canals y cols., 1993). En un estudio realizado en áreas rurales y sin control exhaustivo de vectores en la provincia de La Rioja, Argentina, se evaluó la distribución de la infección por *T. cruzi* entre las poblaciones de triatominos peridomésticos, se halló que el porcentaje de infección por *T. cruzi* fue tres veces mayor en *T. guayasana* que en *T. infestans*, concluyendo que *T. guayasana* parece implicado como un supuesto vector secundario de *T. cruzi* en los ámbitos domésticos y peridoméstico, en el

contexto de ciertos escenarios ecoepidemiológicos (Lauricella y cols., 2005).

Respecto a lo anterior, es conocido que los vectores transmisores de la enfermedad de Chagas están distribuidos en casi todo el territorio nacional, desde el nivel del mar hasta casi los 2800 metros de altitud, donde abundan en zonas xerófilas costeras, valles y depresiones, por lo que la parasitosis se muestra en forma endémica. Además en la vasta región de los llanos orientales, centrales y occidentales completan los pisos altitudinales, comprendidos entre 0 y 800 metros, con clima tropical donde *T. cruzi* prevalece (Pifano, 1960). Generalmente colonizan sitios donde albergan animales, tales como gallineras, establos, cochineras y anexos donde permanecen perros, gatos, roedores y marsupiales. Pues son lugares cuyas condiciones de temperatura y humedad relativa son apropiadas para la cópula, ovoposición, eclosión de los huevos, muda y multiplicación de los triatominos (Gorla y Schofield, 1986; Salvatella, 1994).

Según la OPS/OMS (2002), existen diversas condiciones que permiten la adaptación de un triatmino al ambiente humano, ellas dependen tanto del insecto (capacidad fisiológica, agresividad natural, duración del ciclo de vida, potencial biótico y mecanismos de protección), como del hombre (condiciones de las viviendas, nivel de educación entre otros) y del medio ambiente (clima, predadores, medio físico y oferta alimentaria).

La tabla 1 muestra la comparación de la media, desviación estándar y rango mínimo y máximo de la densidad óptica obtenida en la prueba de ELISA para el antígeno epimastigote fijado (mezcla de cepas Tulahuen-Brasil) utilizado en el año 2003 y en el año 2008. Los valores allí representados muestran poca variación en la reactividad del antígeno. Se puede evidenciar que este antígeno mantuvo su reactividad y estabilidad almacenándose a -80°C por un período de 5 años (tabla 2).

Al comparar la media de las densidades ópticas obtenidas con este antígeno tanto para los controles positivos y negativos correspondientes a los años 2003 y 2008, la prueba de t de student ($n = 75$) demostró que no hubo diferencias significativas de la densidad óptica obtenida en la determinación de anticuerpos anti-*T. cruzi*, después del almacenamiento del

antígeno por este período de tiempo ($p > 0,05$).

Tabla 1. Media, desviación estándar y rango de la densidad óptica de los controles positivos y negativos obtenidos en la prueba de ELISA utilizando antígenos fijados de *T. cruzi* (complejo cepas Tulahuen-Brasil) en los años 2003 y 2008.

Media de los controles (año)	Media (DO)	Desviación estándar	Rango (DO) Mínimo – máximo
Control positivo (2003)	2,344	0,115	2,224 – 2,487
Control positivo (2008)	2,123	0,378	1,826 - 2,377
Control negativo (2003)	0,089	0,007	0,085 – 0,099
Control negativo (2008)	0,074	0,029	0,038 – 0,099

t student controles positivos: 1,40 $p > 0,05$

t student controles negativos: 1,00 $p > 0,05$

DO: densidad óptica.

Las formas epimastigotes son las fuentes de antígenos más utilizadas en las técnicas de diagnóstico debido a la facilidad para obtenerlos masivamente en el laboratorio. Entre estos antígenos se tienen las fracciones proteicas y glicoproteicas totales o fracciones purificadas por cromatografía (Guhl, 1990; Lissaldo y cols., 1994; Pinho y cols., 1999). Para mantener la estabilidad de estos antígenos se deben conservar a bajas temperaturas y utilizar inhibidores de proteasas, de alto costo, para evitar la degradación derivada de la acción de proteasas presentes en el parásito (Campetella y cols., 1990). La mayor actividad proteolítica en las preparaciones antigénicas se debe a la acción de la cruzipaína, una endopeptidasa con estructura glicoproteica y que posee un extremo carboxiterminal altamente inmunogénico, la cual es activada por el β -mercaptoetanol e inhibida por el inhibidor de proteasa E64 (Aslund y cols., 1991). Sin embargo, en el presente estudio se utilizó un antígeno entero y completo (epimastigotes fijados), el cual tiene la ventaja de no ser digeridos por proteasas, de aquí la alta estabilidad demostrada con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

En la tabla 2 se muestra el promedio, la desviación estándar y el rango de las densidades ópticas obtenidas para las cepas diferentes de *T. cruzi* (complejo: cepas Tulahuen-Brasil y cepa RG1) empleadas en el estudio. La prueba t de student ($n = 106$) mostró diferencias significativas en cuanto a la media de la densidad óptica de la mezcla de

cepas Tulahuen-Brasil con respecto a la cepa RG1. El complejo de antígeno formado por la mezcla de cepas Tulahuen-Brasil presentó mayor reactividad evidenciado por una mayor densidad óptica en la prueba de ELISA en los resultados de los sueros analizados, que aquella presentada por la cepa RG1.

Tabla 2. Media, desviación estándar y rango de las densidades ópticas obtenidas en la determinación de anticuerpos tipo IgG anti *T. cruzi* por el método de ELISA para la mezcla de cepas Tulahuen-Brasil y RG1.

Cepas	Media (DO)	Desviación estándar	Rango Mínimo – Máximo (DO)	
Tulahuen-Brasil	0,122	0,342	0,015	2,498
RG1	0,064	0,103	0,010	0,700

Valor de t student: 2,43. Significativo ($p < 0,05$)
DO: densidad óptica.

Aunque *T. cruzi* no presenta la variabilidad antigénica de los tripanosomas africanos, diversos trabajos han demostrado variabilidad antigénica entre cepas de *T. cruzi* e inclusive entre formas evolutivas del parásito, lo cual explicaría las diferencias en cuanto a la reactividad de los antígenos utilizados para el diagnóstico (Montiel y Díaz, 2002). Bucio y cols. (1999) identificaron antígenos inmunodominantes por “Western blot” en diferentes cepas de *T. cruzi* para el serodiagnóstico de la enfermedad de Chagas, los antígenos de la cepa Tequesquitengo mostraron la mejor reactividad en los ensayos inmunoenzimáticos. Berrizbeitia y cols., (2004) encontraron diferentes reactividades de las formas evolutivas del parásito en la prueba de ELISA. El modelo estadístico lineal empleado (ANOVA), en este trabajo, mostró diferencias significativas para las reactividades de las formas evolutivas del parásito. En el grupo de controles negativos, la prueba “Tukey’s post hoc” indicó que las formas que arrojaron DO más elevadas fueron los amastigotes y epimastigotes fijados, y las DO menores para este grupo de pacientes fue dada por la forma fijada tripomastigote. Asimismo, en el grupo de pacientes clasificados como chagásicos, la media de la densidad óptica mostró igualmente diferencias significativas para las tres formas evolutivas utilizadas, siendo la más reactiva la forma epimastigote.

Se ha informado que distintas cepas de parásitos obtenidas en Sudamérica son

igualmente útiles como fuente de antígeno y que presenta un patrón antigénico similar (Rangel y cols., 1986).

En estudios previos se ha corroborado que no hay variación apreciable a la fuente de antígeno, si éste se prepara a partir de *T. cruzi* (Monteón y cols., 1993). Sin embargo, hay quienes aseguran que el uso de cepas autóctonas aumenta la sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA (Bucio y cols., 1999). Sin embargo, en la presente investigación la cepa autóctona (RG1) mostró una menor reactividad.

En otro estudio realizado en Colombia, donde se comparó la prueba de ELISA (utilizando cepas colombianas) y la prueba comercial Chagatek® (con cepa Argentina) se llegó a la conclusión, de que es probable que existan diferencias importantes en la composición antigénica de las cepas provenientes de diferentes países, debido a que la cantidad de falsos positivos y falsos negativos que obtuvieron con la prueba comercial Chagatek® fue notoria (Enciso y cols., 2004).

En la tabla 3 la correlación de Pearson mostró que existió una correlación significativa positiva entre la densidad óptica obtenida en la prueba de ELISA para el complejo de cepas Tulahuen-Brasil y RG1 y la edad de los pacientes.

Tabla 3. Correlación de la densidad óptica en la prueba de ELISA y la edad de los individuos analizados utilizando diferentes cepas de *T. cruzi* en la población rural de Miraflores, estado Monagas.

Variables	r	Significancia
Cepa Tulahuen-Brasil vs. Edad	0,248	**
Cepa RG1 vs. Edad	0,327	*

* indica correlación significativa ($p < 0,05$)

** indica correlación muy significativa ($p < 0,05$)

DO: densidad óptica.

La respuesta humoral contra *T. cruzi* se caracteriza por una respuesta a una mezcla compleja de antígenos, por lo que no es posible determinar las variaciones de las especificidades de anticuerpos en los diferentes estadios de la enfermedad: aguda, crónica e infección congénita. La producción de anticuerpos contra los diferentes determinantes antigénicos, depende del estado de la infección en que se encuentre el hospedero (Reyes y cols., 1990). Una alta respuesta inmune específica mantenida por años, sugiere un estímulo antigénico constante, por persistencia del parásito, la cual se presenta en aquellos hospedadores que han albergado el parásito por períodos de tiempo prolongados (Higuchi y cols., 1993).

En la tabla 4, se representan las variables epidemiológicas relacionadas con el riesgo de adquirir infección por *T. cruzi* en la población rural de Miraflores, estado Monagas.

Tabla 4. Variables epidemiológicas relacionadas con la infección por *T. cruzi* en la población rural de Miraflores, estado Monagas.

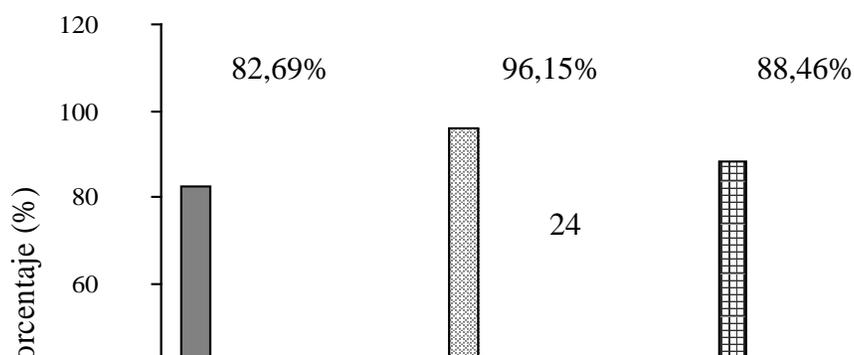
Variables epidemiológicas	Si		No	
	n	(%)	n	(%)
Picadura del vector	44	(42,31)	60	(57,69)
Conocimiento del vector	98	(94,23)	6	(5,77)
Conocimiento de la enfermedad	37	(35,58)	67	(64,42)
Vector domiciliario	89	(85,58)	15	(14,42)
Vector peridomiciliario	87	(83,65)	17	(16,35)

Los porcentajes representados en la tabla 5 fueron calculados en base a 104 individuos debido a que faltaron 2 participantes por llenar la encuesta epidemiológica. No se logró establecer la asociación estadística entre las variables epidemiológicas y la seropositividad de la enfermedad de Chagas, ya que no fue posible aplicar la prueba estadística Chi cuadrado debido a que las constantes numéricas de los datos fueron muy pequeñas a la exigida por la prueba. Sin embargo, se observó que 42,31% de los individuos de este estudio manifestaron haber sido picados por el vector (n = 44). El 94,23% de la población evaluada conocían al vector. El 64,42% de los individuos tenían poco conocimiento sobre la enfermedad de Chagas y sus consecuencias. En cuanto a la presencia del vector, se observó que la mayoría de los individuos manifestaron haberlo visto dentro (85,58%) y alrededor (83,65%) de sus viviendas (tabla 5). Igualmente, la mayoría de los pacientes de este estudio han vivido en esta región durante toda su vida (86,54%), sólo un pequeño porcentaje manifestó provenir de otros lugares, pero haber estado residenciados en Miraflores por lo menos durante los últimos 10 años (13,46%).

A pesar de que el número de seropositivos en este estudio fue bajo, no significa que hay poco riesgo de adquirir la infección por *T. cruzi*, ya que de acuerdo a lo descrito previamente existen todas las variables epidemiológicas consideradas de riesgo para la adquisición de esta parasitosis como son: poco conocimiento acerca de la enfermedad de Chagas, y lo más importante la presencia de vectores en la comunidad que se alimentan de sus habitantes. Los pobladores de la región hicieron entrega de 4 vectores cuyas

características eran similares a las de *P. geniculatus*. Todo esto conlleva a establecer que existen las condiciones para que en esta región pueda establecerse la infección por *T. cruzi* (Sanmartino y Grocco, 2000). Otros autores en Venezuela en los últimos 10 años han sugerido una posible re-emergencia de la infección por *T. cruzi* (Feliciangeli y cols., 2003; Sandoval y cols., 2003; Añez y cols., 2004; Traviezo y Bonfante., 2004; Carrasco y cols., 2005; Bonfante y cols., 2007).

En la figura 2, se muestra el tipo de vivienda que se observaron en la zona donde se realizó el estudio para diagnosticar la enfermedad de Chagas, predominaron las viviendas construidas con paredes de frizo (82,69%), techo de zinc (96,15%) y piso de cemento (88,46%), lo cual no es la vivienda característica asociada a la colonización por vectores transmisores de la infección por *T. cruzi*. Sin embargo, los individuos participantes del estudio manifestaron haber visto al vector tanto en sus viviendas (85,58%) como en las áreas peridomiciliarias (83,65%).



10,58%

3,85%

6,73%

Figura 2. Material de construcción de la vivienda presente en la población rural de Miraflores, estado Monagas.

La mayoría de las viviendas en el presente estudio no tenían las características típicas observadas en aquellas relacionadas con la infestación por triatominos. Sin embargo, ha sido demostrado que estos vectores se encuentran presentes en habitats no típicos para ellos y aún más muchos vectores considerados silvestres están domesticándose como es el caso de *P. megistus* (Barbosa y cols., 2001; Villela y cols., 2005). Algunos autores sostienen que el vector, en los últimos años, ha desarrollado una capacidad de adaptación a diferentes tipos de habitats, aparte que también se les ha encontrado en zonas urbanas (Sánchez y cols., 2006). Un ejemplo de esta situación, lo representa la presencia del vector de *T. cruzi* en la urbanización Terrazas del Ávila (Caracas) donde el insecto ha sido localizado en las aceras y la cuna de un niño de 1 mes de nacido, de esta urbanización de clase media de la región capital (Meneses, 2008).

Uno de los aspectos más importantes en la dinámica de la transmisión de la enfermedad de Chagas en el continente americano son los fenómenos evolutivos y adaptativos que han venido sufriendo los vectores selváticos y peridomiciliarios, como consecuencia de la eliminación de los vectores domiciliarios a través de los programas de fumigación y la invasión de los hábitat selváticos por el hombre.

El género *Panstrongylus* ha demostrado una gran plasticidad adaptativa y las especies consideradas selváticas como *P. geniculatus* (Valente, 1999), *P. megistus* (Forattini y cols., 1978; Piesman y cols., 1985) y *P. rufotuberculatus* (Noireau y cols., 1994) han demostrado ser capaces de adaptarse al domicilio humano. La invasión del domicilio humano por *P. geniculatus* ha sido recientemente documentada en Venezuela (Reyes y Rodríguez, 2000; Feliciangelli y cols., 2004).

Carrasco y cols. (2005) determinaron que el 71,10% de vectores recolectados (*P. geniculatus*) en Caracas y estados vecinos (Miranda y Vargas) resultaron positivos a infección por *T. cruzi*, utilizando el examen directo de las heces frescas de los triatóminos recolectados, igualmente demostraron que 41% se habían alimentado de humanos. Los vectores fueron identificados como *P. geniculatus* los cuales presentaron una tasa alta de infección por el parásito en un área que no es considerada endémica para la enfermedad de Chagas dentro del Programa Nacional de Control.

En un estudio realizado en el municipio Andrés Eloy Blanco, estado Lara, se reportó a *P. geniculatus* como triatomino colonizador predominante, lo que apunta hacia a la capacidad de adaptación del vector en un ambiente poco habitual, que pudiese ser la expresión de perturbación en los ambientes selváticos, relacionado con la deforestación y modificación de su hábitat natural, que ha llevado a menoscabar sus fuentes de alimentación, forzándolo a recurrir a fuentes alimentarias en el domicilio y peridomicilio humano (Feliciangelli y Torrealba, 1977; Coura y cols., 1994; Bofante y cols., 2007). Todos estos estudios permiten comprender porque se están observando los vectores en casas cuyas características no son aquellas típicas relacionadas a la infestación por los insectos transmisores de la infección por *T. cruzi*, como se ha demostrado en este estudio.

La enfermedad de Chagas representa un grave problema de salud que se ha venido presentando durante años, en la actualidad la reemergencia de dicha infección es un hecho palpable y llama la atención los numerosos trabajos que informan sobre la transmisión activa, ya que en casi todo el territorio nacional se encuentran casos positivos en niños. Continuar realizando estudios de seroprevalencia es de primera necesidad, de manera que aunque la tasa de seroprevalencia sea baja como se determinó en el presente estudio, al

estar los factores epidemiológicos de riesgo presentes, se debe alertar y establecer a tiempo medidas de control con la finalidad de evitar el aumento de casos positivos. Además, el control de esta enfermedad se mejora utilizando técnicas de diagnóstico confiables, seguras y estables como la utilizada en esta investigación (prueba ELISA con antígenos fijados de las formas epimastigotes de *T. cruzi*), cuyo antígeno empleado demostró ser de gran utilidad y elevada estabilidad. Por lo que puede considerarse como un aporte importante, ya que se cuenta con una prueba autóctona en la región para el diagnóstico serológico 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. y Matos, J. 2001. Interrupting Chagas disease transmission in Venezuela. *Rev Inst Med Trop*, 43: 37-43.
- Acquatella, H. 2007. Echocardiography in Chagas heart disease. *Circulation*, 115(9): 1124-1131.
- Aguilera, K. 2003. Evaluación serológica de *Trypanosoma cruzi* en las comunidades rurales de Cocollar y las Piedras de Cocollar, municipio Montes, estado Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Almeida, I.; Covas, L.; Soussumi M., y Travassos, L. 1997. A highly sensitive and specific chemiluminescent enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of active *Trypanosoma cruzi* infection. *Transfusion*, 37: 850-857.
- Antas, P.; Azevedo, E.; Luz, M.; Medrano-Mercado, N.; Chaves, A.; Vidigal, P.; Volpini, A.; Romanha, A. y Araújo, J. 2000. A reliable and specific enzyme-linked immunosorbent assay for the capture of IgM from human chagasic sera using fixed epimastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol Res*, 86: 813-820.
- Añez, N.; Crisante, G. y Rojas, A. 2004. Update on Chagas disease in Venezuela: a review. *Mem Inst Osw Cruz*, 99(8): 781-787.
- Araujo, F. y Guptill, D. 1984. Use of antigen preparations of the amastigote stage of *Trypanosoma cruzi* in the serology of Chagas disease. *Am J Trop Med Hyg*, 33: 362-371.
- Aslund, L.; Henriksson, J.; Campetella, O.; Frasc, A.; Petterson, U. y Cazzulo, J. 1991. The C-terminal extension of the major cysteine proteinase (cruzipain) from *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*, 45: 345-348.
- Atías, A. 2004. *Parasitología médica*. Publicaciones técnicas. Mediterráneo Ltda. Santiago, Chile.
- Aza, T. 2003. Evaluación seroepidemiológica del mal de Chagas en la población de San Pedro, Parroquia Santa Fé del municipio Sucre, estado Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Barbosa, S.; Soares, R.; Pires, H. y Diotaiuti, L. 2001. Experimental evidence for a demographic cline in *Panstrongylus megistus* populations. *Mem Inst Osw Cruz*, 96: 773-775.
- Bastien, J. 1998. *Chagas disease in the Americas*. The kiss of death. The University of Utah Press, Salt Lake.

Becerril, E. y Romero, C. 2004. *Parasitología médica de las moléculas a la enfermedad*. Mc Graw Hill Interamericana. México D.F.

Berrizbeitia, M.; Ndao, M.; Gottschalk, M.; Aché, A.; Vásquez, 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. *J Clin Microbiol*, 42(4): 1766-1769.

Berrizbeitia, M.; Ndao, M.; Bubis, J.; Gottschalk, M.; Aché, A.; Lacouture, S.; Medina, M. y Ward, B. 2006a. Purified excreted-secreted antigens from *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes as tools for diagnosis of Chagas disease. *J Clin Microbiol*, 44: 291-296.

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

Bonfante, C.; Amaro, A.; García, M.; Mejías, L.; Guillen, P.; García, R.; Álvarez, N.; Díaz, M.; Cárdenas, E.; Castillo, S.; Garrido, R. y Cabarcas, R. 2007. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en el municipio Andrés Bello Blanco, Lara, Venezuela: infestación triatomínica y seroprevalencia en humanos. *Cad Saúde Púb*, 23(5): 1133- 1140.

Borges, R. 2000. Aspectos epidemiológicos de la enfermedad de Chagas. *Arch Hosp Varg*, 42: 9-10.

Botero, D. y Restrepo, M. 1994. *Parasitosis humanas*. Segunda edición. Corporación para las Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia.

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

Bucio, M.; Cabrera, M.; Segura, E.; Zenteno, E. y Salazar, M. 1999. Identification of immunodominant antigens in mexican strains of *Trypanosoma cruzi*. *Immunol Invest*, 28: 257-268.

Bustamante, J.; Presti, M.; Rivarola, H.; Fernandez, A.; Enders, J.; Fretes, R. y Paglini, P. 2007. Treatment with benznidazole or thioridazine in the chronic phase of experimental Chagas disease improves cardiopathy. *Int J Antimicrob Agents*, 29(6): 733-737.

Campetella, O.; Martínez, J. y Cazzulo, J. 1990. A major cysteine proteinase is developmentally regulated in *Trypanosoma cruzi*. *FEMS Microbiol Lett*, 67: 145-150.

Canals, M.; Cattán, P. y Ehrenfeld, M. 1993. Algunas estimaciones numéricas de la importancia epidemiológica de los vectores de la enfermedad de Chagas en Chile. *Parasitología al Día*, 17(3): 79-86.

Carrasco, H.; Torrellas, A.; García, C.; Segovia, M. y Feliciangeli, M. 2005. Risk of *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) transmission by *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera, Reduviidae) in Caracas (Metropolitan District) and neighboring states, Venezuela. *Int J Parasitol*, 35(13): 1379-1384.

Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS). 1993. Pautas éticas internacionales para la investigación y experimentación biomédica en seres humanos. ISBN 92 9036 056 9. Ginebra. pp.53-56.

Coll, R.; Espinoza, F.; Maldonado, A.; Reyes, P.; Huerta, M. y Rojas, F. 2004. Active transmisión of human Chagas disease en Colima, México. *Mem Inst Osw Cruz*, 99(4): 363-368.

Contreras, V. 1994. *Elementos de apoyo para trabajar la enfermedad de Chagas*. De Impresión Elementos Editores. Caracas.

Coura, J. 2007. Chagas disease: what is known and what is needed – A background article. *Mem Inst Osw Cruz*, 102(1): 113-122.

Coura, J.; Barret, T. y Arboleda, M. 1994. Ataque de populações humanas por triatomíneos silvestres no Amazonas: uma nova forma de transmissão de infecção chagásica. *Rev Soc Bras Med Trop*, 27: 251-253.

Días, L.; Silveira, A. y Schofield, C. 2002. The impact of Chagas disease. Control in Latin America. A review. *Mem Inst Osw Cruz*, 97(5): 603-612.

Dias, J. y Schofield, C. 1999. The evolution of Chagas disease (American trypanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas discovery. *Mem. Inst. Osw Cruz*, 94 (1): 103-121.

Enciso, C.; Montilla, M.; Santacruz, M.; Nicholls, R.; Rodríguez, A.; Mercado, M. y Puerta, C. 2004. Comparación de la prueba de inmunofluorescencia indirecta, un inmunoensayo enzimático y la prueba comercial Chagatek® para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*, *Biomédica*, 24: 104-108.

Faust, E.; Russell, P. y Jung, R. 1981. *Parasitología clínica*. Primera edición. Salvat Editores. Barcelona.

Feliciangeli, D. y Torrealba, J. 1977. Observaciones sobre *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae) en su biotopo silvestre. *Bol Dir Malariol Saneam Ambient*, 17: 198-205.

Feliciangeli, M.; Campbell, C.; Martínez, D.; González, P.; Coleman, A. y Davies, C. 2003. Chagas disease control in Venezuela: lessons for the Andean region and beyond. *Trends Parasitol*, 19: 44-49.

Feliciangeli, M.; Carrasco, H.; Patterson, J.; Suárez, B.; Martínez, C. y Medina, M. 2004. Mixed domestic infestation by *Rhodnius prolixus* Stal, 1989 and *Panstrongylus geniculatus* Latreille, 1811, vector incrimination, and seroprevalence for *Trypanosoma cruzi* among inhabitants in the Guamito, Lara State, Venezuela. *Am J Trop Med Hyg*, 71(4): 501-505.

Forattini, O.; Rocha, E.; Rabello, E.; Andrade, J. y Rodríguez, V. 1978. Ecological aspects of South American trypanosomiasis. XIII. Domestic enzootic potential in an area of occurrence of *Panstrongylus megistus*, under epidemiological surveillance. *Rev Saúde Pública*, 2: 417-424.

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.

Gascón, J.; Albajar, P.; Cañas, E.; Flores, M.; Gómez, J.; Herrera, R.; Lafuente, C.; Luciardi, L.; Moncayo, A.; Molina, L.; Muñoz, J. Puente, S.; Sanz, G.; Treviño, B. y Salles, X. 2007. Diagnóstico, manejo y tratamiento de la cardiopatía chagásica crónica en áreas donde la infección por *Trypanosoma cruzi* no es endémica. *Rev Esp Cardiol*, 60(3): 285-293.

Gorla, D. y Schofield, C. 1986. Population of *T. infestans* under natural climatic condition in Argentina. *Med Vet Entomol*, 3: 179-194.

Goldsmith, R. y Heyneman, D. 1995. *Parasitología y medicina tropical*. Primera edición. Editorial el Manual Moderno. México, D.F.

Gordis, L. 2004. *Epidemiology*. Third edition. Elsevier Saunders, Philadelphia.

Guhl, F. y Schofield, C. 2005. Prioridades para el control vectorial en los países Andinos: *Rhodnius prolixus* en Colombia y Venezuela, *Triatoma dimidiata* en Colombia y Ecuador, *Rhodnius ecuadoriensis* en Ecuador y Perú. En: *Memorias primer taller internacional sobre control de la enfermedad de Chagas. Curso de diagnóstico, manejo y tratamiento de la enfermedad de Chagas*. VI Reunión de la iniciativa Andina para el control de la enfermedad de Chagas, Editorial Corcas, Bogotá, p. 245-253.

Guhl, F. 2007. Chagas disease in Andean Countries. *Mem Inst Osw Cruz*, 102(1): 29-37.

Guhl, F. 1990. Purified *Trypanosoma cruzi* specific glycoproteins for discriminative serological diagnosis of south American trypanosomiasis (Chagas' disease). *Mem Inst Osw Cruz*, 85: 531-532.

Grijalva, M.; Escalante, L.; Paredes, R.; Costales, J.; Padilla, A.; Rowland, E.; Aguilar, V. y Racines, V. 2003. Seroprevalence and risk factors for *Trypanosoma cruzi* infection in the Amazon region of Ecuador. *Am J Trop Med Hyg* 69: 380-385.

Higuchi, M.; Britto, T. y Reiss, M. 1993. Correlation between *Trypanosoma cruzi*

parasitism and myocardium, inflammatory infiltrate in human chronic chagasic myocarditis: light microscopy and immunohistochemical findings. *Cardiovascular Pathology*, 2: 101.

Kierszenbaum, F. 1999. Chagas' disease and the autoimmunity hypothesis. *Am Soc for Microbiol*, 12(2): 210-223.

Lauricella, M.; Stariolo, R. y Riarte, A. 2005. Distribución y patogenicidad de *Trypanosoma cruzi*. Aislado de poblaciones peridomésticas de *Triatoma infestans* y *Triatoma guasayana* en una zona rural del oeste argentino. *Mem Inst Osw Cruz*, 100(2): 123-129.

Lent, H. y Wygodzinsky, P. 1979. Revision of the triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vector of Chagas disease. *Bull Am Mus Nat Hist*, 163: 123-520.

Lissaldo, A.; Hoshino, S.; Umezawa, E. y Stolf, A. 1994. Alkaline soluble *Trypanosoma cruzi* epimastigote antigen (ASEA) applied to dot-Elisa. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 36: 163-166.

Loyo, Y. 2003. Seroprevalencia de *Trypanosoma cruzi*, índice de infestación de los hogares y lugares a triatóminos y factores de riesgo en comunidades rurales del municipio Nirgua, estado Yaracuy. Trabajo presentado para optar al título de Magíster. Maestría en Salud Pública. Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado." Barquisimeto.

Maekelt, A. 2000. *Programa de enseñanza. La enfermedad de Chagas*. Tomo II. Medicina tropical, facultad de Medicina. UCV.

Meneses, D. "En las faldas del Ávila fumigarán para protegerse de los chipos". El Universal, 3 de mayo de 2008. Pág. 10.

Millan, D.; Kiriakos, D.; Sánchez, E. y Santana, H. 2006. Seropositividad para la enfermedad de Chagas en una población rural del estado Anzoátegui. *Inf med*, 8(3): 119-128.

Ministerio de Salud y Desarrollo Social. (MSDS) 2000. Programa de control de la enfermedad de Chagas. Caracas.

Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS) 2007. Boletín. Guía para el diagnóstico, manejo y tratamiento de la enfermedad de Chagas en fase aguda a nivel de los establecimientos de salud. Primera edición. Caracas.

Moncayo, A. 2003. Chagas disease: current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern cone countries. *Mem Inst Osw Cruz*, 98(5): 577-591.

Monteón, V.; Ramos, E. y Reyes, P. 1993. Reactividad de sueros de pacientes chagásicos crónicos con extractos de aislamientos mexicanos de *Trypanosoma cruzi*. *Rev Biol Trop*, 41: 861-865.

Montiel, G. y Díaz, G. 2002. Respuesta inmune de las células del hospedero a la infección por *Trypanosoma cruzi*. *Rev Med Hosp Nac*, 37(1-2): 57-63.

Moraes, H. y Bordin, J. 1996. Strategies for prevention of transfusion-associated Chagas disease. *Trans Med Rev*, 10: 161-170.

Morales, M. "Médicos no descartan otros casos de Chagas en la escuela Andrés Bello". El Universal, 22 de enero de 2008. Pág. 3.

Morocoima, A. 2002. Epidemiología de *Trypanosoma cruzi* (Schizotrypanum) *cruzi* en reservorios mamíferos, vectores y humanos de caseríos rurales del estado Anzoátegui; caracterización biológica de tres aislados de este protozoario. Trabajo de Ascenso. Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad de Oriente, Anzoátegui.

Nakazawa, M.; Rosa, D.; Pereira, V.; Moura, M.; Furtado, V.; Souza, W.; Barros, M.; Abath, F. y Gomes, Y. 2001. Excretory-secretory antigens of *Trypanosoma cruzi* are potentially useful for serodiagnosis of chronic Chagas disease. *Clin Diagn Lab Immunol*, 8: 1024-1027.

Noireau, F.; Vargas, F.; Bosseno, M. y Brennière, S. 1994. Apparent trend to domesticity observed in *Panstrongylus rufotuberculatus* (Hemiptera: Reduviidae) in Bolivia. *Res Rev Parasitol*, 54: 249-250.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2002. Serie de informes técnicos. Control de la enfermedad de Chagas.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). Organización Mundial de la Salud (OMS). 2002. Taller nuevas estrategias en etapas avanzadas de control de la enfermedad de Chagas, MSP, Uruguay.

Paz, M.; Salazar, S.; Arteaga, I. y Cabrera, M. 2005. Tres especies de triatóminos y su importancia como vectores de *Trypanosoma cruzi* en México. *Medicina*, 65: 63-69.

Piesman, J.; Mota, E.; Sherlock, I. y Todd, C. 1985. *Trypanosoma cruzi*: association between seroreactivity of children and infection rates in domestic *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae). *J Med Entomol*, 22: 130-133.

Pifano, F. 1960. Algunos aspectos de la enfermedad de Chagas en Venezuela. *Med Trop Parasitol Med*, 3: 73-99.

Pinho, R.; Pedrosa, R.; Costa, P. y Castelo, L. 1999. Saliva ELISA: a method for the diagnosis of chronic Chagas' disease in endemic areas. *Acta Trop*. 72: 31-38.

Ponce, C.; Ponce, E.; Vinelli, E.; Montoya, A.; Aguilar, V.; González, A.; Zingales, B.; Rangel, R.; Levin, M.; Esfandiari, J.; Umezawa, E.; Luquetti, A. y Silveira, J. 2005. Validation of a rapid and reliable test for diagnosis of Chagas' disease by detection of

Trypanosoma cruzi specific antibodies in blood donors and patients in Central America. *J Clin Microbiol*, 43(10): 5065-5068.

Prata, A. 2001. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis*, 1: 92-100.

Rangel, R.; Comach, G.; Allende, O.; Cayama, E.; Delgado, V. y Piras, R. 1986. *Trypanosoma cruzi* polypeptide markers of epimastigotes and trypomastigotes. *Mol Biochem Parasitol*, 20: 25-32.

Rassi, A.; Trachensi, J. y Trachensi, B. 1991. Doença de Chagas. En: Veronesi, A. (ed). Rio de Janeiro, Brasil. 509-513 pp.

Reyes, M.; Lorca, M. y Muñoz P. 1990. Fetal IgG specificities against *Trypanosoma cruzi* antigens in infected newborns. *Proc Natl Acad Sci*, 87: 2846-2853.

Reyes, M. y Rodríguez, A. 2000. Domiciliation of the sylvatic Chagas disease vector *Panstrongylus geniculatus* Latreille, 1811 (Triatominae: Reduviidae) in Venezuela. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 94: 508.

Rodríguez, E.; Briceño, L.; Chiurillo, M.; Mosca, W. y Campos, Y. 2004. Tripanosomiasis: aspectos teóricos. Curso latinoamericano de enfermedades infecciosas. Instituto de Biomedicina. UCV. Caracas. Venezuela.

Salazar, B. "Presumen que brote de Mal de Chagas se produjo por alimentos". El Universal, 20 de diciembre de 2007. Pág. 13.

Saldana, A.; Samudio, F.; Miranda, A.; Herrera, L.; Saavedra, S.; Cáceres, L.; Bayard, V. y Calzada, J. 2005. Predominance of *Trypanosoma rangeli* infection in children from a Chagas disease endemic area in the west-shore of the Panama canal. *Mem Inst Osw Cruz*, 100(7): 729-731.

Salvatella, R. 1994. Perfil alimentario de *Triatoma rubrovaria* (blanchard 1843) (Hemiptera, Triatominae) en ámbitos peridomiciliarios de una localidad rural de Uruguay. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 36: 311-320.

Sánchez, C.; López, A.; Ordóñez, G.; Gómez, A.; Ramos, J.; Torres, E.; Salgado, H.; Romero, M.; Pulido, P. y Pérez, R. 2006. Clinical forms of *Trypanosoma cruzi* infected individuals in the chronic phase of Chagas disease in Puebla, México. *Mem Inst Osw Cruz*, 101(7): 733-740.

Sánchez, M.; Feliciangeli, M.; Campbell, D. y Davies, C. 2006. Could the Chagas disease elimination programme in Venezuela be compromised by reinvasion of houses by sylvatic *Rhodnius prolixus* bug populations. *Trop Med Int Health*, 11(10): 1585-1593.

Sandoval, I.; Añez, N.; Villegas, E. y Scorza, J. 2003. Persistencia de la transmisión de la

enfermedad de Chagas sin colonización por el vector conocido, en localidades controladas de Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiol*, 23(2): 166-168.

Sanmartino, M. y Crocco, L. 2000. Conocimientos sobre la enfermedad de Chagas y factores de riesgo en comunidades epidemiológicamente diferentes de Argentina. *Rev Panam Salud Pública*, 7(3): 173-178.

Segura, E. y Escobar, M. 2005. Epidemiology of Chagas disease in the state of Veracruz. *Salud pública mex*, 47(3): 201-208.

Solana, M.; Katzin, A.; Umezawa, E. y Miatello, C. 1995. High specificity of *Trypanosoma cruzi* epimastigote ribonucleoprotein as antigen in serodiagnosis of Chagas disease. *J Clin Microbiol*, 33: 1456-1460.

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. *Immigr Minor Health*, 9(1): 43-47.

Storino, R.; Auger, S.; Wojdyla, D.; Urrutia, M. y Jorge, M. 1998. Análisis descriptivo multivariado de la enfermedad de Chagas en 2 260 pacientes. *Rev Argent Cardiol*, 66: 17-39.

Storino, R. 2000. La cara oculta de la enfermedad de Chagas. *Rev Fed Arg Cardiol*, 29: 31-44.

Tanowitz, H.; Kirchhoff, L.; Simon, D.; Morris, S.; Weiss, L. y Wittner, M. 1992. Chagas disease. *Clin Microbiol Rev*, 5: 400-419.

Traviezo, L. y Bofante, R. 2004. Estudio seroepidemiológico de la enfermedad de Chagas en la localidad de Caballito, Municipio Simón Planas, Estado Lara, Venezuela. *Parasitol Latinoam*, 59(1-2): 46-50.

Umezawa, E.; Nascimento, M.; Kesper, N.; Coura, J.; Borges-Pereira, J.; Junqueira, A. y Camargo, M. 1996. Immunoblot assay using excreted-secreted antigens of *Trypanosoma cruzi* in serodiagnosis of congenital, acute, and chronic Chagas disease. *J Clin Microbiol*, 34: 2143-2147.

Umezawa, E.; Nascimento, M. y Stolf, A. 2001. Enzyme-linked immunosorbent assay with *Trypanosoma cruzi* excreted-secreted antigens (TESA-ELISA) for serodiagnosis of acute and chronic Chagas disease. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 39: 169-176.

Valente, V. 1999. Potential for domestication of *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) (Hemiptera, Reuviidae, Triatominae) in the Municipality of Muaná, Marajó Island, State of Pará, Brazil. *Mem Inst Osw Cruz*, 94: 399-400.

Villa, L.; Morote, S.; Bernal, O.; Bulla, D. y Albajar, P. 2007. Access to diagnosis and

treatment of Chagas disease infection in endemic and non-endemic countries in the XXI century. *Mem Inst Osw Cruz*, 102: 87-93.

Villela, M.; Catala, S.; Jubero, J.; Silva, I. y Días, J. 2005. Patterns of antennal sensilla of *Panstrongylus megistus* from three Brazilian states. *Mem Inst Osw Cruz*, 100: 699-702.

Wayne, D. 1999. Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences. Seventh edition. John Wiley and Sons. Toronto.

Zicker, F.; Smith, P.; Luquetti, A. y Oliveira, O. 1991. Detección de infectados por *Trypanosoma cruzi* mediante inmunofluorescencia, ELISA y hemaglutinación en sueros y eluidos de sangre seca. *Bol Sani. Panam*, 110: 489-496.

ANEXOS

APÉNDICE 1

Consentimiento de los pacientes para la participación en el estudio

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

Consentimiento válido

Bajo la supervisión académica de la Dra. Mariolga Berrizbeitia, se está realizando el Proyecto de Investigación titulado: SEROPREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS UTILIZANDO ANTÍGENOS FIJADOS DE LAS FORMAS EPIMASTIGOTES DE *Trypanosoma cruzi*, EN LA POBLACIÓN RURAL DE MIRAFLORES, ESTADO MONAGAS.

Yo :	
C.I. :	Nacionalidad:
Estado Civil	Domiciliado en:

Siendo mayor de 18 años, en uso pleno de mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente: haber sido informado (a) de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigadores de este proyecto, de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación titulado: SEROPREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS UTILIZANDO ANTÍGENOS FIJADOS DE LAS FORMAS EPIMASTIGOTES DE *Trypanosoma cruzi*, EN LA POBLACIÓN RURAL DE MIRAFLORES, ESTADO MONAGAS.

1. Tener conocimiento claro de que el objetivo antes señalado es: Evaluar la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas mediante la detección de anticuerpos anti - *Trypanosoma cruzi* en la población de Miradores, estado Monagas.
2. Conocer bien el protocolo experimental dado a conocer por el investigador, en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en: aceptar voluntariamente que mi vivienda sea inspeccionada para la búsqueda de triatomíneos transmisores de la enfermedad de Chagas.
3. Que será garantizada, por parte del equipo de investigación, la confidencialidad de mis datos personales, clínicos-epidemiológicos y de laboratorio a que tengan acceso durante el estudio.
4. Que bajo ningún concepto debo oponerme a la utilidad académica de los resultados obtenidos en la referida investigación.
5. Que mi persona no será objeto de daño alguno, ya sea físico y/o mental.
6. Que cualquiera duda que se tenga sobre la investigación puede ser respondida personalmente por el equipo evaluador.
7. Que no se me ha ofrecido ni pretendo recibir, por motivo alguno, beneficios económicos que pudiesen obtenerse de los resultados de dicha investigación.

APÉNDICE 2

Encuesta epidemiológica

Número del paciente: _____

Nombre del paciente: _____

Edad _____ Sexo F _____ M _____

1. ¿Conoce al chipo, besador, chupón?

Sí _____ No _____

2. ¿Ha sido picado por este insecto? Sí _____ No _____

3. En su vivienda ha visto al chipo, besador, chupón?

Sí _____ No _____

4. En las áreas alrededor de su domicilio ha visto al chipo, besador, chupón?

Sí _____ No _____

5. Tipo de vivienda:

Pisos

Cemento: _____ Tierra: _____ Cerámica: _____ Otros: _____

Paredes:

Adobe: _____ Lata: _____ Frizo: _____ Otros: _____

Techos:

Palmas: _____ Platabanda: _____ Lata: _____ Láminas de Zinc: _____

6. Conoce la enfermedad que transmite chipo, besador, chupón?

Sí _____ No _____

7. Ingreso familiar

1. 0 – 250 000 Bs. mensuales: _____

2. 251 000 – 500 000 Bs. mensuales : _____

3. 500 000 – 1 000 000 Bs. mensuales: _____

4. 1 000 000 – 1 500 000 Bs. mensuales: _____
5. 1 500 000 – 2 00 000 Bs. mensuales: _____
6. 2 000 000 – 2 500 000 Bs. mensuales: _____
7. 2 500 000 – 5 000 000 Bs. mensuales: _____
8. Mayor de 5 000 000 Bs. mensuales: _____

8. Ocupación:

Estudiante: _____ Maestro: _____
Agricultor: _____ Albañil: _____
Ama de casa: _____ Desempleado: _____
Empleado: _____ Otro: _____

9. Grado de instrucción:

Analfabeta: _____
Primaria: _____
Secundaria: _____
Universidad: _____
TSU: _____
Postgrado: _____
PhD: _____

9. Procedencia:

Siempre ha vivido en la región: Sí _____ No _____

Lugar de procedencia en los últimos 10 años _____

Hoja de Metadatos

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR <i>Trypanosoma cruzi</i> EN LA POBLACIÓN RURAL DE MIRAFLORES, ESTADO MONAGAS. ESTABILIDAD Y DIFERENCIA DE REACTIVIDAD DE EPIMASTIGOTES FIJADOS (Modalidad: Investigación)
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Giovanna Nataly Aguilera Rodríguez	CVLAC	17.418.773
	e-mail	Yoa20@hotmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	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 – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias	Artículo I. Artículo II. Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se evaluó la seroprevalencia de anticuerpos tipo IgG anti- *Trypanosoma cruzi*, en la población rural de Miraflores del municipio Acosta, estado Monagas. El grupo de participantes estuvo compuesto por 106 individuos con edades comprendidas entre 4 a 79 años, de ambos sexos. El diagnóstico serológico fue realizado mediante la prueba de ELISA utilizando antígenos fijados de las formas epimastigotes de *T. cruzi*, asimismo, se evaluó la estabilidad del antígeno utilizado y las diferencias en cuanto a la reactividad de dos cepas distintas de *T. cruzi* (complejo Tulahuen-Brasil y cepa RG1). La seropositividad de anticuerpos tipo IgG anti- *T. cruzi* fue de 2,83%. Se observó una correlación positiva entre la edad de los pacientes y la densidad óptica de la determinación de anticuerpos tipo IgG anti-*T. cruzi* presentada por la prueba de ELISA, para las dos cepas utilizadas en el estudio. La cepa Tulahuen-Brasil presentó mayor reactividad que aquella presentada por la cepa RG1. Además, los antígenos fijados (mezcla de cepas Tulahuen-Brasil) mantuvieron su estabilidad y reactividad por un período de 5 años, lo cual hace de este tipo de antígeno un excelente candidato de diagnóstico. En la zona de estudio estuvieron presentes todas las variables epidemiológicas relacionadas con la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas, lo cual indica que sí no se establecen las medidas de control, podría establecerse una reemergencia de esta infección en esta región de Venezuela.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail				
Mariolga Berrizbeitia	ROL	CA <input type="checkbox"/>	AS <input checked="" type="checkbox"/>	TU <input type="checkbox"/>	JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC				
	e-mail				
	e-mail				
Del Valle Guilarte	ROL	CA <input type="checkbox"/>	AS <input type="checkbox"/>	TU <input type="checkbox"/>	JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC				
	e-mail				
	e-mail				
Lourdes Figuera	ROL	CA <input type="checkbox"/>	AS <input type="checkbox"/>	TU <input type="checkbox"/>	JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC				
	e-mail				
	e-mail				
	ROL	CA <input type="checkbox"/>	AS <input type="checkbox"/>	TU <input type="checkbox"/>	JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC				
	e-mail				
	e-mail				

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2008	08	04

Lenguaje: SPA Hoja de Metadatos para Tesis y
Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo M I M E
Tesis_GNAR.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

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	Ser prevalencia de la infección por <i>trypanosoma cruzi</i> en la población rural de Miraflores, estado Monagas. Estabilidad y diferencia de reactividad de Epimastigotes fijados (modalidad: investigación)
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
	Giovanna Nataly Aguilera Rodríguez	CVLAC
e-mail		Yoa20@hotmail.com
e-mail		
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	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 – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias	Artículo III. Artículo IV. Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se evaluó la seroprevalencia de anticuerpos tipo IgG anti- *Trypanosoma cruzi*, en la población rural de Miraflores del municipio Acosta, estado Monagas. El grupo de participantes estuvo compuesto por 106 individuos con edades comprendidas entre 4 a 79 años, de ambos sexos. El diagnóstico serológico fue realizado mediante la prueba de ELISA utilizando antígenos fijados de las formas epimastigotes de *T. cruzi*, asimismo, se evaluó la estabilidad del antígeno utilizado y las diferencias en cuanto a la reactividad de dos cepas distintas de *T. cruzi* (complejo Tulahuen-Brasil y cepa RG1). La seropositividad de anticuerpos tipo IgG anti- *T. cruzi* fue de 2,83%. Se observó una correlación positiva entre la edad de los pacientes y la densidad óptica de la determinación de anticuerpos tipo IgG anti-*T. cruzi* presentada por la prueba de ELISA, para las dos cepas utilizadas en el estudio. La cepa Tulahuen-Brasil presentó mayor reactividad que aquella presentada por la cepa RG1. Además, los antígenos fijados (mezcla de cepas Tulahuen-Brasil) mantuvieron su estabilidad y reactividad por un período de 5 años, lo cual hace de este tipo de antígeno un excelente candidato de diagnóstico. En la zona de estudio estuvieron presentes todas las variables epidemiológicas relacionadas con la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas, lo cual indica que sí no se establecen las medidas de control, podría establecerse una reemergencia de esta infección en esta región de Venezuela.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Mariolga Berrizbeitia	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
Del Valle Guilarte	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
Lourdes Figuera	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2008	08	04

Lenguaje: SPA

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_GNAR.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 – 5/5

Derechos:

Los autores nos reservamos los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales. Solo damos el derecho de publicar el resumen de dicho trabajo.



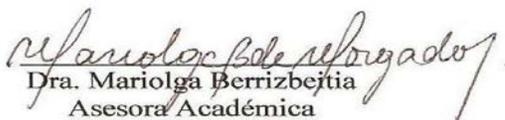
Br. Giovanna Aguilera



Del Valle Guilarte
Jurado 1



Lourdes Figuera
Jurado 2



Dra. Mariolga Berrizbeitia
Asesora Académica

POR LA SUBCOMISION DE TESIS:

