

---

---

## **Diagnóstico confirmatorio de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en donantes referidos por bancos de sangre en Venezuela.**

Zoraida Díaz-Bello, Reinaldo Zavala-Jaspe, María Díaz-Villalobos, Luciano Mauriello, Alberto Maekelt y Belkisyolé Alarcón de Noya.

Sección de Inmunología, Instituto de Medicina Tropical, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*, Enfermedad de Chagas, donantes, diagnóstico, bancos de sangre.

**Resumen.** Con el objetivo de establecer el diagnóstico confirmatorio para *Trypanosoma cruzi* se realizaron al menos dos pruebas inmunoserológicas (ELISA, Reacción de Hemoaglutinación Indirecta, RHI, o Reacción de Fijación de Complemento, RFC) a donantes provenientes de bancos de sangre de centros asistenciales públicos y privados de Venezuela que acudieron durante 48 meses entre los años 1997-1998 y 2003-2004 a la Sección de Inmunología del Instituto de Medicina Tropical en Caracas, Venezuela. Se evaluaron 254 donantes referidos de diferentes bancos de sangre por presentar anticuerpos anti-*T. cruzi* en pruebas de despistaje. Se confirmó la presencia de anticuerpos en 129/254 (50,79%) de los individuos por las técnicas de ELISA-IgG o RHI y RFC. El "xenodiagnóstico artificial" fue positivo en 10/118 (8,5%) personas con serología positiva. De 129 donantes encontrados reactivos por técnicas serológicas, 68 eran residentes de la región capital y 61 del interior del país. Así mismo, 113 nacieron en el interior del país, 8 en Caracas y 8 en Colombia. En 12 individuos confirmados serológicamente se constató la donación de sangre en mínimo 4 ocasiones antes de detectar la infección. El presente estudio resalta la importancia de la búsqueda activa de individuos con Enfermedad de Chagas a través de la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* en la evaluación integral de donantes de sangre para descartar el riesgo de transmisión a otras personas. Muchos de estos donantes con anticuerpos anti-*T. cruzi*, la gran mayoría clínicamente asintomáticos, habían donado sangre en varias ocasiones previas al diagnóstico.

## **A confirmatory diagnosis of antibodies anti-*Trypanosoma cruzi* in donors referred by blood banks in Venezuela.**

*Invest Clin* 2008; 49(2):141 - 150

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*, Chagas disease, donors, diagnosis, blood bank.

**Abstract.** To establish the confirmatory diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection, at least two immunoserological tests (ELISA, Indirect hamagglutination, IH, Complement Fixation Test, CFT) were carried out in 254 donors, from public and private blood banks of Venezuela, during 48 months between 1997-1998 and 2003-2004, referred to the Immunology Section of the Tropical Medicine Institute in Caracas. Antibodies anti-*T. cruzi* were detected in 129/254 (50,79%) by ELISA-IgG or IH and CFT. The "artificial xenodiagnosis" was positive in 10/118 persons with positive confirmed serology. Of 129 donors found positive by the serological tests, 68 were living in the capital region and 61 in the interior of the country. Likewise 113 were born in the interior of the country, 8 in Caracas and 8 in Colombia. Of them, 12 individuals serologically confirmed declared to have donated blood in a minimum of 4 occasions before diagnosis. The present study emphasizes the importance of detection of antibodies against *T. cruzi* in the integral evaluation of blood donors, since many of them with antibodies anti-*T. cruzi*, have donated blood several times previous to diagnosis.

*Recibido: 07-12-2006. Aceptado: 26-07-2007.*

### **INTRODUCCIÓN**

*Trypanosoma cruzi*, el agente etiológico de la tripanosomiasis americana en humanos, fue descrito por primera vez en Brasil en 1909 por Carlos Chagas. En 1919, Tejera-París realiza la comprobación parasitológica de la Enfermedad de Chagas (ECh) en Venezuela, tanto en el vector como en el humano (1, 2). La tripanosomiasis americana se caracteriza por ser una enfermedad tropical del medio rural en América Latina, donde es un grave problema de salud pública por su carácter de evolución crónica (3). Hoy en día la ECh, ha recobrado importancia debido al aumento de la migración de individuos de áreas endémicas latinoamericanas a las grandes ciudades del mundo (4).

Se estima que entre 16-18 millones de personas están infectadas por el parásito

(5). El impacto médico y social de esta enfermedad en América Latina es muy alto, las pérdidas económicas anuales son millonarias pues induce incapacidad física del trabajador, cuando éste se encuentra en la edad productiva de su vida (3).

En Venezuela, los territorios con mayor prevalencia se ubican en las regiones del occidente y centro del país, en los cuales se ha reportado una seroprevalencia de 9,2%, estimándose que la población en riesgo de infección es de 4.000.000 de individuos (6).

En condiciones naturales, el mecanismo más importante de transmisión de *T. cruzi* a humanos y otros mamíferos es a través de las deyecciones de los triatominos infectados. En 1936, se menciona por primera vez la posibilidad de transmitir *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre (7).

Desde la década de 1950 cuando se inicia la campaña de control de la ECh, basada en la interrupción de la transmisión vectorial combinando la vigilancia entomo-epidemiológica, el uso de insecticidas y la modificación de la vivienda rural, las transfusiones de sangre pasaron a tener mayor importancia en la transmisión de la infección en áreas urbanas, debido a la extensa migración de residentes de áreas endémicas a las ciudades, donde la infección post-transfusión proviene de casos crónicos, asintomáticos y sin control serológico previo (6, 8).

En 1957, Maekelt reporta por primera vez en Venezuela el peligro de la transmisión de la infección chagásica por transfusión de sangre, encontrando 12% de seropositivos en 449 donantes del Banco de Sangre de Valencia, estado Carabobo (9). Receptores adultos recibieron de estos donantes seropositivos hasta dos transfusiones de 200 a 400 mL y niños hasta 100 mL de sangre. En dos de estos niños, el xenodiagnóstico resultó positivo después de la transfusión y fue difícil excluir con seguridad una infección previa con *T. cruzi*, ya que ambos niños provenían de zonas chagásicas endémicas (9). En 1960, Marquez y col. reportaron en 1650 soldados donantes procedentes del Banco de Sangre de las Fuerzas Armadas de Venezuela una seropositividad chagásica de 8,2% (10). Pifano y col. en 1961, estimaron que entre 3,5 y 5% de los donantes de sangre en Venezuela eran portadores de anticuerpos contra *T. cruzi* (11). En 1962, Salazar y col. comprueban la transmisión de *T. cruzi* por transfusiones de sangre, al confirmar 3 casos de infección post-transfusión (12).

El presente trabajo tiene como objetivo confirmar el diagnóstico serológico y de ser posible la infección por *T. cruzi* en un grupo de donantes de sangre voluntarios que acudieron, a la Sección de Inmunología del Instituto de Medicina Tropical (IMT), para corroborar el diagnóstico de Chagas

reportado en los bancos de sangre de centros asistenciales públicos y privados de Venezuela. Así mismo, se resalta la importancia del diagnóstico en los bancos de sangre por la posibilidad real de desarrollar en el receptor de sangre, una infección por *T. cruzi*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Pacientes

El estudio se realizó en individuos referidos por bancos de sangre sin distinción de edad o sexo entre los años 1997-1998 y 2003-2004, por presentar serologías reactivas a la prueba de Reacción de Fijación de Complemento (RFC) o ELISA. Se registró información sobre edad, sexo, procedencia, lugar de nacimiento, antecedentes epidemiológicos y presencia de características clínicas sugestiva de la ECh.

### Muestras biológicas

De cada donante se obtuvo una muestra de 5 mL de sangre por punción venosa según la Declaración de Helsinki de 1975. Las muestras fueron centrifugadas a  $1000 \times g$  por 20 minutos a 4°C. Los sueros fueron repartidos en dos alícuotas y almacenados a -20°C hasta su utilización.

A todas las muestras de suero se les practicó al menos dos pruebas inmunoserológicas para determinar la presencia de anticuerpos a *T. cruzi*. Además a aquellos individuos menores de 60 años que resultaron positivos a las pruebas inmunoserológicas se les realizó la prueba de "Xenodiagnóstico artificial", modificada por Maekelt en 1964, para la confirmación parasitológica de la tripanosomiasis, para lo cual se extrajo una nueva muestra de sangre (13).

### Antígeno

Para todos los ensayos inmunoserológicos se utilizó como antígeno un extracto total de epimastigotes, deslipidizado y liofil-

zado (14-15). La concentración de proteínas del antígeno fue de 0,67 mg/mL, según el método de Bradford (16).

#### **Ensayo inmunoenzimático (ELISA)**

La técnica ELISA se realizó según el método de Voller y col. (17). El antígeno se fijó a la fase sólida (placas de 96 pozos Immulon II, Dynatech Immulon) a una concentración de 10 µg/mL en solución fosfato salino (PBS) pH 7,2, durante toda la noche a 4°C. Los sueros fueron diluidos 1:100 en PBS-leche descremada al 5%-Tween 20 al 0,05% y la anti-IgG humana conjugada a fosfatasa alcalina (Sigma Chemical) fue diluida 1:1000. La reacción fue revelada por la adición de para-nitrofenilfosfato (Sigma Chemical) en buffer dietanolamina pH 10 y leída a 405 nm, en un lector de placas de ELISA (Spectra Classic, Tecan).

#### **Reacción de Hemoaglutinación Indirecta (RHI)**

Para la reacción de hemoaglutinación indirecta se siguió el método descrito por Jacob y Lunde (18) con modificaciones. Glóbulos rojos de carnero fueron tratados con ácido tánico y sensibilizados con antígeno de epimastigotes de *T. cruzi*. Los glóbulos rojos tanizados y sensibilizados al 1%, fueron añadidos a diluciones seriadas de los sueros, agitados y dejados en reposo durante 16 horas a temperatura ambiente hasta la lectura de los resultados.

#### **Reacción de Fijación de Complemento (RFC)**

La reacción de Fijación de Complemento fue realizada según el método de Machado y Guerreiro (19). Esta reacción consta de dos etapas. En la primera se coloca el antígeno, el anticuerpo (inactivado a 56°C por 30 minutos) y el complemento, los cuales se dejan en incubación por 16 horas a 4°C. Para revelar la reacción se añade a cada tubo 0,2 mL de una suspen-

sión de glóbulos rojos de carnero al 5% y hemolisina diluida 1:1000. Luego se incubó en baño de María a 37°C por 15 min, se centrifugó a 1000 × g durante 4 min y se leen los resultados.

#### **Xenodiagnóstico artificial**

Veinte mililitros de sangre venosa del paciente, se colocaron en un recipiente de vidrio, el cual contenía citrato de sodio al 3,8%. Este recipiente fue cubierto con una membrana de diálisis y se dispuso boca abajo sobre el envase contentivo de los chipos, para permitir que éstos se alimentarán de la sangre por 4 horas a 37°C (13). Para este ensayo se utilizaron entre 20 y 30 ninfas del estado 4 de *Rhodnius prolixus*. Después de 4-6 semanas, se examinó el contenido intestinal del insecto al microscopio de luz, para buscar tripomastigotes de *Trypanosoma* vivos, los cuales fueron posteriormente inoculados en ratones para identificar la especie.

### **RESULTADOS**

La Tabla I muestra el total de individuos (3.914) que asistieron a la Sección de Inmunología para el descarte de la infección por *T. cruzi* durante los años estudiados. Se observa que 6,49% (intervalo de confianza de 95%, IC: 5,7-7,3), fueron referidos por los bancos de sangre por presentar resultados reactivos para anticuerpos anti-*T. cruzi* por RFC o ELISA utilizada habitualmente en estos centros.

Como se puede observar en la Tabla II, de los 254 donantes con edades comprendidas entre los 18 y 89 años a quienes se realizó el diagnóstico serológico de la infección durante los años estudiados, 129 (50,79%, IC:44,6-56,9) resultaron positivos para anticuerpos anti-*T. cruzi* por las técnicas ELISA-IgG o RHI y RFC. De estas personas se les practicó "Xenodiagnóstico artificial" a 118 sujetos menores de 60 años, confirmándose la presencia de *T. cruzi* en 10 casos, lo

**TABLA I**  
INDIVIDUOS CONSULTANTES PARA EL DIAGNÓSTICO DE CHAGAS  
A LA SECCIÓN DE INMUNOLOGÍA DEL IMT DURANTE LOS AÑOS 1997-1998/2003-2004

Año	Total de pacientes/año	Pacientes Referidos por Bancos de Sangre (%)	IC (z = 95%)
1997	870	55 (6,3)	4,7-7,9
1998	697	52 (7,5)	5,5-9,4
2003	1172	87 (7,4)	5,9-8,9
2004	1175	60 (5,1)	3,8-6,4
Total	3914	254 (6,5)	5,7-7,3

IC: Intervalos de Confianza.

**TABLA II**  
DIAGNÓSTICO CONFIRMATORIO DE INDIVIDUOS REFERIDOS POR BANCO DE SANGRE  
EN LOS AÑOS 1997-1998/2003-2004 AL INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL

Año	Referidos Bancos de Sangre	Seropositivos ELISA o RHI/RFC (%)	IC (z = 95%)
1997	55	29 (52,73)	39,5-65,9
1998	52	27 (51,92)	38,3-65,5
2003	87	38 (43,68)	33,3-54,1
2004	60	35 (58,33)	45,9-70,8
Total	254	129 (50,79)	44,6-56,9

Elisa: Ensayo inmunoenzimático. RHI: Reacción de hemoaglutinación indirecta. RFC: Reacción de fijación de complemento.

cual representó 8,5% (IC: 3,45-13,5) de positividad por xenodiagnóstico.

En la Tabla III, se presenta el número de seropositivos a *T. cruzi* procedentes de la capital y del interior del país, así como los lugares de nacimiento. De los 129 donantes confirmados por las técnicas serológicas, 68 provenían de la región capital y 61 del interior del país. Así mismo, 113 nacidos en el interior del país, 8 en Caracas y 8 en Colombia. De estos 129 donantes a quienes se les confirmó serológicamente la infección por *T. cruzi*, al menos 12 individuos manifestaron haber donado sangre un mínimo de 4 ocasiones antes de detectar la infección.

De los 10 casos a quienes se confirmó la presencia de *T. cruzi*, cuatro eran menores de 30 años y seis tenían más de 35 años.

Así mismo, 3 procedían del interior de país (Anzoátegui, Miranda y Guárico) y 7 del Distrito Capital. Ocho de los pacientes con confirmación parasitológica nacieron en ciudades del interior del país, específicamente en los estados Táchira, Trujillo, Guárico, Barinas, Anzoátegui y Miranda; uno en el Distrito Capital y uno en Colombia, como puede apreciarse en la Tabla IV.

La Fig. 1 muestra la distribución por sexo y grupo de edad de donantes seropositivos para *T. cruzi* en el IMT en los años 1997-1998/2003-2004. No se apreció diferencia estadísticamente significativa entre el número de donantes masculinos (n = 83) y femeninos (n = 46) que resultaron seropositivos para *T. cruzi*. El porcentaje de individuos del sexo masculino fue 64,3%

**TABLA III**  
 DONANTES SEROPOSITIVOS PARA *T. cruzi*  
 SEGÚN LA REGIÓN GEOGRÁFICA  
 DE NACIMIENTO Y PROCEDENCIA  
 EN LOS AÑOS 1997-1998/2003 Y 2004

Estados	Lugar de nacimiento	Procedencia
Anzoátegui	7	3
Apure	1	2
Aragua	1	6
Barinas	8	0
Bolívar	0	1
Carabobo	3	0
Dtto. Capital	8	68
Falcón	1	0
Guárico	6	3
Lara	11	0
Mérida	9	16
Miranda	10	21
Monagas	0	0
Portuguesa	5	1
Sucre	9	1
Táchira	21	0
Trujillo	15	2
Vargas	0	5
Yaracuy	2	0
Zulia	4	0
Colombia	8	0
Total	129	129

(IC: 72,0-55,8), situándose el mayor porcentaje de donantes seropositivos en el grupo de edad entre los 40 y 59 años.

### DISCUSIÓN

La Enfermedad de Chagas sigue siendo un problema sanitario, médico y social muy importante en América Latina. Las dificul-

tades económicas y otros eventos socio-políticos en Latinoamérica han estimulado la migración de personas desde áreas rurales hacia áreas urbanas, aumentando la posibilidad de adquirir *T. cruzi* por transfusión de sangre en las ciudades. El problema se ha extendido a países desarrollados a causa del incremento de inmigrantes latinoamericanos.

La aplicación de programas de control sobre los vectores ha permitido que el mecanismo de transmisión transfusional ocupe el segundo lugar más importante de transmisión de la Enfermedad de Chagas (20). El riesgo de infección después de la transfusión de una unidad de sangre infectada con *T. cruzi*, depende principalmente de la cantidad de sangre transfundida, la concentración del parásito en la unidad de sangre transfundida y del estado inmunológico del receptor. Desde hace muchos años, una de las estrategias empleadas para evitar la transmisión por transfusiones de sangre, ha sido la evaluación por pruebas serológicas para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* de la sangre donada. Así mismo, se ha utilizado un cuestionario pre-donación, pero debido a que la infección por *T. cruzi* tiene un tiempo de vida largo y muchas personas infectadas son asintomáticas, la identificación de donantes de sangre de alto riesgo por un cuestionario pre-donación no es confiable. Aún así, en países Latinoamericanos, la probabilidad de ser infectado al recibir una unidad de transfusión infectada con *T. cruzi* se ha estimado en alrededor de 20% (21). En 1991, durante el encuentro del Programa Iniciativa del Cono Sur, se definieron los parámetros para el control serológico pre-transfusional en todos los países de América Latina y en el cual se especificó que para el diagnóstico se deben utilizar al menos dos métodos serológicos con principios diferentes (22) con el fin de disminuir el riesgo de transmisión ya que utilizar diferentes métodos aumenta la probabi-

**TABLA IV**  
 DATOS EPIDEMIOLÓGICOS DE LOS DONANTES SEROPOSITIVOS COMPROBADOS  
 PARASITOLÓGICAMENTE POR XENODIAGNÓSTICO PARA *T. cruzi*

Caso	Edad	Sexo	Lugar de nacimiento	Procedencia
1	22	M	Táchira	Dtto Capital
2	23	F	Táchira	Dtto Capital
3	25	F	Táchira	Miranda
4	28	M	Anzoátegui	Dtto. Capital
5	36	M	Barinas	Dtto. Capital
6	43	M	Colombia	Dtto Capital
7	47	M	Dtto. Capital	Guárico
8	48	M	Miranda	Anzoátegui
9	51	M	Trujillo	Dtto Capital
10	57	M	Guárico	Dtto Capital

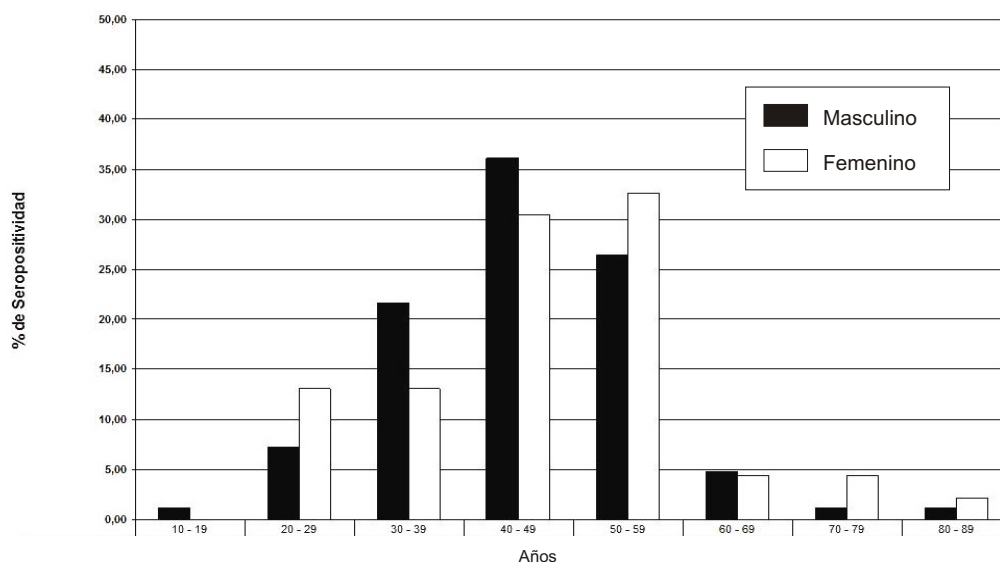


Fig. 1. Distribución por sexo y grupo de edad de donantes seropositivos para *T. cruzi* en IMT en los años 1997-1998/2003-2004 (n = 129).

alidad del diagnóstico. Debido a que antígenos de *T. cruzi* son compartidos por otros parásitos, el diagnóstico serológico de la infección por *T. cruzi* es complejo tanto por resultados falsos positivos como por falsos negativos.

Aunque sensibles, las técnicas disponibles para el serodiagnóstico de la infección por *T. cruzi* no son 100% específicas y debi-

do a que no existe ningún método “patrón oro”, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la realización de tres pruebas serológicas para la determinación de anticuerpos anti-*T. cruzi* (23). Por lo general, los bancos de sangre utilizan una sola prueba diagnóstica para determinar si un donante va a ser aceptado o no. De los donantes que asistieron a la Sección de inmu-

nología del Instituto de Medicina Tropical, para confirmar el resultado positivo del banco de sangre que los remite, se les ratificó el resultado positivo al 50,79% (IC: 44,6-56,9). Desconocemos los ensayos practicados a las personas que nos fueron remitidas, pero en todo caso se aprecia que 49,21% (IC: 43,1-55,4) resultaron falsos positivos puesto que no fueron confirmados por al menos dos pruebas que les fueron practicadas. Como quiera que en los bancos de sangre no realizan más de una prueba, es preferible remitir todos los positivos a un centro de referencia para practicar la confirmación.

De los comprobados serológicamente, se encontró *T. cruzi* en la circulación en 8,5% por xenodiagnóstico. Probablemente el número de personas con parásitos circulando sea mayor debido a la conocida baja sensibilidad del xenodiagnóstico (24-27). El mayor número de los donantes que asistieron para confirmar la infección, se encontraba en edades comprendidas entre los 40 y 59 años, con antecedentes de riesgo de infección por *T. cruzi* y en algunos casos con familiares con Enfermedad de Chagas. Esta situación aumenta el riesgo de infección transfusional a los receptores puesto que los pacientes crónicos de Chagas se ubican en este grupo de edad (28).

La mayoría de los donantes de sangre que acudieron a nuestra consulta, desconocían su condición de infectados por lo que tenían años donando sangre. Es preocupante el hecho de que varios de los donantes voluntarios, con demostración parasitológica, manifestaron haber donado sangre en varias ocasiones, algunos hasta por más de 7 años antes de la confirmación de su infección por *T. cruzi*, probablemente debido a la baja sensibilidad que se obtiene cuando se utiliza una sola prueba diagnóstica.

En toda Latinoamérica se han realizado estudios de prevalencia de la infección por *T. cruzi* en donantes de sangre. En México, determinaron que de 128 donantes

del banco de sangre de la ciudad de Cuernavaca, 7% fueron positivos y además habían donado previamente de 1 a 4 ocasiones (29). En Chile, la prevalencia de Chagas en los bancos de sangre de un Hospital público es de 1,2% (30). En donantes del Banco de Sangre en Quito se observa una seropositividad de 0,13% en personas provenientes de un área endémica y de dos áreas consideradas como no endémicas para la Enfermedad de Chagas (31). Venezuela se encuentra entre los países que realiza la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* al 100% de los donantes en los diferentes bancos de sangre con una prevalencia de menos de 1% anual, por lo que es uno de los países cuyos receptores de sangre tienen el menor riesgo de infección cuando se compara con otros países Latinoamericanos (6, 8).

Es importante hacer un seguimiento continuo y riguroso en los bancos de sangre, donde se evalúen las técnicas de laboratorio y los antígenos empleados para el despistaje de la infección por *T. cruzi*, especialmente por los resultados falsos negativos que serían un factor de riesgo para la transmisión transfusional. Así mismo, se debe tomar en cuenta el lugar de nacimiento y procedencia del donante para hacer hincapié en el despistaje y reducir la probabilidad de recibir una unidad de sangre infectada, especialmente en áreas endémicas de baja prevalencia o en áreas consideradas como no endémicas. Esto adquiere mayor relevancia ante el incremento de poblaciones inmunocomprometidas (VIH, transplantados, pacientes oncológicos en diálisis, con enfermedades autoinmunes, etc.), pues en ellos la infección por *T. cruzi* reviste una gravedad inusitada.

#### AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por Ingresos Propios de la Sección de Inmunología del Instituto de Medicina Tropical de la Fa-



cultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Los autores expresan su agradecimiento a la Sra. Milagros Aponte por su asistencia en la recolección de los datos a los pacientes y a la Lic. Magdalena Soto por su apoyo técnico en la toma de muestras sanguíneas.

Esta publicación se enmarca en la reestructuración funcional de la Sección de Inmunología parcialmente financiada por el Proyecto FONACIT F-2005000199.

### REFERENCIAS

1. **Tejera-Paris E.** La tripanosomiasis americana o Enfermedad de Chagas en Venezuela. *Gac Méd Caracas* 1919; 26:104-108.
2. **Pons AR.** Algo más sobre la dolencia de Chagas en Venezuela. *Gac Méd Caracas* 1936; 43: 24-27.
3. **Dias J.** A doença de Chagas e seu controle na America Latina. Uma análise in Latin America an análisis of posibiliteis. *Cad Saúde Públ* 1993; 9:201-209.
4. **Schmunis GA.** Prevention of transfusional *Trypanosoma cruzi* infection in Latin America. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999; 94:93-101.
5. **OPS.** Definición de caso. Tripanosomiasis americana (Enfermedad de Chagas). *Bol Epidem* 2003; 24:14-16.
6. **Aché A, Matos A.** Interrupting Chagas disease transmission in Venezuela. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2001; 43:37-43.
7. **Mazza S, Montana A, Benitez C, Janzi EZ.** Transmisión del *Schizotrypanum cruzi* al niño por leche de la madre con Enfermedad de Chagas 1936; *MEPRA* 28:41-46.
8. **Monsalve Y, Mujica M, Silva R, Mirolo M, Alvarez C.** Importancia del diagnóstico de anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* en donantes voluntarios mediante metodología recomendada por la OMS comparada con la utilizada en banco de sangre "Dr. José Jesús Boada Boada" y su relación con antecedentes epidemiológicos para Enfermedad de Chagas. *Bol Méd de Postgrado* 2004; XX(2) Abril-Junio. UCLA. Decanato de Medicina. Barquisimeto, Venezuela.
9. **Maekelt GA.** Investigación de sangre de donantes mediante la reacción de fijación de complemento para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Acta Med Venez* 1957; 5:104-107.
10. **Mora-Márquez R, Arape-Crespo I, Maekelt GA.** Estudio sobre la incidencia de la infección chagásica entre los donantes de sangre de las Fuerzas Armadas de Venezuela. *Arch Venez Med Trop Parasit Med* 1960; 3:126-131.
11. **Pifano F, Maekelt GA, Anselmi A.** Estado actual de la Enfermedad de Chagas en Venezuela. *Rev Venez Sanid* 1961; 26:17-24.
12. **Salazar J, Arends T, Maekelt GA.** Comprobación en Venezuela de la transmisión del *Schizotrypanum cruzi* por transfusión de sangre. *Arch Venez Med Trop Parasit Med* 1962; 4:355-363.
13. **Maekelt GA.** A modified procedure of xenodiagnosis for Chagas disease. *Am J Trop Med Hyg* 1964; 13:11-15.
14. **Maekelt GA.** Die komplement bindungs reaktion der Chagas' krankheit ztschr. *Tropenmed Parasit* 1960; 11:155-166.
15. **Zavala-Jaspe R, Díaz-Bello Z, Alarcón de Noya B.** Evaluación de un antígeno de epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* cepa PM (1958) para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas en Venezuela. *Memorias del XVII Congreso Latinoamericano de Parasitología* 2005; 60(2):194.
16. **Bradford M.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 7:248-254.
17. **Voller A, Bidwell DE, Bartlett A, Fleck DG, Perkins M, Oladehin B.** A microplate enzyme-immunoassay for *Toxoplasma* antibody. *J Clin Pathol* 1976; 29:150-153.
18. **Jacobs L, Lunde MN.** A hemagglutination test for toxoplasmosis. *J Parasitol* 1957; 43: 308-314.
19. **Guerreiro C, Machado A.** Da reação de Bordet e Gengou na moléstia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico. *Brasil Méd* 1913; 27:225-226.
20. **Schmunis GA.** *Trypanosoma cruzi*, the etiologic agent of Chagas disease: status in the blood supply in endemic and non en-

- demic countries. *Transfusion* 1991; 31: 547-555.
21. **WHO.** Strategic Direction for Research-Transfusional Control. TDR Chagas Disease. 2002; Disponible en: URL: <http://www.who.int/tdr/diseases/chagas/direction.htm>
  22. **Dias JCP, Schofield CJ.** Transfusional transmission control of Chagas disease in the Southern Cone Initiative. *Rev Soc Bras Med Trop* 1998; 31:373-383.
  23. **WHO.** The control of Chagas Disease. Tech Rep Ser No. 905. 2002; Disponible en: URL: <http://www.who.int/tdr/diseases/chagas.htm>
  24. **Pifano CF.** El diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas crónica. Estudio comparativo entre la gota gruesa, el xenodiagnóstico, el hemocultivo y las inoculaciones experimentales en animales sensibles. *Arch Venez Patol Parasitol Med* 1954; 21:20-55.
  25. **Barbosa W, Czerewuta AC, Oliveira RL.** Tentativa de isolamento primário de *T. cruzi* de pacientes crônicos de doença de Chagas por hemocultura agentes bloqueadores. *Rev Patol Trop* 1983; 12:155-163.
  26. **Pineda JP, Luquetti A.** Comparação entre o xenodiagnóstico clássico e artificial na fase crônica da doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 1998; 31:473-480.
  27. **Santos MCA, Slegers CA, Silveira CA, Castro C, Santiago W.** Estudios comparati-  
vos entre xenodiagnóstico artificial e hemocultura para doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; 32:81.
  28. **Valero J.** Situación de la Enfermedad de Chagas en Venezuela y situación de su control. En: V Reunión de la Comisión Intergubernamental de la Iniciativa Andina. Comisión Intergubernamental de la Iniciativa Andina de Control de la Transmisión Vectorial y Transfusional de la Enfermedad de Chagas. OPS/ OMS. 2004. Lima, Perú. Disponible en: URL: <http://www.paho.org/spanish/AD/DPC/CD/dch-ipa-v.pdf>
  29. **Rangel H, Gatica R, Ramos C.** Detection of antibodies against *Trypanosoma cruzi* in donors from a blood bank in Cuernavaca, Morelos, México. *Arch Med Res* 1998; 29: 79-82.
  30. **Garcia A, Celis D, Leon M, Leon P, Macchiavello N, Miranda JP, Tassara R, Denegri M, Lorea M.** Clinical and epidemiological study of blood donors seropositive for *Trypanosoma cruzi*. *Rev Med Chil* 1997; 125:905-910.
  31. **Grijalva MJ, Chiriboga R, Racines VJ, Escalante L, Rowland EC.** Short Report: Screening for *Trypanosoma cruzi* in the blood supply by the Red Cross Blood Bank in Quito, Ecuador. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 57:740-741.