

Serorreactividad de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* en áreas con transmisores de la enfermedad de Chagas en el distrito de Cascas, región La Libertad

Seroreactivity of *Trypanosoma cruzi* antibodies in areas with Chagas disease transmitters; in the district of Cascas, region La Libertad

Ofelia Magdalena Córdova Paz Soldán¹ y Franklin Roger Vargas Vasquez²

Recibido: 17 de septiembre de 2017

Aceptado: 24 de septiembre de 2017

Resumen

La enfermedad de Chagas es una patología causada por *T. cruzi*, un parásito transmitido por insectos del orden triatomíneos, por lo que la existencia de esta enfermedad está condicionada por la presencia de estos triatomíneos transmisores. La existencia de viviendas que propician la infestación por triatomíneos en los distritos de Cascas-La Libertad impone la necesidad de valorar la serorreactividad de anticuerpo *anti-T. cruzi* en los moradores de las áreas en estudio.

Para ello se obtuvo una muestra de sangre venosa de los pobladores procedentes de Palo Blanco, Monteverde y Pampa Laguna del distrito de Cascas, áreas que reúnen las condiciones para albergar al insecto transmisor. La prevalencia *anti-T. cruzi* en la muestra de estudio se determinó con las técnicas serológicas ELISA y Western Blott. El análisis comparativo de sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA y Western Blott en las 78 muestras analizadas reveló una seroprevalencia del 29,48% por la técnica de ELISA y una serorreactividad del 34,58% por Western Blott en los residentes en estudio. Finalmente, el análisis de seroprevalencia anti *T. cruzi* con insecto transmisor muestra una estrecha asociación que sugiere ser considerado como potencial de riesgo para contraer la enfermedad de Chagas.

Palabras claves: Enfermedad de Chagas, seroprevalencia, *Trypanosoma cruzi*.

Abstract

Chagas disease is a pathology caused by *T. cruzi*, a parasite transmitted by insects of the order triatomíneos, so the existence of this disease is conditioned by the presence of these transmitting triatomíneos. The existence of houses that promote the infestation by triatomíneos in the districts of Cascas, La Libertad, it is imperative to evaluate the seroreactivity of *anti-T. cruzi* antibody in the residents of the study areas.

For this purpose, a venous blood sample obtained from the inhabitants of Palo blanco, Monteverde and Pampa lagoon of the district of Cascas, areas that are able to host the disease transmitted by this insect. The prevalence of *anti-T. cruzi* in the study sample was determined using the ELISA and Western Blott, serological techniques. The comparative analysis of sensitivity and specificity of the ELISA and Western blot tests in the 78 samples analyzed revealed a seroprevalence of 29.48% by the ELISA technique and a seroreactivity of 34.58% by Western Blott in the study residents. Finally, the analysis of seroprevalence of *T. cruzi* of the insect transmitter shows a close association that is considered as a potential risk for developing Chagas disease.

Key words: Chagas disease, seroprevalence, *Trypanosoma cruzi*.

¹ Doctora en Microbiología. Universidad Privada Antenor Orrego. ocordovap@upao.edu.pe

² Doctor en Microbiología. Universidad Nacional de Trujillo.

I. Introducción

El *Trypanosoma cruzi* es un protozoo parásito causal de la enfermedad de Chagas, emergente en nuestro medio. La enfermedad de Chagas es una de las patologías parasitarias más graves en América Latina, causal de discapacidad en casi la cuarta parte de la población latina y representante de enormes pérdidas económicas en los países endémicos y menos desarrollados del continente americano, y está considerada una de las nueve enfermedades más olvidadas del mundo.¹

Se estima que hay 20 millones de infectados y cerca de 34 millones de personas en riesgo de infección en la zona norte del Perú, lo cual representa el 25% de la población total de esa región. Por eso se constituye en un problema de salud pública creciente.²

La patogenia de esta enfermedad es mixta y varía según el estadio evolutivo del parásito, mostrando una amplia variedad de manifestaciones clínicas, así como puede presentarse en forma asintomática. Por lo que en su diagnóstico se recomienda tener en cuenta los antecedentes epidemiológicos y el diagnóstico parasitológico.²

Los métodos de diagnóstico de laboratorio a utilizar van a depender de la fase en la cual se encuentre la enfermedad. Para el diagnóstico certero del mal de Chagas en una fase aguda, fase que generalmente es asintomática o presenta signos muy leves, es útil la detección del *T. cruzi* sangre periférica. En el caso de una fase crónica asintomática, intermedia o latente que puede pasar desapercibida o pausi-sintomática durante varios años e incluso toda la vida en un individuo con serología positiva y parasitemia baja, se debe recurrir a la detección de anticuerpos específicos por métodos serológicos.³

Los métodos de detección de anticuerpos más frecuentes son las técnicas de aglutinación de látex, inmunofluorescencia ELISA-DOT, ELISA y Western Blott. En 2006, The Food and Drug Administration (FDA) aprobó un test ELISA que además de ser más eficaz en esta fase de la enfermedad presenta alta sensibilidad y apreciable especificidad para la detección de anticuerpos frente a *T. cruzi*.⁴

Las estrategias de diagnóstico, especialmente en áreas de alta prevalencia, actualmente están orientadas a realizar más de un análisis antes de emitir un diagnóstico definitivo. Una persona es considerada infectada cuando muestra un resultado parasitológico positivo o si tiene dos resultados positivos con dos técnicas serológicas que utilicen diferentes antígenos.⁵

La enfermedad de Chagas presenta diversas formas de transmisión, siendo las principales formas: la transfusión de sangre infectada y la transmisión vectorial; aunque también puede transmitirse por alimentos con presencia del parásito, por exposición accidental a material contaminado, trasplante de órganos o tejidos y por vía vertical de madre infectada a su hijo recién nacido.⁶

En el norte del Perú los principales vectores de la enfermedad de Chagas son *T. dimidiata*, *T. carrioni*, *Rh. ecuadoriensis*, *Rh. rufotubercuatus* y *P. chinai*, y *P. herreri*. Por otro lado, estudios en centros poblados han mostrado presencia de triatomos intradomiciliarios con índices de 10 al 100% y con infección triatómica del 0,30%.⁷ En el distrito de Cascas-Región La Libertad, los estudios sobre la biogeografía de los triatomos del norte del Perú muestran la presencia de *Rhodnius ecuadoriensis*, insecto transmisor de *T. cruzi* por método pasivo (sensores) positivos como por el método activo (hombre/hora) y con índices de infección con *Trypanosoma*. Sin embargo, no existen estudios de seroprevalencia que permitan estimar el riesgo de la Enfermedad de Chagas en dichos áreas. La prevalencia de esta patología en comunidades que albergan al insecto transmisor es elevada y supone un riesgo de transmisión vertical importante que obliga a detectar anticuerpos frente al parásito en los exámenes de salud.⁷

Si bien existen técnicas de cribado, pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI), Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA)⁸ y Western Blot (WB) disponibles en el mercado para detectar anticuerpos circulantes contra los parásitos en la circulación sanguínea de animales infectados experimentalmente, aun no existe consenso en cuanto al patrón de reconocimiento antigénico requerido para obtener valores altos de sensibilidad y especificidad en infecciones tempranas.⁹ Los patrones de reconocimiento antigénico obtenidos por Western blot relacionados con antígenos de bajo peso molecular han resultado muy sensibles para el diagnóstico de los casos asintomáticos. Así como evaluar la evolución de la enfermedad en las áreas endémicas o si el tratamiento es efectivo.¹⁰

Esta situación conlleva a determinar la prevalencia de anticuerpos frente a *T. cruzi*, agente causal del Mal de Chagas en comunidades que albergan al insecto transmisor, en el distrito de Cascas-Región La Libertad, de marzo del 2015 a marzo del 2016. Estos hallazgos permitirán detectar el parásito en comunidades con riesgo de transmisión vertical y endemidad, e incluirlo en un programa a nivel nacional de estudios de seroprevalencia. Este es el principal reto preventivo de la enfermedad de Chagas en el Perú, según la Organización Mundial de la Salud¹ y efecto motivador del presente estudio.

II. Materiales y métodos

2.1 Tipo de estudio y diseño de investigación:

Corresponde a un estudio prospectivo, observacional y longitudinal realizado desde marzo del 2015 hasta marzo del 2016.

2.2 Población y muestra: El estudio se realizó en dos localidades del distrito de Cascas, provincia de Gran Chimú, región la Libertad: Palo Blanco, Monteverde y Pampa Laguna. Los integrantes y el número de integrantes de la muestra se halló utilizando la fórmula de tamaño muestral con $p < 0,05\%$ e IC del 99,5 % y siguiendo la técnica de muestreo aleatorio simple de los moradores que cumplieron con los criterios de inclusión.

2.3 Procedimientos

Se realizaron los siguientes procedimientos:

A. Área de estudio y estimación vectorial

Cascas es el distrito de mayor densidad poblacional de la provincia de Gran Chimú, con una población de 14839 habitantes, ubicado a 108km de la ciudad de Trujillo en coordenadas de $7^{\circ} 28' 47''$ S, $78^{\circ} 49' 4''$ W.

El área de estudio estuvo comprendida por los caseríos de Palo Blanco, Monteverde y Pampa Laguna, ubicados a una altitud comprendida entre los 450 a 850 msnm en el distrito de Cascas, provincia de Gran Chimú, región la Libertad.

Para la estimación de vectorial se realizaron colecta de triatomos (insecto transmisor) por el método de captura/hora/hombre de abril a diciembre del 2015. Los ejemplares colectados fueron conservados en frascos rotulados y trasladados al laboratorio para su procesamiento.

B. Obtención de muestra biológica

La muestra biológica se obtuvo siguiendo los procedimientos convencionales de extracción venosa, utilizando el sistema vacuítaner. Asimismo, se siguieron las normas éticas establecidas por la Declaración Universal de los Derechos Humanos y por el Comité de Ética de la Universidad.

El suero sanguíneo extraído fue almacenado a -20°C , hasta su utilización en las técnicas serológicas inmunoenzimáticas y de inmunotransferencia.

C. Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* por la técnica de ELISA y de Western Blott

Para la detección de serología reactiva en moradores de las áreas en estudio, se preparó un extracto antigénico en fase soluble de las formas epimastigotes de una cepa estándar de *T. cruzi*, cultivada en medio bifásico infusión de cerebro corazón (BHI), sonicada en presencia de inhibidores de proteasas y centrifugada a 10 000 g por 30 minutos.⁵

- Detección de anticuerpos utilizando el **ensayo inmunoenzimático (ELISA) como técnica de tamizaje**. Para ello se procedió a sensibilizar los micropocillos de las placas con el extracto antigénico, a 4°C durante toda la noche. Micropocillos que fueron posteriormente bloqueadas con albumina bovina al 1% por 2h a 37°C ., y expuestos a los sueros de los moradores de las áreas de estudio, en diferentes diluciones: 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200 en PBS, a 37°C por 2h. Seguidamente los micropocillos fueron incubados con la inmunoglobulina IgM humana marcada con peroxidasa por 2h a 37°C . Una vez incubado se adicionó agua oxigenada (como sustrato), y se cuantificó en espectrofotómetro a 492 nm. Tomando en cuenta el valor de corte, de 0.15 U.D.O, establecido a partir del valor de la media más cinco desviaciones estándar de 50 sueros de una población urbana clínicamente sana. El rango normal de cada ensayo fue definido como la media más tres desviaciones estándares.
- Detección de anticuerpos utilizando el **método de Western Blott como técnica confirmatoria**; para lo cual se realizó un corrido electroforético del antígeno soluble de *T. cruzi* en geles de poliacrilamida al 1%; seguido de una electro transferencia a membrana de nitrocelulosa por una hora a 100 volts. Membranas de nitrocelulosa que fueron bloqueadas con albumina bovina al 1% en PBS al 0.1M a 4°C toda la noche, y lavadas por cuatro veces en tampón de lavado conteniendo PBS-Tween al 0.1 %. Posteriormente, se expusieron a sueros de los moradores de las áreas en estudio a dilución de 1:1 000 por dos horas y a 37°C . para finalmente incubarlo con anti IgG humana conjugada con peroxidasa en dilución 1:1 000; y tras cuatro lavados más revelarlo con 30 mg de 4-cloronaftol diluidos en 10 ml de metanol y 50 ml de PBS con 50 ul de peróxido de hidrogeno al 30 %. Para la detección de posibles reacciones cruzadas se incluyeron sueros con anticuerpos de personas con leishmaniasis cutánea. Como control positivo se utilizó el suero de sujetos con diagnóstico de miocardiopatía chagásica y como control negativo el suero de sujetos con cardiopatías sin criterio sugestivo de enfermedad de Chagas. Los resultados obtenidos fueron comparados con el kit de diagnóstico CHAGATEK-ELISA. (Lab. Wiener-Argentina)

D. Análisis estadístico

La estimación de riesgo de transmisión vectorial en relación a la reactividad de los sueros se obtuvo con el análisis estadístico inferencial con regresión logística.

La seroprevalencia se calculó con la proporción de los moradores con seroprevalencia para ELISA como para Western Blott, comparado con la proporción de casos mediante la prueba de T-Student. La sensibilidad, especificidad y el valor predictivo se consideró estadísticamente significativos en aquellos valores con $p < 0.05$.

III. Resultados

A. Área de estudio

El área de estudio estuvo comprendida por los caseríos de Palo Blanco, Monteverde y Pampa Laguna, ubicados a una altitud comprendida entre los 450 a 850 msnm en el distrito de Cascas, provincia de Gran Chimú, región la Libertad. (Fig 1)



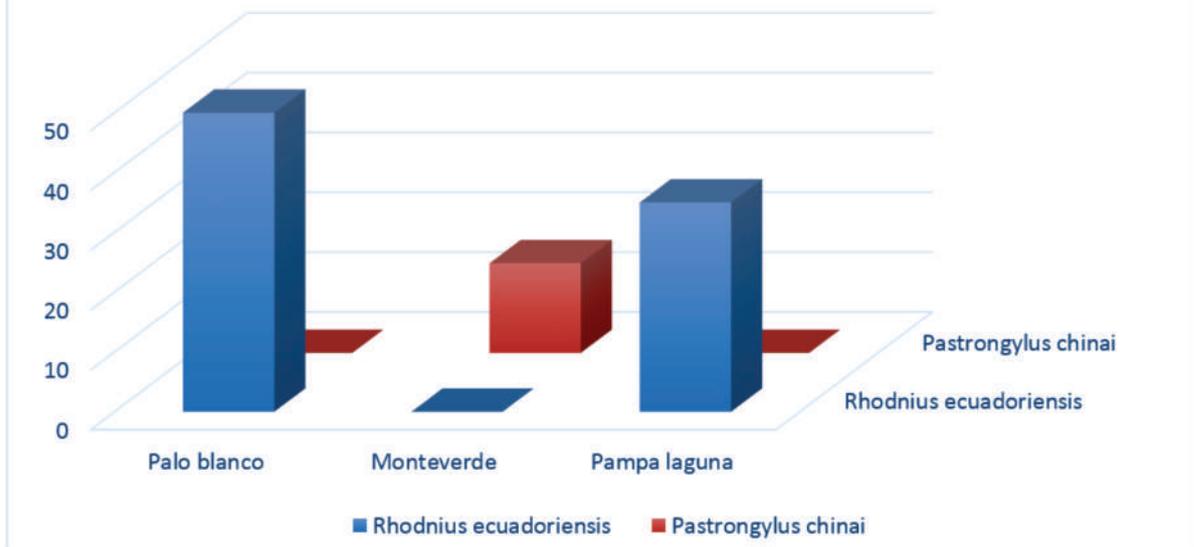
Fig 1. Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en las áreas de estudio del distrito de Cascas-Trujillo. Perú.

B. Estimación del riesgo de transmisión vectorial

Luego de la identificación taxonómica según sexo y forma evolutiva, se halló el índice de infestación vectorial por vivienda y por localidad de estudio, e índice de transmisión vectorial tripano-triatomino.

En el estudio de relación entre seropositividad y el "conocimiento de insecto transmisor *R. ecuadoriensis*, *P. chinai*" se obtuvo que existe una asociación entre ambas variables (Tabla 1) en las áreas de estudio.

Tabla 1. Tritominos hallados en la áreas de estudio

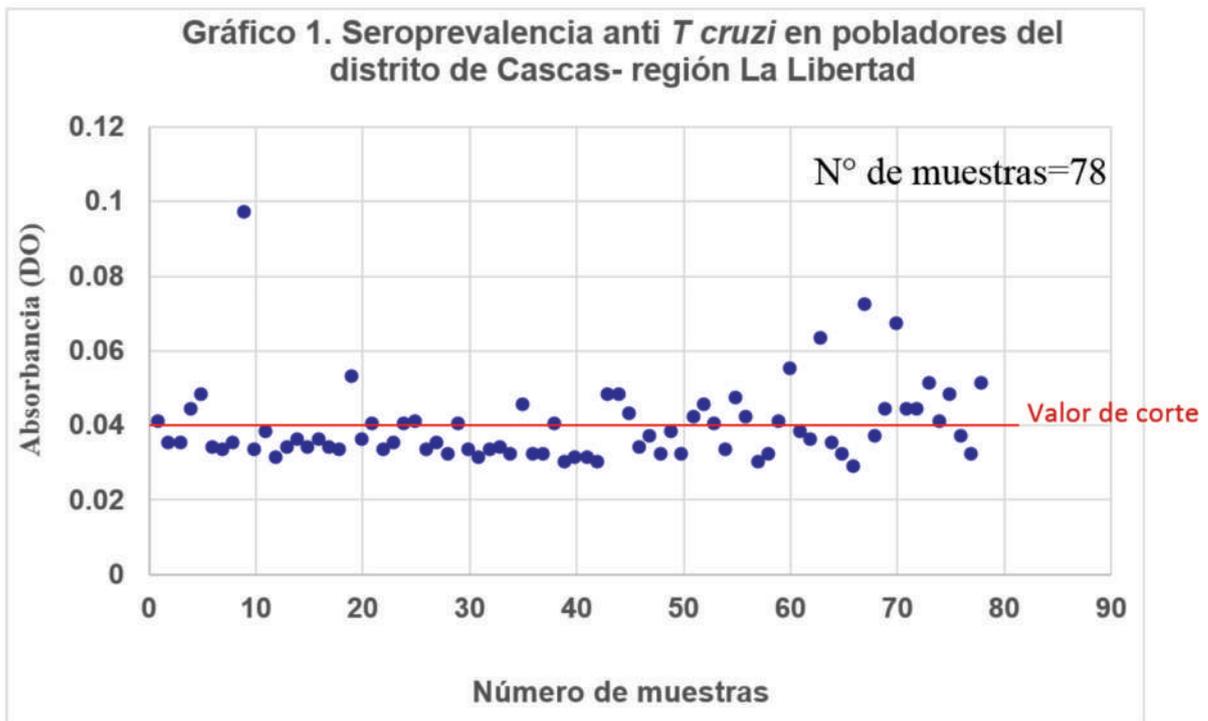


Al analizar la relación entre individuos seropositivos, sus viviendas y la referencia de mamíferos reservorios en ellas, observamos que la presencia temporal o permanente de perros y cuyes en las viviendas son factores de riesgo. También las aves (gallinas y los pájaros) son factores de riesgo.

C. Estimación de la seroprevalencia utilizando el **ensayo inmunoenzimático** (ELISA)

El **tamizaje** de los anticuerpos IgM e IgG en el suero sanguíneo de los moradores de las localidades en estudio, permitió identificar 23 casos seroreactivos de las 78 muestras analizadas. Indicando una seroprevalencia del 29,48% en los sueros en estudio.

Gráfico 1. Seroprevalencia anti *T cruzi* en pobladores del distrito de Cascas- región La Libertad

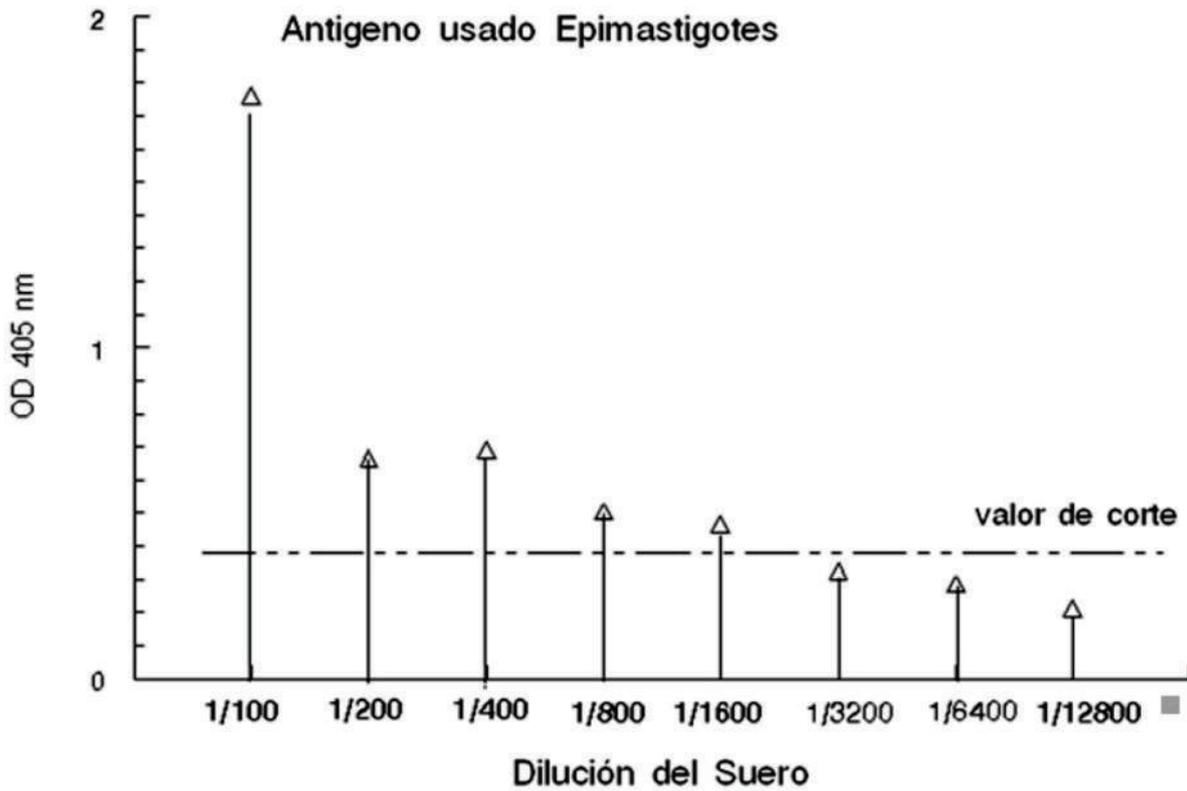


La sensibilidad y especificidad de esta técnica se estableció en función a los valores de la densidad óptica (DO) en las placas de micro titulación de ELISA: 190-200: DO normal, 200-220: DO intermedio y 220 D.O reactivo.

Valoración antigénica por ELISA

La técnica ELISA usando antígeno crudo ha mostrado una baja sensibilidad y especificidad en diluciones de 1/3200 cuya densidades óptica a 405nm están por debajo del valor de corte.

Tabla 2. Valoración antigénica de *T. cruzi* en la determinación de la concentración

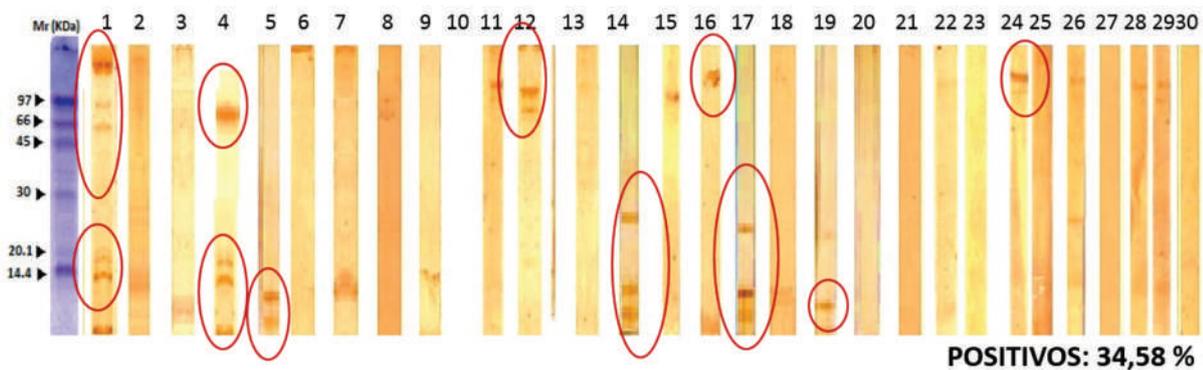


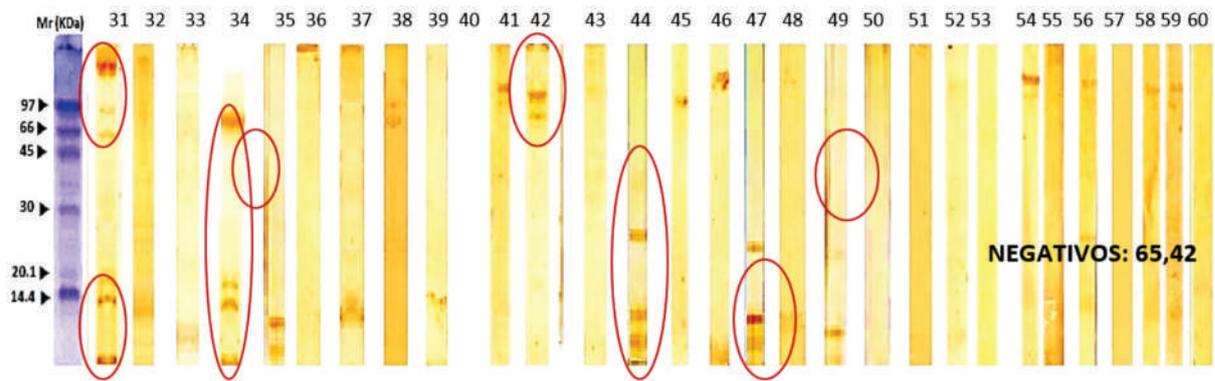
D. Estimación de la seroprevalencia utilizando el método de Western Blott

La confirmación de la serología reactiva en los moradores de las localidades en estudio mostraron 7 bandas reconocidas por los anticuerpos contra *T. cruzi*. Perfil de bandas de reconocimiento antígeno-anticuerpo que se observaron en ambas localidades en las tiras de Western Blott. Se observa un reconocimiento de la bandas de 66 y 97 kDa en un 34,58% de los casos y en un 65,42% la banda de 14 y 20 kDa.

Tabla 3. Serorreactividad de anticuerpos anti *T. cruzi* en dos localidades con transmisores del Mal de Chagas. Distrito de Cascas

Nº de muestras=58





SDS-PAGE al 20% bajo condiciones no reductoras y teñidas con Azul de Comassie: (a) Proteínas estándar. Del 1 al 30 sueros de pacientes en estudio.

Datos que permiten hacer el análisis comparativo de sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA y Western Blott en la seroprevalencia de anticuerpos anti *T. cruzi* en las tres zonas de estudios del distrito de Cascas- región La Libertad – Perú.

IV. Discusión

La enfermedad de Chagas es una patología parasitaria muy importante en América Latina debido a que produce seis veces más años de vida perdidos por discapacidad que las otras enfermedades parasitarias combinadas. Constituye un problema de salud pública creciente para casi la cuarta parte de la población latina y representa enormes pérdidas económicas en los países endémicos¹. Es emergente en nuestro medio debido principalmente al incremento de las migraciones en las zonas rurales, lo que incrementa la prevalencia y genera una serie de necesidades en cuanto al diagnóstico y manejo terapéutico de esta enfermedad, pero sobre todo respecto al control epidemiológico.¹¹

En el diagnóstico de infección por *T. cruzi*, se recomienda los métodos parasitológicos directos dado que permiten demostrar la presencia del parásito en la muestra de sangre de pacientes que se encuentren en fase aguda.¹² Sin embargo, cuando la fase de infección es indeterminada, crónica o se encuentra comprometiendo sistemas de mayor complejidad como el sistema nervioso, es recomendable el uso de pruebas serológicas para detectar anticuerpos circulantes (inmunoglobulinas G) contra el parásito. Entre los métodos serológicos factibles de aplicar tenemos el ensayo inmunoenzimático (ELISA)^{1,10} y el western Blott.⁹

Según los hallazgos presentados en la tabla 2 se puede observar grandes variaciones en la especificidad y sensibilidad de la prueba de ELISA, variaciones que han sido observadas por el empleo de antígenos purificados y/o recombinantes; o modificaciones en la preparación de los antígenos completos.¹⁰ En este sentido la sensibilidad y especificidad de los métodos de diagnóstico deben estar en relación con el tipo de antígeno, sea al utilizar el extracto total o soluble del parásito, o el poder ser detectada en los fluidos corporales como la sangre, incluso cuando la parasitemia es baja. De manera que pueda permitir el diagnóstico tanto en la fase aguda como en la crónica, o el seguimiento del tratamiento de los pacientes chagásicos.⁸

Una alternativa para ello son las pruebas serológicas, que constituyen importantes herramientas para estimar los niveles de infección por el *T. cruzi* y evaluar las medidas de control. No obstante ante una intervención médica a las personas positivas se recomienda confirmar el examen en suero⁵ de por lo menos dos técnicas serológicas con fundamentos metodológicos diferentes debido a la gran cantidad de reacciones cruzadas con anticuerpos de individuos que padecen otras enfermedades parasitarias relacionadas.¹²

En este sentido, utilizando dos técnicas serológicas: test de ELISA (grafica 1) y de Western Blott (tabla 3) han mostrado niveles de IgG anti-*T. cruzi* lo suficientemente sensible en los sueros de la población estudiada, y con densidad óptica por encima del punto de corte. Hallazgos con seroprevalencia del 34, 5 % por encima de los hallados en otros estudios realizado en zonas rurales con vigilancia instalada, con prevalencia fue de 1.0%, según lo informado por la OPS^{3,9} Una prevalencia que debe tomarse como relevante en los programas de control de Chagas, toda vez que se asocia a áreas con antecedentes de infestación triatomínica⁷ y en donde aún persisten algunos de los factores de riesgos epidemiológico característico de esta enfermedad, tales como el tipo de vivienda, la cría de cuyes en habitas intradomiciliarios y la persistencia del vector triatomínico. (tabla 2)

No obstante, otros estudios realizados en comunidades suburbanas y urbanas reportan seroprevalencia del 36% y 4% respectivamente¹³ o en comunidades aisladas habitadas por indígenas o rurales¹¹ con evidencia serológica de infección por *T. cruzi* del 37.7% en 679 personas estudiadas.⁹

En el Perú el programa de control de la enfermedad de Chagas se inició en 19402. No obstante, muchas áreas no reciben acciones de vigilancia, lo que explica la baja sustentabilidad de las acciones de control y por tanto un aumento de la seropositividad, sobre todo en las poblaciones rurales dispersas.³

En ausencia de acciones de control la re infestación domiciliaria por insectos transmisores de *T. cruzi* aumenta exponencialmente y activa la infección a mediano plazo. No obstante, nuestros datos sugieren una mayor seroprevalencia de enfermedad de Chagas, acorde con las condiciones epidemiológicas de las áreas de estudio.¹²

Por otro lado, se puede observar que en el presente estudio mostramos la presencia de anticuerpos *anti-T. cruzi*, en poblaciones rurales situadas en un área infestada por triatomíneos transmisores de *T. cruzi*.¹¹ Con seropositividad en edades superiores a los 50 años, resultados que plantean una infección con *T. cruzi* hace más de 30 años; signo característico de una infección crónica y no de una transmisión activa de la enfermedad.¹⁴ Si bien la infestación domiciliaria descendió de un 31,1% a 5,6% , estos hallazgos que se han observado en otras regiones de Latinoamérica en la que se han identificado características del domicilio y del peridomicilio asociadas a la seropositividad.^{3,7} Índices de seroprevalencia a *Trypanosoma cruzi* que sugieren una transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas en moradores en áreas de riesgo del distrito de Cascas, que requieren ser atendidas en un sistema de vigilancia de la incidencia de la enfermedad.¹³

Un estudio sobre la distribución y prevalencia de la tripanosomiasis americana en reservorios de la enfermedad, contribuye significativamente en la detección de casos asintomáticos o con sintomatología confusa¹⁵ y en el diagnóstico temprano de animales o humanos sospechosos o en riesgo de padecer estas enfermedades, criterios relevantes a considerar en el control de la enfermedad.¹ O quizás simplemente para una asistencia farmacológica adecuada, oportuna y eficiente que permita disminuir la densidad de la población de infectados y con ellos los focos endémicos de los parásitos.¹³

Por otro lado, los antecedentes de desinsectación que se realizaron durante el año 2002-2005 de *R. ecuadoriensis* rociando el insecticida piretroide de acción residual (Beta cyfluthrina 5% PM).en la viviendas positivas para triatomíneos del distrito de Cascas⁷ sugiere que la reactividad para *T. cruzi* en la prueba de ELISA y/o western Blott puede estar asociada a la fase indeterminada de la enfermedad.¹⁵ Hallazgos que se pueden comparar con los registrados en los diferentes distritos comprometidos en el departamento de Arequipa, valores que van desde el 7.14 % en Caravelí, 6.5 % en Tiabaya, 2001 y 3.33 % Huatiapilla, Ongoro y Andamayo - Castilla, 2002, 4.8% en Caravelí; en el grupo escolar: 2.67 % en Huatiapilla, Ongoro y Andamayo - Castilla; de 1 a 15 años 4.55 % en Uchumayo, 1990, 5.69 % en Caravelí; y 11.3% en escolares de 3 a 18 años en Vitor.³

V. Conclusiones

1. Se ha demostrado la presencia de anticuerpos frente a *Trypanosoma cruzi* en moradores del distrito de Cascas, siendo la primera vez que se detecta seroprevalencia
2. Se ha detectado la presencia de anticuerpos frente a *T. cruzi* en zonas suburbanas con antecedentes de infestación triatomínica en el distrito de Cascas

VI. Referencias bibliográficas

1. Who (2012). La enfermedad de chagas (tripanosomiasis americana). Nota descriptiva n°340. (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/index.html>)
2. Boletín oficial general de epidemiología. 2009. Enfermedad de chagas o tripanosomiasis americana. Protocolos de vigilancia epidemiológica parte i. Ministerio de salud. Lima-perú)
3. Ruelas nancy y tapia rafael. 2011. Seroprevalencia de la infección por *trypanosoma cruzi* en pobladores del valle de vitor arequipa, Perú . Biomédica 2011;31(sup.3):209-421)
4. Pan american health organization. Estimación cuantitativa de la enfermedad de chagas en las Américas. Washington, d.c.: paho. Ops/hdm/cd/425-06; 2006
5. Parada mc, alvarez m, vila e, ramada c, calabuig m, villalba j, montoro j., Roig r. Comparison study of two screening techniques for chagas disease in blood donors from the valencia regional community. Xviith regional congress of the isbt. Europe. Ibts science series (madrid). 2007; 2: 248.
6. Schmunis ga and yadon ze (2010). "chagas disease: a latin american health problem becoming a world health problem". Acta tropica, 115: 14-21
7. Vargas f, córdova paz soldán o, c. Marín, m. Jose rosales, r. Sánchez- gutierrez, m. Sánchez-moreno. 2007. Epidemiology of american trypanosomiasis in northern peru. Annals of tropical medicine & parasitology, vol. 101, no.7, 1-6
8. Mateo h, sanchez-moreno m, marin c (2010). Enzyme-linked immunosorbent assay with purified *trypanosoma cruzi* excreted superoxide dismutase. Clin biochem, 43(15):1257-64
9. Otani mm, vinelli e, kirchhoff lv, del pozo a, sands a, vercauteren g, et al. Who comparative evaluation of serological assays for chagas disease. Transfusion. 2009;49:1076-82
10. Marin c, sanchez-moreno m (2010). "excreted/secreted antigens in the diagnosis of chagas' disease". In: jirillo e, brandoniso o, editors. Immune response to parasitic infections 1. Bentham ebooks, 10-20 [chapter 2]
11. Villagran me, sanchez-moreno m, marin c, uribe m, de la cruz jj, de diego ja (2009). "seroprevalence to *trypanosoma cruzi* in rural communities of the state of queretaro (mexico): statistical evaluation of tests". Clin biochem, 42(1-2):12-6
12. Masuet-aumatell c, ramon-torrell j, casanova-rituertoc a y dávalos-gamboa m. Seroprevalencia de la infección de chagas y sus determinantes en población pediátrica de la región de cochabamba, bolivia med clin (barc). 2014; 142(3):132-134. [Http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2013.02.020](http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2013.02.020)
13. Bonfante-cabarcas r, rodríguez-bonfante c, oviol vielma b, garcía d, alexander mogollón d, elis aldana s, concepción curvelo j. Seroprevalencia de la infección por *trypanosoma cruzi* y factores asociados en un área endémica de venezuela. Cad. Saúde pública, rio de janeiro, 27(10):1917-1929, out, 2011
14. Rassi jr a, rassi a, marin-neto ja (2010). "chagas disease". Lancet, 375: 1388- 402
15. Coura jr and vinas pa (2010). "chagas disease: a new worldwide challenge". Nature, 465(7301): s6-7

Agradecimiento

Esta investigación fue realizada con el apoyo FAIN (Fondos de Apoyo a la Investigación) 2015, promovida por la Oficina de Investigación-VIN-UPAO