

La cara oculta de la enfermedad de Chagas en Venezuela

Néstor Añez^{1*}, Gladys Crisante¹, Agustina Rojas¹, Néstor Díaz¹, Néstor Añez-Rojas¹, Hugo Carrasco², Henry Parada³, Marcos Aguilera⁴, Glenda Moreno⁵, Itamar Galíndez-Girón⁵, Raquel Sandoval⁵, Irene Sandoval⁵, Libia Vásquez⁶, Oscar Nava-Rulo⁶, Francis Guerra⁷, Gerardo Uzcátegui⁸, José Yancarlos Yépez⁹, Claudina Rodríguez¹⁰, Rafael Bonfante-Cabarcas¹⁰.

Se presenta un estudio multidisciplinario y multicéntrico llevado a cabo durante el período 1988 - 2003 por investigadores de 10 instituciones venezolanas con la finalidad de aportar nuevos datos sobre la situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en el país. El artículo incluye información basada en la detección de la infección por *Trypanosoma cruzi* en pacientes referidos a un centro diagnóstico y en individuos muestreados en localidades rurales de diferentes regiones de Venezuela. En el primer grupo de 310 pacientes examinados, 168 (54.2%) resultaron sero-positivos a *T. cruzi*; 75 (44.6%) en la fase aguda, con 52 de ellos (69.3%) mostrando parasitemia patente, de los cuales 36% eran niños entre 0 y 10 años. El restante número de infectados arrojó el 43.5% (73/168) en la fase crónica, con diferentes grados de afección cardíaca, y un 11.9% (20/168) de individuos asintomáticos con infecciones inaparentes u ocultas. Asimismo, exámenes serológicos realizados en 3.993 individuos de 75 localidades rurales de 11 estados de Venezuela, revelaron un 11.2% de seroprevalencia a *T. cruzi*, detectándose, del total de individuos seropositivos, el 8.5% (38/448) de infecciones en infantes menores de 10 años de edad. Se informa sobre factores de riesgo de transmisión chagásica considerando la frecuencia de infestación por especies triatómicas en palmeras disecadas, la estimación de la domiciliación triatómica en la vivienda rural y la frecuencia de picadura en moradores de las áreas endémicas estudiadas. Se concluye que la enfermedad de Chagas podría estar re-emergiendo en Venezuela a juzgar por la activa transmisión detectada durante la última década. Se considera el éxito de la campaña anti-chagásica durante los últimos 40 años y se evalúa en el marco de los presentes resultados. La situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Venezuela es discutida y se sugiere la creación de una política de estado para su control.

Palabras claves: Enfermedad de Chagas, re-emergencia, Venezuela

INTRODUCCIÓN

El hallazgo e identificación de *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909, agente etiológico de la tripanosomiasis Americana, se produce en Venezuela durante la segunda década del siglo XX, cuando Enrique Tejera señala el encuentro del parásito naturalmente asociado con *Rhodnius prolixus* Stål,

1859 (Tejera, 1919). Aunque Tejera reconoce la existencia de la enfermedad de Chagas en el país, es durante la década de los años 1930 cuando José Francisco Torrealba se percata de la magnitud de la presencia y severidad de esta dolencia en ciertas regiones de Venezuela (Torrealba, 1940). Este autor introduce el método del xenodiagnóstico, previamente propuesto por Brumpt (1913) para detectar infecciones

1. Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Mérida, 5101, Venezuela.
2. Instituto de Investigaciones Cardiovasculares, HULA, Mérida, Venezuela
3. Unidad de Cardiología, Hospital «Luis Razetti», Barinas, Venezuela
4. Servicio de Vigilancia Epidemiológica Sanitario Ambiental, Zona IX, Barinas, Venezuela
5. Postgrado en Protozoología, NURR-ULA, Trujillo, Venezuela
6. Hospital de Valera, Venezuela
7. Centro Cardiovascular de Oriente, Maturín, Venezuela
8. Centro Cardiovascular Regional Cojedes, San Carlos, Venezuela
9. Escuela de Medicina, Universidad Francisco de Miranda, Coro, Venezuela
10. Departamento de Parasitología y Bioquímica, Decanato de Medicina, UCLA, Barquisimeto, Venezuela
e-mail: nanes@ula.ve

en vertebrados utilizando triatominos, y lo valora por primera vez como una herramienta diagnóstica para propósitos epidemiológicos en el estudio de esta dolencia. En su primer estudio llevado a cabo en muestras de individuos de poblaciones del llano venezolano, Torrealba (1940) obtuvo resultados positivos en un 25% de los casos examinados. El autor también advierte que los pacientes infectados con *T. cruzi* solían vivir en ranchos primitivos, los cuales se encontraban plagados de insectos de la subfamilia Triatominae identificados como *R. prolixus*. Asimismo, observa que los insectos durante el día permanecían ocultos en los techos de palma y las cribas que se formaban en las paredes de barro, materiales más comúnmente utilizados en la construcción de las viviendas rurales para la época. Las cifras publicadas durante las décadas de los años 1940 y 1950, usando el método de xenodiagnóstico para detectar infecciones por *T. cruzi*, variaban entre el 30% y el 50% en diferentes regiones de Venezuela. En la mayoría de los casos el diagnóstico fue realizado durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas, coincidiendo signos y síntomas clínicos con los hallazgos parasitológicos, por lo que no hubo dudas sobre la existencia de una alta incidencia de la tripanosomiasis en las localidades estudiadas. Durante estas décadas las investigaciones lideradas por Torrealba permitieron la detección de infecciones chagásicas en altos tenores desde las localidades llaneras en la parte central del país hasta las áreas montañosas en la región andina del occidente de Venezuela. El autor señala, asimismo, cifras alarmantes en relación con la detección de infección por *T. cruzi* en triatominos colectados en algunas regiones, las cuales en algunos casos alcanzaban hasta el 76% de positividad (Torrealba *et al*, 1940; 1954; 1955 a; 1955 b; 1958).

El programa de control de la enfermedad de Chagas en Venezuela comenzó a ejecutarse en forma metódica desde el año 1961 como una extensión de la exitosa campaña antimalárica establecida con anterioridad en todo el territorio nacional (Berti *et al*, 1961; Acquatella, 1987). Sin embargo, en una encuesta epidemiológica llevada a cabo durante los años de 1960 en un total de 10.300 muestras tomadas en habitantes de áreas rurales de 8 Estados de Venezuela, Pifano (1974) detectó 43.9% de seropositivos a *T. cruzi*, incluyendo 4% de positivos al examen de xenodiagnóstico. El análisis de estos resultados arrojó en el grupo de edad de 0-10 años una seropositividad de 20.4%, lo que indicaba transmisiones activas en las áreas de estudio. Asimismo, el autor señaló que durante

el período 1960-1973 alrededor de 5.000 muertes fueron atribuidas al padecimiento de la enfermedad de Chagas. Las cifras presentadas por Pifano (1974) encontraron soporte en los reportes oficiales del Ministerio de Sanidad, los cuales mostraron entre 1962 y 1971 valores de seroprevalencia de hasta un 51.3% y resultados del examen de xenodiagnósticos del 12% (MSAS, 1970; 1972). Durante la década de los años 1980 de acuerdo con las cifras oficiales la enfermedad de Chagas fue significativamente reducida como consecuencia de la campaña anti-chagásica que incluyó, además de la lucha contra los triatominos vectores, el mejoramiento de las viviendas en las áreas consideradas como endémicas o de activa transmisión. En este contexto, Maekelt (1983) en un estudio epidemiológico donde asocia la enfermedad de Chagas con el ecosistema domiciliario, demuestra un descenso de la seropositividad a *T. cruzi* en el grupo de edad de 0 a 10 años hasta 3.2%, valores francamente menores que las cifras previas señaladas por Pifano (1974). Más recientemente, Aché & Matos (2001) resumen el esfuerzo del sector oficial por reducir o interrumpir la transmisión de *T. cruzi* en Venezuela, basados en la información acumulada en los archivos del programa nacional de control de la enfermedad de Chagas durante el período 1958-1998. La descripción revela una disminución de la seroprevalencia a *T. cruzi* desde 44.5% hasta 9.2% durante las últimas cuatro décadas. Asimismo, se le atribuye al programa de control de la enfermedad de Chagas la reducción del área endémica originalmente de 750.000 Km² hasta 365.000 Km², estimándose que alrededor de 4 millones de habitantes viven bajo condiciones de riesgo de contraer la infección chagásica.

A pesar del éxito atribuido al programa de control de la enfermedad de Chagas en Venezuela, pareciera que en el presente existe un aparente repunte de esta parasitosis a juzgar por el incremento en el número de casos agudos detectados durante la última década (Parada *et al*, 1996; 1997; Añez *et al*, 1999). Esta información se torna relevante considerando que sólo en el estado Barinas, ubicado en el occidente de Venezuela, fueron diagnosticados 8 casos agudos por año, con una mortalidad de 12.5% incluyendo niños menores de 10 años (Añez *et al*, 1999, Parada *et al*, 1996).

En este trabajo se aportan nuevos datos sobre la detección de la infección por *T. cruzi* en Venezuela, basados en información obtenida en un estudio realizado entre los años 1988–2003. La misma

fue obtenida de dos fuentes fundamentales, una constituida por pacientes con un diagnóstico clínico presuntivo de enfermedad de Chagas referidos a nuestro laboratorio, para su confirmación diagnóstica, desde unidades clínicas ubicadas en diferentes estados del país; y la otra originada de muestreos al azar realizados en 3.993 individuos de 75 localidades de 11 estados de Venezuela, donde la enfermedad de Chagas es endémica. El objetivo fundamental del presente artículo es proveer información reciente que permita estimar la verdadera situación de la enfermedad de Chagas en Venezuela.

MATERIALES Y METODOS

Muestreo de pacientes referidos

Un total de 310 pacientes a quienes se les había realizado un diagnóstico clínico presuntivo de enfermedad de Chagas en diferentes unidades cardiológicas del país, fueron referidos durante el período 1988 – 2003 al Laboratorio de Investigaciones Parasitológicas «J.F.Torrealba» para confirmación diagnóstica. Los pacientes procedían de 10 Estados de Venezuela, incluyendo Barinas (189), Mérida (72), Trujillo (16), Portuguesa (14), Zulia (10), Táchira (5), Carabobo (1), Lara (1), Distrito Capital (1) y Falcón (1).

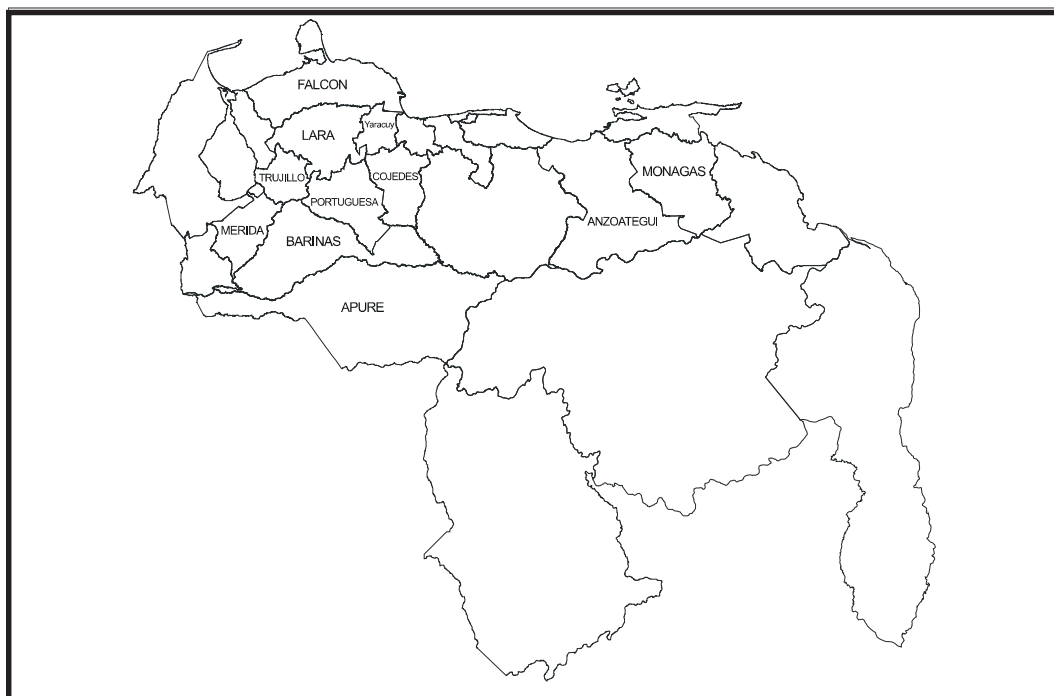
Muestreo de individuos de localidades rurales

Durante el período 1995 – 2003, un total de 3.993 individuos fueron muestreados en 75 localidades rurales de 11 estados de Venezuela consideradas como endémicas para la enfermedad de Chagas. Las muestras analizadas por estados incluyeron Anzoátegui (80), Apure (72), Barinas (390), Cojedes (722), Falcón (559), Lara (68), Mérida (443), Monagas (195), Portuguesa (425), Trujillo (693) y Yaracuy (346). La Fig.1 detalla las localidades muestreadas en cada estado de Venezuela. El grupo muestreado estaba compuesto por 1.638 machos (41.0%) y 2.355 hembras (59.0%) con una relación macho:hembra 0.7:1. La edad promedio fue de 26.9 ± 18.6 años, con un rango entre 1 y 100 años de edad. El número de individuos muestreados fue dividido en seis grupos de edades para proceder al análisis. Estos incluyeron, Grupo I de 0 a 10 años (940; 23.5%), Grupo II de 11 a 20 años (858; 21.5%), Grupo III de 21 a 30 años (704; 17.6%), Grupo IV de 31 a 40 años (586; 14.7%), Grupo V de 41 a 50 años (399; 10%) y Grupo VI mayores de 50 años (506; 12.6%).

Colección y procesamiento de muestras:

En todos los casos muestras de sangre para llevar a cabo exámenes sero-parasitológicos fueron

Fig. 1. Estados muestreados para estimación de seroprevalencia a *Trypanosoma cruzi* en Venezuela.



tomadas por veno-punción siguiendo procedimientos previamente indicados (Añez *et al*, 1999 a; 2001). Previo al muestreo, un consentimiento por escrito fue obtenido de cada individuo muestreado, o de su representante en caso de niños, en el que autorizaban su acuerdo para ser incluidos en el protocolo de estudio. El protocolo fue aprobado por la Comisión de Ciencias Médicas profesionales del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela; por la comisión de Biomedicina del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Caracas, Venezuela y por la Comisión de Ética del Postgrado en Protozoología de la Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela. Los métodos parasitológicos utilizados fueron hemocultivo de 0,5ml de sangre en medio de cultivo NNN con solución salina de insectos como fase líquida; y xenodiagnóstico empleando 10 ninfas sanas de *Rhodnius prolixus* del III estadio mantenidas en condiciones de laboratorio en una colonia cerrada en el Grupo de Entomología «Herman Lent» de la Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Pacientes alérgicos fueron excluidos o se les practicó un xenodiagnóstico artificial como indicado por Añez *et al*, (1999a). Los métodos serológicos utilizados para detectar anticuerpos circulantes anti-*T. cruzi* incluyeron las pruebas de aglutinación directa (TAD), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA, siguiendo procedimientos convencionales previamente publicados (Vattuone & Yanovsky, 1971; Voller *et al*, 1975). Las condiciones y procedimientos empleados para los métodos serológicos y parasitológicos han sido previamente indicados (Añez *et al*, 1999a).

Criterios diagnósticos

Las muestras serológicas procesadas fueron consideradas positivas cuando mostraron títulos de anticuerpos anti-*T. cruzi* >1:64 para TAD e IFI y una absorbancia óptica >0.2 para ELISA. Los pacientes y/o individuos muestreados en localidades rurales fueron considerados seropositivos a la infección por *T. cruzi* cuando mostraron reactividad en, al menos, 2 de los 3 métodos utilizados. Estas muestras fueron luego procesadas para detectar niveles de inmunoglobulinas específicas anti-*T. cruzi* (IgM e IgG) utilizando inmunofluorescencia indirecta (Camargo, 1966). La cuantificación de los niveles de IgM e IgG fue realizada utilizando diluciones del suero desde 1:2 hasta 1:4096

enfrentadas al conjugado anti-humano IgM y anti-humano IgG, ambos asociados a isotiocianato de fluoresceína (Sigma Chemical Company, St Louis, MO). Para establecer los niveles de IgM e IgG como criterio diagnóstico, determinaciones previas fueron llevadas a cabo en pacientes con infecciones francamente agudas y/o crónicas detectadas en el laboratorio y cuyas características han sido aportadas en previos trabajos (Añez *et al*, 1999 a; 1999b). Los pacientes en fase aguda se caracterizaron por poseer niveles altos de IgM específica anti-*T. cruzi*, los cuales correspondieron estadísticamente a títulos > 1:512 (entre 1:512 y 1:4096), además de bajos niveles de IgG (1:2 – 1:256). Por el contrario, los pacientes crónicos fueron reconocidos por sus altos niveles de IgG (> 1:512) y bajos niveles de IgM (> 1:256). Individuos asintomáticos, seropositivos a *T. cruzi* que presentaron niveles bajos (< 1:256) de IgM e IgG específica anti-*T. cruzi* fueron considerados como casos de infecciones inaparentes por *T. cruzi* siguiendo el razonamiento previamente planteado por Añez *et al*, (2001).

Análisis estadístico

La estimación de la confiabilidad de los métodos diagnósticos empleados en el estudio fue realizada para cada una de las fases de la infección chagásica utilizando distintas metodologías estadísticas. Estas incluyeron para la fase aguda el coeficiente Alfa de Cronbach (ρ^2) y el coeficiente Phi (Φ) (Ver Añez *et al*, 1999 a). Para los casos crónicos e inaparentes fue realizada una comparación con metodología diagnóstica considerada como gold standard, incluyéndose medidas de sensibilidad, especificidad y de acuerdos (Ver Añez *et al*, 1999 b; 2001). Adicionalmente, para el análisis estadístico de los individuos que presentaron infecciones inaparentes, fue utilizada la correlación de rangos de Kendall con software S-Plus para estimar la relación entre los valores de IgM, IgG y la edad de los individuos muestreados (Stuart & Ord, 1991; Mathsoft, 1999; Añez *et al*, 2001). Por otra parte, fueron generados gráficos bi-plot (no presentados aquí) para observar la formación de grupos etarios con proporciones similares de infectados, lo cual fue corroborado utilizando el test de proporciones (Fleiss, 1973).

Colecta e identificación de especies triatominas

La colecta de triatominos fue llevada a cabo en domicilios y mediante disección de palmeras consideradas como ecotopos de varias especies

Tabla I. Distribución por edad de las fases de la infección chagásica en pacientes referidos durante el periodo 1988 – 2003 en Venezuela

Grupo Etario	N(%) Seropositivos	Individuos según fases de la infección chagásica*		
		Agudos N (%)	Crónicos N (%)	Inaparentes N (%)
0-10 años	31 (18.4)	27 (36.0)	1 (1.4)	3 (15.0)
11-20 años	29 (17.3)	19 (25.3)	5 (6.8)	5 (25.0)
21-30 años	29 (17.3)	19 (25.3)	5 (6.8)	5 (25.0)
31-40 años	33 (19.6)	3 (4.0)	26 (35.6)	4 (20.0)
41-50 años	28 (16.7)	6 (8.0)	21 (28.8)	1 (5.0)
51 y más	18 (10.7)	1 (1.3)	15 (20.5)	2 (10.0)
Total	168	75 (44.6)	73 (43.5)	20 (11.9)

*: Definición en el texto

transmisoras de *T. cruzi* (Carcavallo *et al*, 1998). Un total de 109 palmeras fueron disecadas en diferentes localidades rurales de los estados Trujillo (55), Barinas (45), Guárico (5), Mérida (2) y Falcón (2). El reconocimiento de los géneros de palmeras disecadas fue hecha de acuerdo con las descripciones de Braun (1970). La identificación de los triatomos colectados durante el desarrollo del presente trabajo fue realizada siguiendo la metodología descrita por Lent & Wygodzinsky (1979) y Carcavallo *et al*, (1998).

RESULTADOS

Detección y valoración de la infección chagásica en Venezuela en casos referidos

De 310 pacientes referidos a nuestro laboratorio con un diagnóstico presuntivo de enfermedad de Chagas, 168 (54.2%) resultaron seropositivos a *T. cruzi*. La combinación de métodos clínicos, serológicos y parasitológicos permitió la detección de 75 (44.6%) casos agudos, 73 (43.5%) individuos en fase crónica de la infección y 20 (11.9%) con infección asintomática o inaparente (Tabla I). De los casos agudos confirmados clínica y seroparasitológicamente, 52 (69.3%) presentaron parasitemia patente, evidenciándose formas sanguíneas circulantes en muestras frescas y/o coloreadas, observándose en algunos de ellos signo de Romaña y/o chagoma de inoculación (Fig. 2).

Discriminación por edad y sexo de la infección chagásica en pacientes referidos

El grupo de pacientes referidos que resultó con infección por *T. cruzi*, luego de una valoración sero-parasitológica, estaba constituido por 96 (57%) de machos y 73 (43%) de hembras, con una relación macho:hembra de 1.3:1. La edad promedio del grupo infectado fue de 29±17 años, con rangos entre 1 y 78 años de edad. En la Tabla 1 puede observarse que la mayor proporción de individuos en la fase aguda de la infección fue detectada en edades entre los 0 y los 30 años, mientras que las infecciones en fase crónica fue primordialmente observada en pacientes con edades cercanas a los 40 años. Es particularmente relevante el hecho de que el 36% de los casos agudos confirmados con enfermedad de Chagas pertenecía al grupo de 0-10 años.

Procedencia de los casos referidos

Los 168 individuos referidos con diagnóstico clínico presuntivo de enfermedad de Chagas que resultaron seropositivos a la infección por *T. cruzi* procedían de localidades situadas en 7 de los 10 estados mencionados. La mayor proporción de infectados fue detectada en aquellos pacientes provenientes del estado Barinas, situado al occidente de Venezuela, confirmándose el diagnóstico de infección chagásica en 114 (67.8%) de ellos, 71 (62.3%)

Fig. 2. Evidencias clínica y parasitológica de casos agudos de enfermedad de Chagas en Venezuela. Nótese un paciente agudo con signo de Romaña y otro con chagoma de inoculación, además de tripomastigote circulante en sangre periférica.



Fig. 3. Factores de riesgo condicionantes de la dinámica de transmisión de la enfermedad de Chagas en Venezuela. La composición incluye palmeras infestadas con triatominos, rodeando casas mejoradas sin domiciliación por los insectos vectores y ranchos con triatominos intradomiciliares infectados con metacíclicos de *Trypanosoma cruzi*. Detalles en el texto.



en condición aguda, 29 (25.4%) en fase crónica de la dolencia y 14 (12.3%) albergando infecciones inaparentes. El análisis reveló, además, tres grupos de infectados de diferente procedencia. Un grupo de pacientes provenientes de localidades del Estado Mérida, situado en la región Andina, con 16% de los casos; otro grupo constituido por pacientes de los Estados Trujillo, Zulia y Portuguesa con un 7.1%, 4.2% y 3.6% respectivamente; y un tercer grupo formado por los diagnosticados en localidades de los estados Táchira, en la región andina, y Carabobo en la parte central del país, ambos con 0.5% de los infectados confirmados. Detalles sobre la proporción de infectados de acuerdo a su procedencia se ofrece en la Tabla II.

Registro y cuantificación de factores de riesgo de transmisión chagásica en los casos referidos

Del total de seropositivos, 102 (60.7%) individuos reconocieron la presencia de triatominos vectores de *T. cruzi* en el domicilio o en el peridomicilio. Asimismo, 91/168 (54.2%) indicaron la existencia de palmeras (*Acrocomia sp.*, *Scheelea sp.*) ubicadas en los alrededores de la vivienda humana (Fig.3). La información obtenida de los pacientes indicó que el 44.9% de ellos habitaban casas en estado deplorable o ranchos de bahareque o tablas con techos de palma obtenidas, a su vez, de las palmeras circundantes en el peridomicilio. En el 97.4% de esas viviendas se registraron triatominos intradomiciliares y en el 2.6% triatominos en el peridomicilio (Fig.3). En contraste, el 37.9% de los pacientes con confirmación diagnóstica de enfermedad de Chagas habitaba casas en buen estado, las cuales en general, fueron construidas con paredes de bloques frizados y techos de láminas de

zinc. En este caso en el 64% se registró ausencia de triatominos intradomiciliares, detectándose estos insectos en el 36% de las casas, 26.6% de ellas con infestación intradomiciliar y el 9.4% restantes en el peridomicilio. Otro aspecto que pudiera ser interesante es el hecho de que en el 94.7% (72/76) de los ranchos había palmeras en el peridomicilio, mientras que en las casas en buen estado esta planta sólo estaba presente en el 29.7% (19/64).

Estimación de seroprevalencia a Trypanosoma cruzi en individuos de localidades rurales de Venezuela

Del total de individuos muestreados en áreas consideradas como endémicas para la enfermedad de Chagas, 448 (11.2%) resultaron seropositivos a la infección por *T. cruzi*, correspondiendo 56.5% (253/448) a hembras y el 43.5% a machos. La infección fue detectada en individuos con una edad promedio de 42.2 ± 21 años y un rango entre 1 y 100 años de edad. Con excepción de Apure la infección por *T. cruzi* fue detectada en todos los estados muestreados, observándose un rango desde 2.9% en los Estados Falcón y Lara hasta 22.8% en localidades del estado Barinas. Sin embargo, es necesario resaltar que estados como Anzoátegui, Portuguesa y Monagas, también mostraron niveles relativamente altos de seropositividad con 20%, 19.5% y 17.4%, respectivamente (Tabla III). El análisis de la seropositividad reveló infección por *T. cruzi* en todos los grupos de edades, observándose valores desde 8.5% en el grupo de 0-10 años hasta 38.6% en el grupo mayor de 50 años. La comparación estadística de la infección entre grupos de edades en las 3.993 muestras

Tabla II. Distribución de seropositividad por grupo de edad y procedencia en pacientes referidos durante el período 1988 – 2003 en Venezuela

Grupo Etario	Estados de Procedencia						
	Barinas	Mérida	Trujillo	Zulia	Portuguesa	Táchira	Carabobo
0-10 años	30 (26.3)		1 (8.3)				
11-20 años	23 (20.2)	1 (3.7)	2 (16.7)	2 (28.6)	1 (16.7)		
21-30 años	27 (23.7)	1 (3.7)	1 (8.3)				
31-40 años	15 (13.1)	11 (40.7)	2 (16.7)	1 (14.2)	3 (50.0)	1 (100)	
41-50 años	13 (11.4)	9 (33.3)	2 (16.7)	2 (28.6)	2 (33.3)		
51 y más	6 (5.3)	5 (18.5)	4 (33.3)	2 (28.6)			1 (100)
Total	114 (67.8)	27 (16.1)	12 (7.1)	7 (4.2)	6 (3.6)	1 (0.6)	1 (0.6)

estudiadas, no reveló diferencia significativa entre las proporciones de seropositivos detectados en los dos primeros grupos, indicando transmisión en las localidades estudiadas durante los últimos 20 años. Es interesante resaltar el hecho de que con excepción de los Estados Falcón y Lara, el resto de los estados que presentaron positividad al estudio serológico mostraron niveles variables de infección por *T. cruzi* en las muestras correspondientes al grupo de edad de 0 a 10 años. Estos valores porcentuales oscilaron entre 1.1% en Cojedes hasta 21.4% en Mérida, obteniéndose, asimismo, valores apreciablemente altos en Barinas (19.1%), Anzoátegui (12.5%) y Trujillo (9.2%). En la Tabla III se detallan los valores porcentuales por entidad geográfica estudiada y por grupos de edades. Los análisis estadísticos no revelaron diferencias significativas entre sexos.

la estimación de los niveles de IgM e IgG en cada una de ellas, permitió discriminar entre el tiempo de adquisición de la infección y los niveles de la misma, es decir, fueron diferenciadas las fases aguda y crónica y las infecciones inaparentes en individuos asintomáticos. Con esta metodología fue posible detectar 2.7% (12/448) de los individuos, que resultaron seropositivos, albergando una infección reciente o aguda, en quienes se evidenciaron altos niveles de IgM específica anti-*T. cruzi*. De los 12 individuos con infección aguda, 7 (58%) procedían de Barinas, 3 (25%) del Estado Cojedes y 2 (17%) de Trujillo. Asimismo, es necesario resaltar que 2 de las 12 infecciones agudas (16.6%) fueron detectadas en niños entre 0 y 10 años de edad. De la misma manera, las infecciones crónicas caracterizadas por los altos niveles de IgG específica anti-*T. cruzi*, fueron detectadas en el 34.4% (154/448)

Tabla III. Distribución por edad y discriminación de las fases de la infección chagásica en individuos de localidades rurales de Venezuela durante el periodo 1995 – 2003

Estado	Nº Muestreados	Nº (%) Seropositivos	Nº (%) Seropositivos por grupo etario						Nº (%) individuos/Fases Infección chagásica		
			0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51 más	Agudos	Crónicos	Inaparentes
Anzoátegui	80	16 (20.0)	2 (12.5)		2 (12.5)	2 (12.5)	3 (18.7)	7 (43.8)		7 (43.7)	9 (56.2)
Apure	72										
Barinas	390	89 (22.8)	17 (19.1)	17 (19.1)	11 (12.4)	11 (12.4)	15 (16.8)	18 (20.2)	7 (7.9)	25 (28.1)	57 (64.0)
Cojedes	722	91 (12.6)	1 (1.1)	2 (2.2)	9 (9.9)	8 (8.8)	31 (34.1)	40 (43.9)	3 (3.3)	21 (23.1)	67 (73.6)
Falcón	559	16 (2.9)			1 (6.2)	5 (31.2)	4 (25.0)	6 (37.5)		13 (81.2)	3 (18.8)
Lara	68	2 (2.9)		1 (50.0)		1 (50.0)				1 (50.0)	1 (50.0)
Mérida	443	14 (3.2)	3 (21.4)	3 (21.4)		1 (7.1)	3 (21.4)	4 (28.6)		6 (42.9)	8 (57.1)
Monagas	195	34 (17.4)	2 (5.9)	2 (5.9)	2 (5.9)	5 (14.7)	9 (26.5)	14 (41.1)		16 (47.1)	18 (52.9)
Portuguesa	425	83 (19.5)	4 (4.8)	7 (8.4)	12 (14.5)	15 (18.1)	8 (9.6)	37 (44.6)		20 (24.1)	63 (75.9)
Trujillo	693	76 (11.0)	7 (9.2)	6 (7.9)	8 (10.5)	8 (10.5)	11 (14.5)	36 (47.3)	2 (2.6)	38 (50.0)	36 (47.4)
Yaracuy	346	27 (7.8)	2 (7.4)	5 (18.5)	2 (7.4)	3 (11.1)	4 (14.8)	11 (40.7)		7 (25.9)	20 (74.1)
Total	3993	448 (11.2)	38 (8.5)	43 (9.6)	47 (10.5)	59 (13.2)	88 (19.6)	173 (38.6)	12 (2.7)	154 (34.4)	282 (62.9)

Discriminación de la fase de la infección chagásica en individuos seropositivos a Trypanosoma cruzi muestreados en áreas rurales de Venezuela

La aplicación de los criterios diagnósticos establecidos en el presente trabajo para declarar las muestras estudiadas como seropositivas, seguido de

de los individuos seropositivos. En este caso la infección en esta fase fue evidenciada en todos los 10 Estados donde *T. cruzi* estaba circulando y en todos los grupos etarios considerados en el presente trabajo observándose, como se esperaba, los mayores porcentajes en los grupos por sobre los 40 años. Otro grupo de 282 individuos de los 448 detectados como seropositivos a *T. cruzi* (62.9%), totalmente

asintomáticos y quienes declararon no haber tenido manifestación alguna de haber sufrido la infección hasta el momento del muestreo, resultaron con títulos bajos de IgM e IgG específicas anti-*T. cruzi* (<1:256). Estos fueron considerados como individuos con infecciones ocultas o inaparentes de acuerdo a previos reportes de nuestro grupo (Ver Añez *et al*, 2001). Individuos en estas condiciones fueron detectados en todos los estados que resultaron positivos a *T. cruzi*, siendo Cojedes, Portuguesa y Barinas las entidades donde más frecuentemente se observó esta fase de la infección con 24%, 22% y 20%, respectivamente. Asimismo, este tipo de infección fue identificada en pacientes de todos los grupos de edades con valores desde 10.6% (30/282) en el grupo de 0 a 10 años hasta 34% (97/282) en el grupo mayor de 50 años. Sin embargo, los estudios estadísticos proporcionales revelaron que los individuos pertenecientes a los grupos de edades de 0 a 10 años y de 11 a 20 años presentaron las mayores proporciones de infecciones inaparentes con 78.9% (30/38) y 79.1% (34/43) respectivamente, no habiendo diferencias significativas entre ellos ($p = 0.9892$). En la Tabla III se ofrecen detalles sobre cada tipo de infección detectada, distribuida por regiones geográficas y grupo de edades de los individuos muestreados.

Reconocimiento de triatomíneos

El examen morfológico llevado a cabo en los ejemplares de la subfamilia *Triatominae* recolectados en los diferentes ambientes estudiados, permitió la identificación de 5 especies previamente descritas en Venezuela. Estas fueron *Rhodnius prolixus*, *R. robustus*, *Eratyrus mucronatus*, *Triatoma maculata* y *T. nigromaculata*, esta última especie detectada en el sur del Estado Mérida domiciliando en un caserío ubicado por sobre los 1.700 m.s.n.m. (Añez *et al*, datos no mostrados). Indagaciones realizadas mediante la disección de 109 palmeras de los géneros *Acrocomia*, *Copernicia* y *Scheelea*, permitió detectar la presencia de triatomíneos en 105 (96%) de ellas, observándose infección por *T. cruzi* en los triatomíneos de la totalidad de las palmeras revisadas. La revisión individual de los ejemplares capturados en palmeras permitió observar un rango de infección por *T. cruzi* en los triatomíneos que osciló entre el 10% al 70% (detalles no mostrados en este artículo). Otro aspecto investigado relacionado con el reconocimiento de triatomíneos en las áreas endémicas para la enfermedad de Chagas en Venezuela, se refiere a la encuesta realizada en individuos de diferentes grupos de edades de 38 localidades de 10

estados. La misma permitió precisar el grado de conocimiento que tenían los pobladores de áreas rurales para identificar los transmisores de *T. cruzi*. En este respecto de 1.388 individuos interrogados 427 (30.7%) fueron capaces de reconocer los triatomíneos. Un grupo de 419 de 1.996 individuos muestreados (20.9%) reconoció la domiciliación de especies triatomíneas en sus viviendas. Asimismo, 171 de 2.048 (8.3%) afirmaron haber sido picados por triatomíneos al menos una vez. El análisis de la información precedente arrojó que Barinas fue el estado con mayor número de individuos picados por triatomíneos con un 29.2%. Por su parte, la domiciliación por triatomíneos fue reconocida por pobladores de las localidades estudiadas en Trujillo (35.9%), Monagas (34%) y Barinas (31.7%), cuyas cifras fueron significativamente mayores que en el resto de los estados estudiados y donde se observaron tenores desde 1.5% en Mérida hasta 26% en Cojedes.

DISCUSIÓN

El constante rociamiento del domicilio humano con insecticida en forma total, suficiente y completo, durante la campaña antichagásica en Venezuela, ejecutada desde la década de los años sesenta, aunada al programa de mejoramiento de la vivienda rural en los últimos 30 años, parecieran razones para pensar que en el país se ha producido un eficiente control sobre las poblaciones triatomíneas y una disminución significativa de la transmisión de *T. cruzi* en las poblaciones humanas de áreas consideradas endémicas para la enfermedad de Chagas. Sin embargo, la información obtenida y analizada en el presente trabajo pareciera contrastar con la intención recogida en el párrafo anterior. Tres hechos apoyan esta posición: i.- la detección de 54.2% de seropositivos a *T. cruzi*, 44.6% agudos, de un grupo de 310 pacientes entre 1 y 78 años referidos a nuestro centro diagnóstico durante los últimos 15 años; ii.- la estimación del 11.2% de seroprevalencia a la infección por *T. cruzi* de un total de 3.993 individuos muestreados en áreas rurales de 11 Estados de Venezuela, con un 8.5% de infección detectada en niños menores de 10 años; y iii.- el reconocimiento por un alto porcentaje de individuos de diferentes Estados de la presencia de triatomíneos intradomiciliares. Detallar la información obtenida en el presente trabajo permite percatarse que del total de casos agudos detectados en el grupo de pacientes referidos, 52 (69.3%) mostraron tripomastigotes circulantes revelando que una transmisión activa de *T. cruzi* había estado ocurriendo durante el período de estudio. Si este hecho, en si mismo, pareciera preocupante, quizás el hallazgo más relevante de este

estudio es que el 36% de los chagásicos agudos referidos eran niños entre 0 y 10 años de edad. Si la alta proporción de casos agudos de enfermedad de Chagas observada durante este estudio es indicativo de la existencia de una significativa incidencia de esta tripanosomiasis, su detección en niños menores de 10 años permite, por otra parte, concluir a cerca de lo reciente de la transmisión. De la misma manera, y para darle connotación nacional a nuestros hallazgos, podría inferirse que si las cifras presentadas en párrafos anteriores corresponden a las obtenidas en un solo centro diagnóstico, es de esperarse que muchos más casos pudieron haber sido detectados si en cada estado de los estudiados hubieran existido facilidades para realizar un diagnóstico acertado sobre la infección chagásica. El análisis comparativo de la información obtenida de pacientes procedentes de diferentes partes del territorio nacional, reveló que el Estado Barinas pareciera ser el más afectado, a juzgar por el alto número de casos agudos detectados en infantes del primer grupo de edad en esa entidad federal. Asimismo, se corroboró la detección de la infección por *T. cruzi* en individuos entre 0 y 30 años procedentes de los Estados Mérida, Trujillo, Táchira y Zulia, ubicados en el occidente de Venezuela. De lo anterior se concluye que la transmisión chagásica en el país no sólo ha estado ocurriendo durante los últimos 15 años, sino también que la campaña antichagásica establecida desde 1961 no ha sido lo suficientemente efectiva, al menos en el occidente de Venezuela, produciéndose un resurgimiento de la dolencia en tenores preocupantes. Otro hecho que torna más dramática la situación es el 11.2% de seroprevalencia a *T. cruzi* estimada en un muestreo realizado durante los últimos 8 años en 3.993 individuos, aparentemente sanos, de 75 localidades rurales de 11 Estados de Venezuela, de los cuales el 8.5% de los infectados fueron niños menores de 10 años. El análisis estadístico por grupos de edades, reveló tenores similares en individuos hasta los 20 años de edad ($p=0.3812$), corroborando que la infección por *T. cruzi* ha estado activamente ocurriendo durante las últimas dos décadas. Los datos colectados corroboran, asimismo, que la infección chagásica ha estado afectando niños de 0 - 10 años en casi todo el territorio de Venezuela, con tenores preocupantes en Mérida (21.4%), Barinas (19.1%), Anzoátegui (12.5%), Trujillo (9.2%) y Yaracuy (7.4%). Este hecho pareciera ser más relevante tomando en consideración que Estados como Barinas y Mérida, diferentes geográficamente, presentan niveles similares de prevalencia a la infección por *T. cruzi* en infantes entre 0 y 10 años de edad. Lo anterior, interpretado en

el contexto geográfico, encuentra asidero en los resultados obtenidos cuando se aplica la prueba de diferencia de proporciones a grupos de estados en los que se detectaron individuos con infecciones crónicas, lo cual permitió distinguir claramente dos grupos grandes grupos. Uno conformado por la proporción de crónicos de los Estados Trujillo (50%), Lara (50%), Monagas (47.1%), Anzoátegui (43.7%) y Mérida (42.9%) con un $p=0.9824$; y otro por los detectados en los Estados Barinas (28.1%), Yaracuy (25.9%), Portuguesa (24.1%) y Cojedes (23.1%) con un $p=0.8794$. El estado Falcón, en el que se detectó la mayor proporción de individuos crónicos durante el estudio con un 81.2%, constituyó un punto aislado de los dos grandes grupos formados. Nuestros resultados contrastan con previas opiniones de que la distribución geográfica de la transmisión activa de *T. cruzi* en Venezuela se restringe a los Estados Portuguesa, Barinas y Lara (WHO, 1999; Moncayo, 2003). Asimismo, niega rotundamente lo expresado por Aché & Matos (2001) quienes afirman que la enfermedad de Chagas en Venezuela está confinada a los ambientes geográficos de piedemonte y montañas donde se lleva a cabo la explotación del café. Contrariamente, el análisis de los resultados obtenidos en el presente trabajo revelan que la infección por *T. cruzi* ocurre en muy diversas regiones de la geografía Venezolana (Fig.1). La circunstancia de haber encontrado la infección chagásica en las poblaciones humanas que se extienden desde los Estados orientales de Monagas y Anzoátegui, localizadas a bajas altitudes, hasta los estados occidentales de Mérida y Trujillo, ubicadas en la región andina a alturas considerablemente mayores que las anteriores, cruzando los Estados occidentales de Barinas, Cojedes, Portuguesa y Yaracuy, localizadas en los llanos venezolanos, para alcanzar el estado Falcón ubicado en una zona semi-árida de la costa nor-occidental del país, así parece corroborarlo. La distribución geográfica observada sugiere que la enfermedad de Chagas se extiende como una franja que abarca indistintamente las poblaciones humanas ubicadas en las diferentes regiones que se encuentran desde el extremo occidente hasta las entidades federales localizadas en el oriente del país. Aún cuando en el presente muestreo no se incluyen áreas correspondientes a las regiones del sur, ubicadas por debajo del curso del río Orinoco, es de esperarse que estudios similares al reportado aquí arrojen resultados comparables.

Las cifras analizadas anteriormente parecieran evidenciar un marcado decrecimiento en el programa de control de vectores de *T. cruzi* en Venezuela, como consecuencia de la reducción y/o eliminación de los rociamientos con insecticidas, debido a los ajustes presupuestarios ordenados por el gobierno central; y/o a políticas sanitarias puntuales establecidas por los gobiernos regionales o las direcciones de salud en las distintas entidades federales. Como consecuencia de la disminución de la actividad de desinsectización de la vivienda rural en áreas endémicas para la enfermedad de Chagas en Venezuela, es frecuente el hallazgo de especies triatominas intradomiciliarias, un aspecto constatado por el 20.9% de individuos encuestados durante el muestreo realizado en localidades rurales, quienes además aseguraron haber sido picados por triatominos en tenores cercanos al 8%. Otro factor de riesgo que apoya aún más la tesis de la transmisión activa de *T. cruzi* en poblaciones rurales de Venezuela, es la alta proporción de palmeras encontradas en los alrededores de las viviendas en localidades endémicas para la enfermedad de Chagas, las cuales en su gran mayoría se encuentran infestadas por ejemplares *R. prolixus* y *R. robustus*. El hecho de que los habitantes utilicen las palmeras para construir los techos u otros accesorios de la vivienda permite el establecimiento de colonias de triatominos intradomiciliarias, favoreciendo la transmisión cuando los insectos arriban infectados al domicilio o cuando encuentran animales domésticos con infecciones con *T. cruzi*. Aparte de la antes mencionada y muy bien conocida transmisión de *T. cruzi* en viviendas colonizadas por triatominos, hemos podido constatar transmisión en casas en buen estado y no colonizadas por estos insectos, atribuyéndose el hecho a la atracción ejercida por factores emanados de la vivienda sobre insectos infectados que albergan palmeras cercanas al domicilio. Este aspecto singularmente observado en Venezuela, pareciera tener cierta importancia en la interpretación de la dinámica de transmisión de *T. cruzi* y permite, asimismo, llamar la atención sobre una nueva situación epidemiológica, la cual parece funcionar de manera diferente. En este caso, la infección por *T. cruzi* podría producirse como consecuencia de la picadura y posterior defecación de triatominos infectados que se desplazan desde su habitat natural hasta la vivienda humana sin llegar a colonizar la misma, posibilidad reconocida por el 30% de individuos encuestados que viven bajo condiciones de riesgo. Toda esta argumentación encuentra apoyo en los resultados obtenidos de la disección de mas de

un centenar de palmeras de localidades rurales de los Estados Trujillo, Barinas, Guárico, Mérida y Falcón, de las cuales el 96% fueron encontradas con infestación por especies como *R. prolixus*, *R. robustus*, *T. maculata*, *E. mucronatus* y en todos los casos los triatominos albergaban infección por *T. cruzi* en tenores variables entre 10% y 70%.

El análisis de los aspectos anteriormente citados permite concluir que en el presente Venezuela se encuentra lejos de lograr la erradicación de las poblaciones domésticas de triatominos vectores de *T. cruzi* como lo plantea la iniciativa de los países del pacto andino y como fue exitosamente obtenido por la iniciativa del cono sur (WHO, 1998; 1997). Factores como las condiciones ecológicas imperantes en las áreas de transmisión de *T. cruzi*, aunado al comportamiento de la población humana expuesta al riesgo de la infección chagásica y a la falta de continuidad en el programa de control de vectores, entre otros, parecieran conspirar contra los propósitos del plan establecido para eliminar la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas en regiones endémicas de Venezuela.

Las conclusiones obtenidas al considerar en su conjunto todos los aspectos discutidos en el presente trabajo, nos lleva a coincidir con previos investigadores quienes opinan que a pesar de que la incidencia anual de la enfermedad de Chagas en Venezuela parece haberse reducido en las últimas décadas, su erradicación pudiera ser difícil de lograr, y que en la actualidad la transmisión en las poblaciones susceptibles que viven en áreas endémicas pudiera estar incrementándose (Felicíangeli *et al*, 2003).

Otro aspecto que se observa en Venezuela y que según Dias *et al*, (2002) comparten la mayoría de los países latinoamericanos que padecen esta dolencia, es la tendencia del gobierno central y de las autoridades políticas y sanitarias de dar prioridad a otros problemas de salud pública como el dengue y otras enfermedades emergentes, colocando a la enfermedad de Chagas en un segundo plano de atención. Contrariamente a esta conducta direccional, nuestros resultados sugieren la imperiosa necesidad de mejorar los servicios de salud en áreas donde la enfermedad de Chagas es endémica, dotando las mismas con personal con habilidad suficiente como para sospechar, al menos, la presencia de la infección por *T. cruzi* en pacientes que requieren ser referidos a centros diagnósticos especializados.

Finalmente, deseamos utilizar los argumentos esgrimidos en el presente trabajo como justificación parcial para sugerir al gobierno central la creación de una ley que declare el control de la enfermedad de Chagas como una política de estado en Venezuela. Ésta, en nuestra opinión, pareciera ser la vía en que el Ministerio de Salud y Desarrollo Social pudiera establecer la prioridad necesaria para luchar contra esta dolencia, despertando, al mismo tiempo, el interés científico sobre su control en universidades, institutos de investigación y en la población venezolana como un todo.

SUMMARY

The present is a multicentric study based on the detection of *Trypanosoma cruzi* infections in patients referred to a diagnostic center as well as in individuals sampled at rural localities of different regions of Venezuela. From 310 patients referred to be examined, 168 (54.2%) were seropositives to *T. cruzi*; 75 (44.6%) in the acute phase with 52 (69.3%) showing blood circulating parasites, and from these 36% were children under 10 years old. The analysis of the other referred patients revealed 43.5% (73/168) of chronic infection at different degrees of cardiac complications, and 11.9% showing inapparent or occult infections. In addition, serologic examination of 3,993 individuals from 75 rural localities, revealed 11.2% of prevalence, detecting 8.5% of the infections in children from 0 to 10 years old. Information on risk factors are provided taking into consideration the frequency of triatomine infestation found in dissected palm trees, the finding of indoor triatomine-bugs and the frequency of bites reported by people from the study endemic areas. The reported figures suggest that Chagas's disease may be re-emerging in Venezuela, judging by the active transmission detected during the last decade. The success of the Venezuelan anti-chagasic campaign during the last 40 years is evaluated in the frame of the present results. The epidemiological situation is discussed and recommendation to create a law declaring Chagas' disease control as a policy of the state is given.

Key words: Chagas' disease, re-emergence, Venezuela.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo dedicado al sabio J.F. Torrealba quien, a pesar de la ferrea oposición y de las

incomprensiones, pudo con perseverancia y escasos recursos develar la realidad sobre la enfermedad de chagas en la Venezuela del siglo xx. Los autores agradecen al FONACIT y al CDCHT-ULA por financiar esta investigación con los proyectos G-99000036 y C-1016-00-07-AA (NA). Al personal de los centros de salud del país quienes nos apoyaron durante el desarrollo del presente trabajo y muy especialmente a los pacientes por su comprensión.

REFERENCIAS

- Aché A. & Matos A.J. (2001). Interrupting Chagas disease transmission in Venezuela. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **43**: 37-43.
- Acquatella H. (1987). Encuesta epidemiológica en sujetos con serología positiva para enfermedad de Chagas. *Ciencia y Tecnología Venezuela* **4**: 185-200.
- Añez N., Carrasco H., Parada H., Crisante G., Rojas A., González N., *et al.* (1999 a). Acute Chagas' disease in western Venezuela: A clinical, seroparasitologic and epidemiologic study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **60**: 215-222.
- Añez N., Carrasco H., Parada H., Crisante G., Rojas A., Fuenmayor C., *et al.* (1999b). Myocardial parasite persistence in chronic chagasic patients. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **60**: 726-732.
- Añez N., Crisante G., Rojas A., Carrasco H., Parada H., Yépez Y., *et al.* (2001). Detection and significance of inapparent infection in Chagas disease in western Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **65**: 227-232
- Berti A.L., Gómez - Nuñez J.C., Guerrero L. & García-Martín G. (1961). Conversión de la campaña de erradicación de la malaria en profilaxis de la Enfermedad de Chagas. *Rev. San. Asist. Soc.* **26**: 24-32
- Braun A. (1970). Palmeiras cultivadas de Venezuela. *Acta Bot. Venezuelica* **5**: 7-93.
- Brumpt E. (1914). Le xénodiagnostic. Application au diagnostic de quelques infections parasitaires et en particulier a la Trypanosomose de Chagas. *Bull. Soc. Pat. Exot.* **7**: 706-710
- Camargo M.E. (1966). Fluorescent antibody test for serodiagnosis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **8**: 227-234.
- Carcavallo R.U., Galindez-Giron I., Jurberg J. & Lent H. (1998). Atlas of Chagas' disease vectors in the Americas. Vol. II, Ed. Fiocruz.

- Días J.C.P., Silveira A.C. & Schofield C.J. (2002). The Impact of Chagas Disease Control in Latin America – A Review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **97**: 603-612.
- Feliciangeli M.D., Campbell-Lendrum D., Martínez C., González D., Coleman P. & Davies C. (2003). Chagas disease control in Venezuela: lessons for the Andean region and beyond. *Trends Parasitol* **19**: 44-49.
- Fleiss J.L. (1973). *Statistical methods for rates and proportion*. 2nd Edition. John Wiley & Sons Inc. New York.
- Lent H. & Wygodzinsky P. (1979). Revision of the Triatomine (Hemiptera, Reduviidae) and their significance of vectors of Chagas' disease. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **163**: 125-520.
- Maekelt G.A. (1983). La epidemiología de la enfermedad de Chagas en relación con el ecosistema domiciliario. *Inter. Ciencia* **8**: 353-366.
- Mathsoft (1999). *S-plus 2000 Guide to Statistics*. Vol. 1 Seattle: Mathsoft
- Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (1970). Resumen informativo División Endemias Rurales. Venezuela, MSAS, 1960 – 1969.
- Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (1972). Informe anual 1971 MSAS, Venezuela.
- Moncayo A. (2003). Chagas disease: Current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone countries. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **98**: 577-591.
- Parada H., Carrasco H., Añez N., Fuenmayor C., Arriaga A., Palacios E. & Aguilera M. 1996. La enfermedad de Chagas aguda. Características clínicas, parasitológicas e histopatológicas. *Arc. Cardiol.* **16**: 10-17.
- Parada H., Carrasco H., Añez N., Fuenmayor C. & Inglessis I. (1997). Cardiac involvement is a constant finding in acute Chagas disease: a clinical, parasitological and histopathological study. *Int. J. Cardiol.* **60**: 49-54.
- Pifano F. (1974). Estado actual de la enfermedad de Chagas en Venezuela. *Focos naturales de la tripanosomiasis en el medio silvestre y su repercusión en las comunidades rurales*. Foro Enfermedad de Chagas, San Carlos, Cojedes, Junio 19, 23 pp. Stuart A. & Ord J.K. (1991). *Kendall's Advanced Theory of Statistics*. Vol. 2 Oxford: Oxford University Press.
- Tejera E. (1919). La Trypanosomose americaine ou maladie de Chagas au Venezuela. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* **12**: 509-513.
- Torrealba J.F. (1940). Resumen de la práctica del xenodiagnóstico para la enfermedad de Chagas en Zaraza (Guárico, Venezuela). *Rev. Med. Vet. Parasit.* **2**: 25-43.
- Torrealba J.F. (1954). Otros 16 casos de enfermedad de Chagas comprobados en San Juan de Los Morros. *Gaceta Med. Caracas* **61**: 123-147.
- Torrealba J.F., Armas E.A., De Lima A., Díaz-Vasquez A.D., Lira V.B. & Rojas-Marroquin I.R. (1955a). Comprobación de casos agudos de enfermedad de Chagas en El Sombrero, Distrito Mellado, Estado Guárico. *Gaceta Med. Caracas* **63**: 445-452.
- Torrealba J.F. (1955b). Enfermedad de Chagas y tripanosomiasis de Tejera. *Pub. Dir. Cultura ULA, Mérida, Venezuela* **47**: 1-52.
- Torrealba J.F., Pieretti R.V., Ramos I., Díaz-Vasquez A. & Hernández-Pieretti O. (1958). Encuesta sobre enfermedad de Chagas en la Penitenciaría General de Venezuela. *Gaceta Med. Caracas* **67**: 19-58.
- Vattuone N. & Yanovsky J. (1971). *Trypanosoma cruzi*: agglutination activity of enzyme-treated epimastigotes. *Exp. Parasitol* **30**: 349-355.
- Voller A., Draper C., Bidwell D. & Bartleti A. (1975). Microplate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) Chagas disease. *Lancet* **1**: 426-429.
- WHO (1997). Andean countries initiative launched in Colombia. *TDR News* 53, 3 pp.
- WHO (1998). Chagas disease: interruption of transmission, Uruguay. *Weekly Epidemiol Rec.* **1**, 4 pp.
- WHO (1999). Chagas disease, progress towards interruption of transmission in Venezuela. *Weekly Epidemiol Rec.* **35**: 289-292.