

## Artículo original

# Seroprevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en bancos de sangre públicos del oriente de Venezuela

Mariolga Berrizbeitia<sup>a,b,\*</sup>, Favianny González<sup>c</sup>, Momar Ndao<sup>d</sup>, Brian Ward<sup>d</sup>, Jessica Rodríguez<sup>a</sup>, Yliana Cortéz<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Postgrado en Biología Aplicada, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente (UDO), Cumaná, Venezuela. <sup>b</sup>Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas. UDO. Cumaná. <sup>c</sup>Departamento de Bioanálisis, Núcleo de Sucre. UDO. Cumaná. <sup>d</sup>National Reference Centre for Parasitology, Montreal General Hospital, McGill University, Montreal, Canadá.

Recibido 11 de marzo de 2013; aceptado 13 de enero de 2014

**Resumen:** Se evaluó la seroprevalencia de anticuerpos tipo IgG anti-*Trypanosoma cruzi* en tres bancos de sangre públicos del oriente Venezolano (estado Sucre: Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” Cumaná; Hospital “Santos Aníbal Dominicci” Carúpano; estado Monagas: Hospital “Núñez Tovar”, Maturín). Se evaluaron 1.301 sueros provenientes de donantes (rango de edad: 18 a 59 años), de ambos sexos. Quinientos dieciocho (n=518) procedieron del banco de sangre del Hospital de Cumaná, 281 del banco de sangre del Hospital de Carúpano y 502 del banco de sangre del Hospital de Maturín. El diagnóstico serológico fue realizado mediante la prueba de ELISA (EPI-ELISA) y como prueba confirmatoria la técnica de Western blot (TESA-blot). Para la evaluación de los resultados de las pruebas no concluyentes, se empleó una tercera prueba serológica (inmunofluorescencia indirecta: IFI). La seropositividad de anticuerpos tipo IgG anti-*T. cruzi* fue de 0,6% (8/1301 donantes) en los tres bancos de sangre evaluados. La seroprevalencia de infección por *T. cruzi* en los tres bancos de sangre públicos estudiados resultó baja; no obstante, se recomienda aplicar más de una prueba serológica para mejorar el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en los bancos de sangre de Venezuela.

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*, donante, seroprevalencia, bancos de sangre, oriente, Venezuela.

## *Trypanosoma cruzi* infection seroprevalence at public blood banks in eastern Venezuela

**Abstract:** The seroprevalence of IgG type anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies was evaluated at three public blood banks in Eastern Venezuela (Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná and Hospital “Santos Anibal Dominicci”, Carúpano, Sucre State; and Hospital “Núñez Tovar”, Maturin, Monagas State). The evaluation included 1,301 serum samples obtained from donors (ages: 18-59 years, both sexes). Five hundred and eighteen (N=518) came from the blood bank at the Hospital in Cumaná, 281 from the blood bank at the Hospital in Carúpano, and 502 from the blood bank at the Hospital in Maturín. The serologic diagnosis was done by the ELISA test (EPI-ELISA) and as confirmation we used the Western blot test (TESA-blot). For the evaluation of non conclusive results we used a third serologic test (indirect immunofluorescence (IFI)). Seropositivity of IgG type anti-*T. cruzi* antibodies was 0.6% (8/1301 donors) from the 3 blood banks evaluated. *T. cruzi* infection seroprevalence at the 3 blood banks studied was low; nevertheless, it is recommended to apply more than one serologic test to improve the diagnosis of Chagas disease at Venezuelan blood banks.

**Keywords:** *Trypanosoma cruzi*, donors, seroprevalence, blood banks, eastern Venezuela.

\* Correspondencia:  
E-mail: mberriz@yahoo.com

### Introducción

La enfermedad de Chagas constituye una parasitosis endémica severa que afecta a 8 millones de personas en América Latina [1]. La mayoría de los individuos infectados proviene de áreas rurales y más del 60% han migrado hacia áreas urbanas en busca de un mejor nivel de vida y

oportunidades de trabajo [2]. En Latinoamérica, a través de los diferentes programas de control como la iniciativa del Cono Sur para la eliminación de la transmisión de la enfermedad de Chagas y la de los países andinos, lograron disminuir de forma importante el índice de infestación de las viviendas por triatominos, la seroprevalencia de la infección en los bancos de sangre y la incidencia de la infección por *T.*

*cruzi* en niños menores de 5 años [3].

Los movimientos migratorios de las zonas rurales a las urbanas ocurridos entre 1970 a 1980 en Latinoamérica, cambiaron el patrón epidemiológico tradicional de la enfermedad de Chagas, transformándola de una condición rural a una infección urbana a través de transfusiones sanguíneas [3]. Posteriormente, la emigración creciente hacia Norteamérica y Europa resultaron en que esta enfermedad, que había sido exclusiva del continente americano, fuera introducida por la vía transfusional en muchos países no endémicos [4].

La adopción del tamizaje universal para la infección por *T. cruzi* en los bancos de sangre públicos y privados de Venezuela, se estableció en el año 1988 a través de la prueba de ELISA [5]. Estas medidas permitieron reducir la seroprevalencia de esta infección en los bancos de sangre del país en los años 1993 a 2002 de 13,2% a 6,7%, respectivamente [6]. La cifra más reciente suministrada por la Organización Mundial de la Salud de la prevalencia en donantes en Venezuela es de 0,78% [7].

Una de las limitaciones en la evaluación de los donantes, está representada en el empleo de pruebas que no demuestran alto grado de especificidad o de sensibilidad, lo que frecuentemente se asocia a la obtención de resultados indeterminados o de falsos positivos o negativos [8]. De allí la recomendación para que el tamizaje de la infección por *T. cruzi* en los bancos de sangre se realice mediante el uso de dos pruebas serológicas en paralelo, que incluyan la combinación de un antígeno recombinante que garantice la especificidad y de un extracto crudo del parásito que provea la sensibilidad requerida [9]. En Venezuela, el escenario de la infección por *T. cruzi* en bancos de sangre ha sido poco estudiado, si se compara con la gran cantidad de estudios que se han enfocado principalmente en evaluar la seroepidemiología de la infección en diferentes áreas geográficas [5,8,10]. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo fue conocer la situación de la infección por *T. cruzi* en donantes de diferentes bancos de sangre en el oriente de Venezuela, utilizando una prueba ELISA con epimastigotes fijados como antígeno (EPI-ELISA), y como prueba confirmatoria, la prueba de Western blot, la cual utiliza antígenos de excreción/secreción de las formas tripomastigotes de *T. cruzi* (TESA: Trypomastigote Excreted-Secreted Antigens).

## Materiales y métodos

**Muestra poblacional:** En el estudio participaron donantes provenientes del banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio Alcalá” (Cumaná, estado Sucre, n= 518), del banco de sangre del Hospital “Santo Aníbal Dominicci” (Carúpano, estado Sucre, n=281) y del banco de sangre del Hospital “Núñez Tovar” (Maturín, estado Monagas, n = 502) en el periodo comprendido desde mayo 2009 a diciembre de 2010, estas instituciones públicas de salud, se encuentran ubicadas en la región nororiental de Venezuela. Las muestras de suero para este estudio fueron colectadas

en forma consecutiva, para establecer la seroprevalencia real en el banco de sangre evaluado. Dentro de los criterios de selección de los donantes se incluyeron: personas entre 18 y 60 años de edad, peso mayor de 50 Kg, clínicamente saludables y seronegativos para el virus de las hepatitis B y C, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y VDRL negativo [11]. Por lo tanto, se excluyeron a todos los donantes voluntarios que no cumplieron con estos criterios. Los donantes firmaron el consentimiento informado, el cual fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas, Universidad de Oriente, Venezuela. A los individuos participantes en el estudio se les aplicó un cuestionario clínico-epidemiológico, sobre datos personales, costumbres y hábitos, manifestaciones clínicas y conocimiento de haber sido picado por el vector transmisor de la enfermedad de Chagas (triatominos).

**Obtención de sueros:** Las muestras de sangre fueron obtenidas directamente durante el proceso de la donación por la técnica de venopunción; durante este proceso se tomó una alícuota de la bolsa de donación que fue directamente colocada en el tubo de ensayo, para la obtención del suero, el cual fue almacenado a -70 °C, hasta el momento de su procesamiento.

**Prueba de ELISA (EPI-ELISA):** Se empleó la técnica de ELISA utilizando las formas epimastigotes fijadas de *T. cruzi* (aislado RHO/VE/03/RG1) siguiendo el procedimiento descrito por Berrizbeitia *et al.* [8]. La dilución de trabajo de esta prueba para el anticuerpo primario y los controles fue de 1:400 y la del anticuerpo secundario de 1:90000 (Perkin-Elmer LifeScience®, Boston, MA). Se consideraron positivas todas las muestras cuyo promedio de densidad óptica (DO) fue superior o igual al punto de corte (0,400).

**TESA de *T. cruzi*:** La preparación proteica de los antígenos de excreción/secreción de las formas tripomastigotes de *T. cruzi* (TESA, cepa Tulahuen) para la realización de la presente investigación fue donada por el “National Reference Centre for Parasitology, McGill University” (Canadá) [12].

**Electroforesis unidimensional en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE):** La separación de TESA de *T. cruzi* se realizó por electroforesis unidimensional, con base en el método descrito por Laemmli [13]. La separación electroforética se llevó a cabo en geles al 7,5% de poliacrilamida de 0,8 mm de espesor. La corrida electroforética se realizó durante 2 horas en buffer tris-glicina (25 mM Tris, 192 mM glicina, 0,10% SDS gel de poliacrilamida, pH 8,3), a un voltaje constante de 120 V. En cada corrida electroforética se incluyeron marcadores de amplio rango de masa molecular (Biorad®, Hercules).

**Técnica de inmunoelectrotransferencia (TESA-blot):** Las proteínas separadas en SDS-PAGE fueron transferidas a hojas de nitrocelulosa (MFS, Pleasanton, CA), usando un

mini-tanque electroforético (Biorad). La transferencia se realizó durante 1 hora a 4 °C en 25 mM tris, 192 mM de glicina y 20,00% v/v de metanol a pH 8,3, a una corriente constante de 0,25 A. La inmunodetección antigénica de TESA de *T. cruzi* se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Berrizbeitia *et al.* [12]. Las diluciones de trabajo de esta prueba para el anticuerpo primario y los controles fue de 1:400 y del anticuerpo secundario de 1:4000 (Perkin-Elmer Life Science®, Boston, MA).

**Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI):** Se realizó la prueba de IFI según el protocolo descrito por Camargo [14]. Esta prueba se utilizó para evaluar los resultados que fueron positivos por Epi-ELISA y negativos por la prueba de prueba de TESA-blot.

**Análisis de los datos:** Los datos fueron analizados utilizando los programas de computador Microsoft Excel® 2010, SPSS versión 15. La infección por *T. cruzi* en los bancos de sangre evaluados se expresó en forma de prevalencias porcentuales (prevalencia general: PG; prevalencia específica: PE) con sus respectivos intervalos de confianza de 95% (IC 95%) y en términos de frecuencia para las variables epidemiológicas evaluadas (cirugía anterior a la donación, rechazo previo como donante, hepatitis previa a la donación, haber sido picado por un chipo, haber sido transfundido, enfermedad cardíaca, enfermedad previa a la donación).

## Resultados

En el presente estudio se evaluó un total de 1301 donantes de ambos sexos, de los cuales 281 (21,6%) procedieron del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” de Carúpano, estado Sucre; 518 (39,8%) del Hospital Universitario “Antonio Patricio Alcalá” de Cumaná, estado Sucre y 502 (38,6%) del Hospital “Núñez Tovar” de Maturín, estado Monagas. El estudio se realizó de forma continua durante el período comprendido desde mayo 2009 a diciembre 2010. En los tres bancos de sangre evaluados hubo un predominio del género masculino sobre el femenino, encontrándose las siguientes proporciones 6:1, 15:1 y 4:1 para los bancos de sangre del Hospital “Antonio Patricio Alcalá” (Cumaná-Sucre:) (femenino: 13,3% masculino: 86,7%, “Santo Aníbal Dominicci” (Carúpano-Sucre) (femenino: 6,4%, masculino: 93,6%) y “Núñez Tovar” (Maturín, Monagas) (femenino: 20,0%, masculino: 80,0%), respectivamente. El promedio de la edad en los tres centros evaluados fue bastante similar (31,7 ± 9,8 años, rango de edad: 19-59 años).

En la presente investigación se aplicó un tamizaje en serie y se consideró una muestra como positiva para la infección por *T. cruzi* cuando al menos dos pruebas con principios diferentes arrojaran un resultado positivo, como lo recomienda la Organización Mundial de la Salud [9]. Con ese criterio la prueba de ELISA detectó 4 individuos positivos en el banco de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio Alcalá” (Cumaná, estado Sucre), que fueron confirmados como positivos por la prueba TESA-

blot (Figura 1). No se encontraron individuos seropositivos en el banco de sangre del hospital “Santo Aníbal Dominicci” (Carúpano, estado Sucre), mientras que en el Hospital “Núñez Tovar” (Maturín, estado Monagas) se detectaron 6 individuos seropositivos por la prueba de ELISA, de los cuales 4 resultaron positivos por la prueba TESA-blot (Figura 1). Asimismo a los dos resultados no concluyentes (positivos por una prueba y negativos por otra) se les realizó la prueba de IFI, la cual identificó esos dos sueros como negativos.

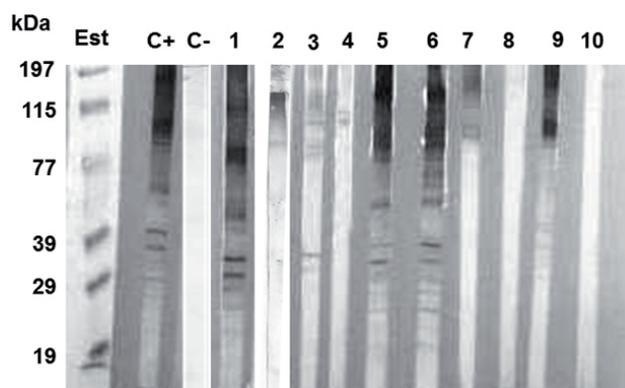


Figura 1. Inmuno-electrotransferencia (TESA-blot) utilizó TESA de *T. cruzi* (TESA-blot) de los sueros de los donantes que resultaron positivos por la prueba de ELISA. C+: control positivo, C-: control negativo. 1-4: sueros provenientes del Banco de Sangre (Hospital Antonio Patricio Alcalá, Cumaná, estado Sucre), 5-10: sueros provenientes del Banco de Sangre del Hospital Núñez Tovar (Maturín, estado Monagas), 1,2,3,4,5,6,7,9: sueros positivos.

Las seroprevalencias generales y específicas en los bancos de sangre del hospital “Antonio Patricio Alcalá” (Cumaná, Sucre) y “Núñez Tovar” (Maturín, Monagas) fueron similares (PG: 0,3%, IC 95%: 0-0,6%; PE: 0,8%, IC 95%: 0-1,6%). Mientras que la seroprevalencia general de los tres bancos de sangre evaluados ubicados en la región oriental de Venezuela fue de 0,6% (IC 95%: 0,2 – 1,0) (Tabla 1).

La encuesta epidemiológica demostró que de los 1301 donantes 1,1% manifestó haber recibido transfusión sanguínea, 0,2% respondió haber sido picado por un triatomino (chipo), el 1,2% manifestó haberse sentido enfermo durante la

Tabla 1. Seroprevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en tres bancos de sangre del oriente venezolano. Mayo 2009 a diciembre de 2010.

Bancos de sangre	n	Pos	Neg	PG (%)	IC 95%	PE (%)	IC 95%
1	518	4	514	0,3	0 – 0,6	0,8	0 – 1,6
2	281	0	281	-----	-----	-----	-----
3	502	4	498	0,3	0 – 0,6	0,8	0 – 1,6
Total	1301	8		0,6	0,2 – 1,0		

n: donantes; %: porcentaje; Neg: negativos; Pos: positivos; IC: intervalo de confianza; PG: prevalencia general; PE: prevalencia específica; 1, 2, 3: Banco de Sangres de: Hospital Universitario “Antonio Patricio Alcalá” (Cumaná-Sucre), “Santo Aníbal Dominicci” (Carúpano-Sucre). “Núñez Tovar” (Maturín, Monagas), respectivamente.

semana previa a la donación, 1,1% afirmó padecer de algún problema cardiaco, 0,2% había presentado hepatitis antes de los 10 años de edad, y 22,6% manifestó haber sido sometido a cirugía; de estos individuos dos resultaron positivos para infección por *T. cruzi*, sin embargo, debido al bajo número de donantes que resultaron positivos, no se pudo establecer ninguna asociación estadística significativa con las variables epidemiológicas estudiadas.

## Discusión

En la presente investigación, se estudió la situación de esta infección en tres bancos de sangre ubicados en el oriente del país, en donde se demostró una baja seroprevalencia de la infección por *T. cruzi* en los centros asistenciales evaluados (prevalencia general: 0,6%; intervalo de confianza 95%: 0,2 – 1%). Este hallazgo coincide con los datos reportados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2006) [1], en donde se muestra 0,78% de seroprevalencia de esta infección en los bancos de sangre de Venezuela. Posiblemente los bajos índices de seroprevalencia reportados se deban a las políticas de control aplicadas, las cuales han contribuido al descenso de la transmisión de la infección por *T. cruzi* por unidades de sangre contaminadas con el parásito [15]. Aché [5] reportó las cifras de seropositividad a *T. cruzi* en los bancos de sangre de Venezuela desde 1988 hasta 1992. En ese estudio se observó que entre los estados que presentaron niveles mayores de seroprevalencia se encontraron Lara (1,20%), Barinas (1,45%), Táchira (1,48%), Carabobo (2,34%) Trujillo (2,38%), Cojedes (2,61%) y Portuguesa (5,47%). Sin embargo, para ese año el estado Sucre reportó una seroprevalencia de 1,47% en los bancos de sangre públicos [5]. Al comparar esa cifra con los resultados obtenidos en la presente investigación, quedaría demostrado que la seroprevalencia a la infección por *T. cruzi* en los bancos de sangre del estado Sucre ha descendido en los últimos 18 años.

Igualmente, Berrizbeitia *et al.* [8] reportaron seroprevalencias de 0,62% y 5,47% en los bancos de sangre del estado Bolívar y Portuguesa, respectivamente; siendo estas cifras muy similares a las reportadas por Aché en 1993 [5]. Más recientemente, Herrera y Martínez [16], en un estudio realizado en 49712 donantes, en el “Hospital Central Antonio María Pineda” (Barquisimeto, estado Lara), reportaron 0,74% de seroprevalencia para la infección por *T. cruzi*. Mientras que Diaz-Bello *et al.* [10] realizaron la confirmación de infección por *T. cruzi* a 254 muestras de donantes referidos de bancos de sangre públicos y privados de Venezuela, de las cuales 129 resultaron positivas (50,79%).

Las diferencias en cuanto a las seroprevalencia a la infección por *T. cruzi* en los bancos de sangre evaluados, específicamente la ausencia de individuos seropositivos en el Banco de Sangre del Hospital “Santos Aníbal Dominicci” de Carúpano, posiblemente se deba a que las características climáticas del golfo de Paria (temperatura: 25-34 °C, humedad relativa: 80-90%, altitud: 200-800 m), en donde se encuentra ubicado ese hospital, no coinciden con las

condiciones climáticas propicias (temperatura: 19-25 °C, 75% de humedad relativa, altitud: 0-2.000 m) para una mayor infestación por triatomíneos [17, 18].

Asimismo, seroprevalencias de la infección por *T. cruzi* similares a la encontrada en este trabajo han sido reportadas en diferentes trabajos realizados en bancos de sangre de distintos países de Latinoamérica, en donde se han encontrado cifras que varían de 0,04 a 0,7%, valores que reflejan un bajo riesgo de riesgo de transmisión transfusional de la enfermedad de Chagas en esos países, incluyendo los estados orientales evaluados en la presente investigación en Venezuela [19-21]. Sin embargo, valores más elevados de seroprevalencia (2,8%-24,5%) han sido encontrados en bancos de sangre de México (2,8%) y Argentina (24,5%) [22-24]. Estas diferencias en las seroprevalencias de la infección por *T. cruzi*, posiblemente se deban a las características epidemiológicas y geográficas presentes en cada región.

La infección por *T. cruzi* por transfusión sanguínea representa el segundo mecanismo de transmisión después de la vectorial en los países endémicos. Sin embargo, en los países no endémicos representa hoy en día el mecanismo principal de transmisión de la infección. La migración de latinoamericanos a diferentes países de Europa y Norte América ha conllevado a la presencia de individuos infectados detectados en los bancos de sangre de esos países [25]. En el caso de Venezuela estas medidas se iniciaron en el año 1988, estableciéndose el tipaje del 100% de los donantes para el control de la transmisión de la infección por *T. cruzi* a través de la técnica de ELISA [5].

En relación a las variables epidemiológicas evaluadas no se pudo establecer ningún tipo de asociación entre éstas y la infección por *T. cruzi* en los donantes de sangre, debido al escaso número de seropositivos encontrados en la presente investigación. Sólo dos individuos positivos manifestaron haber sido sometidos a cirugía, lo cual no representó un mayor riesgo a adquirir la infección. Sin embargo, en otros estudios realizados demuestran asociación entre la infección por *T. cruzi* y el género del donante, ser donante por primera vez, ser mayor de 30 años, provenir de áreas endémicas y rurales y haber sido picado por un triatómico [26]. Es importante resaltar que 4/8 de los individuos que resultaron seropositivos residían en zonas rurales del municipio Montes (estado Sucre). Este municipio según datos epidemiológicos aportados por la Dirección de Saneamiento Ambiental del estado Sucre es conocido por su alta endemicidad para esta infección.

Diversos estudios han dejado claro que el tamizaje en los bancos de sangre para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* utilizando una sola prueba serológica resulta en un número indeseable de reacciones falsas negativas, principalmente en zonas endémicas [8]. Por tal motivo, para mejorar el diagnóstico en bancos de sangre, diversos estudios recomiendan el uso de dos pruebas serológicas en paralelo, las cuales empleen la combinación de un antígeno recombinante que garantice la especificidad y un extracto crudo del parásito que aporte la sensibilidad requerida para

la prueba [20]. En la presente investigación se demostró la falta de concordancia entre las diferentes pruebas para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi*, principalmente con los sueros provenientes del banco de sangre “Núñez Tovar” (Maturín, Monagas) y la utilidad de la prueba de TESA-blot que permitió la confirmación como negativos de dos sueros que resultaron positivos por la prueba de ELISA utilizando epimastigotes fijados. El excelente desempeño de los antígenos TESA y la falta de concordancia entre las pruebas de diagnóstico para la infección por *T. cruzi* ha sido previamente demostrado [8].

En conclusión, la baja seroprevalencia encontrada en los bancos de sangre evaluados en la región oriental de Venezuela, indica un bajo riesgo de transmisión por transfusiones sanguíneas de la infección por *T. cruzi*. Asimismo, la ocurrencia de resultados no concluyentes, indica la necesidad de emplear más de una prueba serológica, para garantizar la calidad del diagnóstico en los bancos de sangre y disminuir el riesgo de transmisión transfusional de este parásito.

### Agradecimientos

A la Profesora Alicia Jorquera por la revisión crítica del manuscrito. Al personal de los bancos de sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná; Licenciadas Carolina Marval y Daxis Molina, Hospital “Santos Aníbal Dominici”; Licenciado Pablo Malavé, Carúpano.

Este trabajo fue financiado por FONACIT (Misión Ciencias, proyecto N° 2007001425).

### Referencias

- Organización Panamericana de la Salud. Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas, 2006. Disponible en: <http://www.bvsops.org.uy/pdf/chagas19.pdf>. Acceso 25 de mayo 2011.
- Dias JC, Silveira AC, Schofield CJ. The impact of Chagas disease control in Latin America: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002; 97:603-12.
- Moncayo A. Chagas disease: current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone countries. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003; 98:577-91.
- Jackson Y, Getaz L, Wolff H, Holst M, Mauris A, Tardin A, et al. Prevalence, clinical staging and risk for blood-borne transmission of Chagas disease among Latin American migrants in Geneva, Switzerland. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010; 4:e592.
- Ache A. Prevalence of human infections by *Trypanosoma cruzi* in blood banks in Venezuela. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1993; 35:443-8.
- Schmunis GA, Cruz JR. Safety of the blood supply in Latin America. *Clin Microbiol Rev*. 2005; 18:12-29.
- Panamerican Health Organization. Salud en las Américas, 2007. Disponible en: <http://www.paho.org/hia/archivosvol1/volregionalesp/SEA07%20Regional%20SPA%20Front%20Matter.pdf>. Acceso 25 de mayo 2011.
- Berrizbeitia M, Ndao M, Bubis J, Gottschalk M, Ache A, Lacouture S, et al. Field evaluation of four novel enzyme immunoassays for Chagas' disease in Venezuela blood banks: comparison of assays using fixed-epimastigotes, fixed-trypomastigotes or trypomastigote excreted-secreted antigens from two *Trypanosoma cruzi* strains. *Transfus Med*. 2006; 16:419-31.
- World Health Organization. Consultation on international biological preparations for Chagas Diagnostic tests, 2007. Disponible en: [http://www.who.int/bloodproducts/ref\\_materials/WHO\\_Report\\_1st\\_Chagas\\_BRP\\_consultation\\_7-2007\\_final.pdf](http://www.who.int/bloodproducts/ref_materials/WHO_Report_1st_Chagas_BRP_consultation_7-2007_final.pdf). Acceso 18 de octubre 2013.
- Diaz-Bello Z, Zavala-Jaspe R, Diaz-Villalobos M, Mauriello L, Maekelt A, de Noya BA. A confirmatory diagnosis of antibodies anti-*Trypanosoma cruzi* in donors referred by blood banks in Venezuela. *Invest Clin*. 2008; 49:141-50.
- Organización Panamericana de la Salud. Elegibilidad para la donación de sangre: Recomendaciones para la educación y la selección de donantes potenciales de sangre, 2009. Disponible en: <http://www.paho.org/hq/dmdocuments/2009/EligiBlood09ESP.pdf>. Acceso 25 de mayo de 2011.
- Berrizbeitia M, Ndao M, Bubis J, Gottschalk M, Ache A, Lacouture S et al. Purified excreted-secreted antigens from *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes as tools for diagnosis of Chagas' disease. *J Clin Microbiol*. 2006; 44:291-6.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227:680-5.
- Camargo ME. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1966; 8:227-35.
- Ache A, Matos AJ. Interrupting Chagas disease transmission in Venezuela. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2001; 43:37-43.
- Herrera-Martinez AD, Rodriguez-Morales AJ. Trends in the seroprevalence of antibodies against *Trypanosoma cruzi* among blood donors in a Western Hospital of Venezuela, 2004-2008. *Acta Trop*. 2010; 116:115-7.
- Delgado L, Gamboa L, Leon N. Aspectos geográficos relacionados con un problema de salud pública: la malaria en el estado Sucre. *Rev Terra (UCV)*. 2000; 16:80-93.
- Herrera L, Urdaneta-Morales S. Synanthropic rodent reservoirs of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* in the valley of Caracas, Venezuela. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1997; 39:279-82.
- Ferreira Filho JC, Costa PI, Buainain A, Rosa JA. Seropositivity for Chagas disease among blood donors in Araraquara, State of Sao Paulo, between 2004 and 2008. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2011; 44:110-2.
- Ramos-Ligonio A, Ramirez-Sanchez ME, Gonzalez-Hernandez JC, Rosales-Encina JL, Lopez-Monteon A. Prevalence of antibodies against *Trypanosoma cruzi* in blood bank donors from the IMSS General Hospital in Orizaba, Veracruz, Mexico. *Salud Publica Mex*. 2006; 48:13-21.
- Torres L, García Z, Arauz P, Taylor L. Prevalencia de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi* en donantes de sangre de la seguridad social. Costa Rica. *Rev Cost Cienc Med*. 2004; 25:15-26.
- Galaviz-Silva L, Molina-Garza DP, Gonzalez-Santos MA, Mercado-Hernandez R, Gonzalez-Galaviz JR, Rosales-Encina JL, et al. Update on seroprevalence of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies among blood donors in northeast Mexico.

- Am J Trop Med Hyg. 2009; 81:404-6.
23. Remesar MC, Gamba C, Colaianni IF, Puppo M, Sartor PA, Murphy EL, et al. Estimation of sensitivity and specificity of several *Trypanosoma cruzi* antibody assays in blood donors in Argentina. Transfusion. 2009; 49:2352-8.
  24. Silveira HJ, Mozart ON, Norberg AN, Pile EA. *Trypanosoma cruzi* prevalence and clinical forms in blood donor candidates in Brazil. Rev Saude Publica. 2003; 37:807-9.
  25. Castro E. Chagas' disease: lessons from routine donation testing. Transfus Med. 2009; 19:16-23.
  26. Ferreira-Silva MM, Pereira GA, Lages-Silva E, Moraes-Souza H. Socioepidemiological screening of serologically ineligible blood donors due to Chagas disease for the definition of inconclusive cases. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2010; 105:800-5.