

Estudio de casos y controles anidado en una encuesta serológica para evaluar la eficacia de un programa de lucha contra la enfermedad de Chagas en el Brasil

M. Carneiro,¹ E. C. Moreno² y C. M. F. Antunes^{1, 3}

Objetivo Identificar factores de riesgo asociados a las infecciones por *Trypanosoma cruzi* en áreas sometidas a vigilancia en el Estado de Minas Gerais (Brasil).

Métodos Para evaluar la efectividad del programa de lucha contra la enfermedad de Chagas se empleó un modelo de casos y controles anidado incorporado en una encuesta serológica de escolares.

Resultados En una muestra de 40 374 escolares (de 7–14 años) encuestados, 16 niños dieron positivo en una prueba de anticuerpos contra *T. cruzi* (por inmunofluorescencia indirecta y hemaglutinación indirecta). En el estudio de casos y controles, se emparejó aleatoriamente cada caso con tres controles seronegativos (de la misma aula, y con una diferencia de edad máxima de un año). En comparación con los controles, los niños seropositivos respecto de *T. cruzi* presentaban una mayor probabilidad de tener una madre seropositiva (razón de posibilidades (OR) = 6,8; IC95% = 0,71–63,9) o un familiar seropositivo (OR = 8,6; IC95%: 1,0–75,5).

Conclusión La utilización de un modelo de casos y controles anidado en una encuesta seroepidemiológica para evaluar factores de riesgo de transmisión de *T. cruzi* constituyó un medio adecuado para evaluar la eficacia de un programa de lucha contra la enfermedad de Chagas.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas/prevención y control; Niño; Evaluación de programas/métodos; Factores de riesgo; Modelos logísticos; Estudios seroepidemiológicos; Estudios de casos y controles; Brasil (fuente: BIREME).

Artículo publicado en inglés en el *Bulletin of the World Health Organization*, 2001, **79** (5): 409–414.

Introducción

Los estudios epidemiológicos son un medio utilizado con frecuencia para evaluar las repercusiones de los programas de salud mediante una estimación de su eficacia y de su efectividad, una vez controlados los factores que podrían introducir confusión. Una comparación externa (es decir, entre áreas de intervención y áreas en que no ha habido intervención) permite identificar cambios en los indicadores de salud de las poblaciones en que se aplica el programa, y permite establecer una asociación entre las actuaciones del programa y los cambios observados (1–5). Cuando se dispone de áreas que permiten la comparación, el modelo cuasi-experimental es el método preferente propuesto para evaluar los programas de salud pública, especialmente cuando afectan a poblaciones numerosas (3, 6). Si se carece de un área de control, pueden utilizarse métodos de comparación interna. Uno de

estos métodos consiste en utilizar varios estudios transversales en una misma área en momentos diferentes. A diferencia de los estudios transversales de tipo convencional, este método, encomendado a un grupo de expertos, permite atribuir cambios de la morbilidad o de la mortalidad al programa de intervención, ya que permite analizar las tendencias temporales (7). Otra modalidad basada en una comparación interna para evaluar los efectos del programa es el estudio de casos y controles, que establece una comparación entre individuos infectados y no infectados, así como sus niveles de exposición al programa. Una de las ventajas de este método estriba en que puede iniciarse en una fase relativamente temprana de las actuaciones del programa, con lo que proporciona resultados más rápidamente. Además, se trata de un método rápido, nada costoso, fácil de aplicar y efectivo a la hora de identificar factores de riesgo asociados a la infección (8–11).

El programa de lucha contra la enfermedad de Chagas en el Brasil consiste en el rociamiento de viviendas con insecticida para controlar la población de triatóminos, que, como huéspedes intermedios de *Trypanosoma cruzi*, constituyen el agente etiológico de la enfermedad de Chagas. Para evaluar inicialmente el programa se han utilizado principalmente indicadores entomológicos (por ejemplo, mediciones de la

¹ Profesor auxiliar, Departamento de Parasitología, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Caixa Postal 486, 31270-901—Belo Horizonte, MG, Brasil (e-mail: mcarneir@icb.ufmg.br). (Correspondencia.)

² Epidemiólogo, Fundação Nacional de Saúde, Coordenação Regional de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

³ Profesor, Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

disminución de la población de triatominos en los hogares). El programa ha conseguido resultados satisfactorios contra *Triatoma infestans*, que es el vector más importante de *T. cruzi* en el Brasil (12–17). Además de los resultados entomológicos, estudios epidemiológicos basados en un modelo cuasi-experimental y estudios de grupos de expertos realizados en el área de la intervención han evidenciado una reducción de las infecciones por *T. cruzi* en la cohorte de niños nacidos tras la ejecución del programa (18–20).

En el Brasil, las encuestas seroepidemiológicas en áreas de vigilancia han formado parte del programa de lucha contra la enfermedad de Chagas desde 1992. Mediante evaluaciones serológicas de determinadas cohortes (por ejemplo, de niños nacidos tras la intervención) es posible estimar el riesgo de transmisión parasitaria en la colectividad (13, 16). En 1998, la prevalencia de infecciones por *T. cruzi* en el grupo de 7 a 14 años de edad fue de 0,04%. Respecto de la tasa de seroprevalencia por edades de 1980, hubo una reducción del 99,1% (17). La identificación de niños seropositivos mediante encuestas serológicas induce a preguntarse por qué la transmisión de *T. cruzi* se produjo en áreas bajo control. En el presente estudio se describe un modelo de casos y controles anidado incorporado en la encuesta serológica de escolares, que se utilizó para evaluar la efectividad del programa de lucha contra la enfermedad de Chagas, con el fin de identificar los factores de riesgo asociados a las infecciones por *T. cruzi* en áreas de vigilancia.

Material y métodos

Estudio serológico de los escolares

Población estudiada y recopilación de datos. Los fundamentos y los métodos de organización y recopilación de datos empleados en la encuesta serológica de escolares del programa de lucha contra la enfermedad de Chagas en el Brasil han sido descritos en detalle en otras publicaciones (21, 22). En síntesis, la encuesta se llevó a cabo en niños de 7 a 14 años que habitaban en áreas de vigilancia rural. Para estimar el tamaño de la muestra, se utilizó la frecuencia de infección por *T. cruzi* estimada para ese grupo de edad mediante la encuesta serológica que se realizó en el Brasil entre 1975 y 1980 sobre esa enfermedad (23), así como los niveles de error empleados ($\alpha = 0,05$ y $1-\beta = 0,90$) y el sector de población rural de 7 a 14 años de esa misma encuesta. Para asegurarnos de la validez de nuestra encuesta, la realizamos en todas las escuelas rurales partiendo de un muestreo en dos etapas. Una muestra aleatoria estratificada abarcaba cierto número de escolares seleccionados en proporción al número total de estudiantes inscritos en cada escuela; para las clases, se utilizó una muestra aleatoria simple. En el estudio participaron todos los estudiantes inscritos en las clases seleccionadas.

Los datos sobre los participantes se recogieron mediante un cuestionario desarrollado específicamente

para la encuesta. Se tomó una muestra de sangre de todos los participantes, mediante punción, sobre rectángulos de papel de filtro (10 cm x 5 cm) en los que figuraban dos círculos de 2 cm. El papel de filtro fue secado a temperatura ambiente, introducido en una bolsa de plástico con gel de sílice, y almacenado a 4 °C hasta su examen. Las pruebas serológicas fueron procesadas en el Laboratorio de Referencia de la Enfermedad de Chagas, Fundação Ezequiel Dias, Minas Gerais. Se analizó la posible presencia de anticuerpos frente a *T. cruzi* en las eluciones del papel de filtro mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI), con un límite de aceptabilidad de 1:20. Los resultados se consideraron negativos cuando la lectura no reveló reacción en ese valor límite. En los casos en que fue reactiva, se analizó de nuevo la muestra mediante IFI y hemaglutinación indirecta (HAI) simultáneamente. Se consideró que una muestra era positiva cuando se cumplían las condiciones siguientes: título discriminativo mínimo en la HAI, y superior a 1:40 en la IFI. Las reacciones con títulos de 1:20 ó 1:40 en IFI y título discriminativo mínimo en HAI se consideraron limítrofes. En esos casos, se tomó una muestra de sangre mediante punción venosa y se sometió el suero a dos reacciones. Los resultados se consideraron positivos en base a los criterios anteriormente descritos.

Estudio de casos y controles anidado. El estudio anidado se realizó en el Estado de Minas Gerais, en el sureste del Brasil, entre 1994 y 1998, el mismo periodo en que se realizó la encuesta entre los escolares. Los casos y controles fueron identificados a partir de la encuesta serológica.

Selección de casos y controles. Los casos se definieron como aquellos sujetos que dieron resultado positivo frente a *T. cruzi* conforme a los criterios adoptados para la encuesta serológica (a saber: concordancia en dos ensayos inmunológicos sobre papel de filtro y, en caso necesario, confirmación mediante análisis de sangre venosa). Los controles se seleccionaron de entre los sujetos que dieron resultado negativo respecto de *T. cruzi* conforme a los criterios adoptados. Para cada caso, se seleccionaron al azar tres controles seronegativos, y se emparejaron por clases y por edades con una diferencia máxima de un año.

Recopilación de datos. Los procedimientos de estudio fueron aprobados por el comité ético del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad Federal de Minas Gerais. El comité, previamente informado, otorgó su consentimiento antes de proceder a la recopilación de datos. Se entrevistó a los padres de los casos y de los controles con arreglo a un cuestionario confeccionado a tal efecto, previamente codificado. Las preguntas recababan datos personales tanto de los casos como de los controles, características de la vivienda (tipo de paredes, techo, suelo y entorno exterior), la presencia de animales, el periodo de residencia en la casa, y otros factores de riesgo asociados a las infecciones por *T. cruzi* (presencia de triatominos en la vivienda, e historial de transfusiones de sangre). En la fecha de la

entrevista, se tomaron muestras de sangre de miembros de la familia mediante punción digital sobre papel de filtro, tanto en los casos como en los controles, y se analizó la presencia de anticuerpos frente a *T. cruzi* mediante HAI e IFI, aplicando los mismos criterios de diagnóstico que para los casos y controles.

Análisis estadístico. Los casos y sus controles correspondientes se compararon en términos de las variables siguientes: características personales, serología de los padres y hermanos, características de la vivienda, entorno peridoméstico, y presencia de animales en el hogar. Se obtuvo una estimación de la razón de posibilidades (OR) y de los intervalos de confianza (IC) del 95%, y las variables que presentaban un nivel estadísticamente significativo ($P < 0,005$) en el análisis unifactorial o que representaban un riesgo biológicamente plausible de infección por *T. cruzi* se introdujeron conjuntamente en una regresión logística condicional multifactorial. La significación estadística se determinó mediante pruebas de verosimilitud.

Resultados

La encuesta serológica se realizó en 168 circunscripciones del Estado de Minas Gerais, es decir, en un 32,2% del área del programa de control. Se obtuvieron muestras de sangre de 40 374 niños. Utilizando IFI como prueba de cribado con un límite de aceptabilidad de 1:20, encontramos que 41 de las muestras eran reactivas, en tanto que 16 se confirmaron como positivas con arreglo a los criterios serológicos. Los niños que dieron positivo respecto de *T. cruzi* vivían en siete circunscripciones donde el programa de control venía funcionando desde hacía 15 años, y la vigilancia epidemiológica desde 1988.

De los 16 casos seropositivos de infección por *T. cruzi* identificados en la encuesta de escolares, 11 fueron incluidos en el estudio de casos y controles. Cinco de los casos fueron excluidos, ya que en la fecha en que se realizó la investigación no se hallaban en el área y no pudieron ser localizados. Cada caso se emparejó (según la edad y la clase) con tres niños seronegativos seleccionados al azar. Las características personales de los casos (edad media: 10,7 años) y los controles correspondientes (edad media: 11,2 años) se indican en la tabla 1.

En la tabla 2 se indica la OR condicional (análisis emparejado) y se comparan ciertas variables. La OR correspondiente al periodo de residencia en dos categorías, de 1–6 y de 7–14 años (referencia) fue de 9,38 (IC95% = 1,10–80,16). Los casos no diferían de los controles en cuanto a las características de la vivienda (en particular, en cuanto al tipo de paredes, techo, suelo y entorno exterior) o la presencia de animales.

En la tabla 3 se indican los valores de la OR condicional (análisis emparejado unifactorial) de la serología de los parientes, tanto para los casos como

Tabla 1. Características de los sujetos seropositivos (casos) y los seronegativos emparejados (controles) para la infección por *Trypanosoma cruzi*, Estado de Minas Gerais, Brasil

Característica	Casos (n= 11)	Controles (n= 33)
Edad media \pm DE (años)	10,7 \pm 2,24	11,2 \pm 1,93
Sexo		
Varones	8 (72,7) ^a	21 (63,6)
Mujeres	3 (27,3)	12 (36,4)
Nacido en una zona con más de 10 años de funcionamiento del programa de control^b		
Sí	9 (90,0)	31 (96,9)
No	1 (10,0)	1 (3,1)
Periodo medio de residencia en años \pm DE	9,2 \pm 2,9	10,4 \pm 2,7
Receptor de transfusiones de sangre		
No	10 (100)	32 (96,9)
Sí	0	1 (3,03)

^a Las cifras entre paréntesis son porcentajes.

^b Zona sometida actualmente a vigilancia.

para los controles emparejados, respecto de *T. cruzi*. Comparamos en primer lugar los resultados serológicos en los casos y controles en que la madre era seropositiva, y obtuvimos una OR de 6,8 (IC 95% = 0,71–63,9; $P = 0,095$). Dado que sólo dos hermanos/as eran positivos, definimos una variable como madre o hermano/a positivo, con lo que se obtuvo una OR de 8,6 (IC95% = 1,00–74,5; $P = 0,05$). Éstas fueron las dos únicas variables asociadas a la infección en los modelos analizados.

Discusión

Nuestros resultados muestran que la utilización de un modelo de casos y controles anidado en una encuesta seroepidemiológica con el propósito de evaluar factores de riesgo de transmisión de *T. cruzi* permitió evaluar adecuadamente la efectividad de un programa de lucha contra la enfermedad de Chagas. El modelo proporcionó rápidamente respuestas a las cuestiones del estudio, y puede ampliarse a áreas de vigilancia o de intervención. Además, el modelo es operacionalmente viable, y puede incorporarse como actividad rutinaria en la fase de planificación de las evaluaciones de programas por parte de los organismos públicos de salud.

Los resultados de la encuesta serológica entre escolares pusieron de manifiesto la efectividad del programa de lucha contra la enfermedad de Chagas como elemento interruptor de la transmisión vectorial en áreas con vigilancia. La tasa de seropositividad en el Estado de Minas Gerais fue del 0,06% (16). Gracias al éxito del programa en lo tocante a reducir la transmisión, sólo 16 de los 40 374 niños estudiados dieron positivo respecto de *T. cruzi*. El estudio de casos y controles se realizó, por consiguiente, en un

Tabla 2. **Análisis unifactorial de las características de las viviendas de sujetos seropositivos (casos) y seronegativos emparejados (controles) para la infección por *Trypanosoma cruzi*, Estado de Minas Gerais, Brasil**

Características de la vivienda	OR	IC95% ^a	P
Años de residencia			
7–14 años	1,0		
1–6 años	9,4	1,10–80,2	0,041
Presencia de triatominos en el interior o el exterior^b			
No	1,0		
Sí	1,92	0,42–8,882	0,401
Tipo de edificio			
Ladrillos (paredes) y baldosas (suelo)	1,0		
Barro (paredes) y suciedad (suelo)	0,90	0,25–3,29	0,869
Con gallinero			
No	1,0		
Sí	0,20	0,04–1,01	0,051
Con pocilga			
No	1,0		
Sí	0,27	0,05–1,39	0,118
Con silo			
No	1,0		
Sí	0,60	0,14–2,45	0,477
Con cuadra			
No	1,0		
Sí	1,30	0,28–6,11	0,737
Con animales			
Perros			
No	1,0		
Sí	2,6	0,29–26,62	0,387
Ganado			
No	1,0		
Sí	1,68	0,327–8,63	0,534
Gatos			
No	1,0		
Sí	0,25	0,03–2,60	0,249

^a IC95% = intervalo de confianza del 95%.

^b Los ocupantes habían señalado la presencia de triatominos en el exterior o el interior.

Tabla 3. **Análisis unifactorial de la serología en sujetos seropositivos (casos) y seronegativos emparejados (controles) entre los parientes para la infección por *Trypanosoma cruzi*, Estado de Minas Gerais, Brasil**

	OR	IC95% ^a	P
Madre			
Negativo	1,0		
Positivo	6,8	0,71–63,9	0,095
Madre o hermano/a			
Negativo	1,0		
Positivo	8,6	1,00–74,5	0,050

^a IC95% = intervalo de confianza del 95%.

número reducido de sujetos positivos, que arrojó amplios intervalos de confianza para las variables de riesgo, y una precisión inestable de la OR.

La circunstancia de que en la investigación no se incluyeran cinco casos seropositivos para *T. cruzi* podría haber introducido un error sistemático en la selección previa al estudio. Sin embargo, no hay indicios de que estas ausencias (motivadas por cambios de residencia) tuvieran algo que ver con la infección por *T. cruzi*. La migración de las áreas rurales a las urbanas ha ido en aumento en el Brasil en los últimos años. En parte, ello puede deberse a que las escuelas rurales ofrecen solamente enseñanza de nivel elemental; para continuar sus estudios, los estudiantes deben, pues, migrar a áreas urbanas. Las características demográficas de los casos perdidos eran similares a las del estudio.

En comparación con los controles, los niños seropositivos frente a *T. cruzi* tenían mayores posibilidades de tener una madre o un hermano/a seropositivos (OR = 8,6; IC95% = 1,0–75,5), en tanto que la OR para la madre seropositiva era de 6,8 (IC95% = 0,71–63,9). Análogos resultados se han comunicado en un estudio de casos y controles realizado en un área de intervención: una vez efectuados los ajustes necesarios para variables de confusión como la presencia de triatominos, la edad de la madre o el tamaño de la familia, los hijos de madres seropositivas tenían 3,9 veces más posibilidades de presentar anticuerpos contra *T. cruzi* (24).

Una limitación a la hora de interpretar los resultados de los estudios epidemiológicos sobre la enfermedad de Chagas radica en que los anticuerpos empleados como marcador serológico reflejan una infección ocurrida en el pasado, pero la evaluación del comportamiento y del entorno no corresponde necesariamente a las condiciones que concurrían en la fecha de la infección. En la entrevista se incluían preguntas referentes a la exposición en el pasado, por ejemplo en relación con el tipo de casa o con la presencia de triatominos en la vivienda, pero no pudimos determinar con exactitud la fecha en que se produjo la infección, por lo que utilizamos la edad como sustituto. En los estudios de casos y controles también es importante tener en cuenta la posibilidad de un error sistemático de rememoración.

La edad media de los casos fue de 10,7 años, de manera que la transmisión pudo haberse producido durante la fase inicial de la ejecución del programa. Los resultados revelaron una estrecha asociación entre los hijos seropositivos y las madres seropositivas, observación que no se advirtió en la serología del padre. No podíamos excluir la transmisión vertical, ya que los niños seropositivos para *T. cruzi* tenían más posibilidades de tener una madre seropositiva que los sujetos seronegativos. La transmisión congénita de *T. cruzi*, aunque numéricamente baja, es el tercer mecanismo de transmisión más importante. Hasta un 4% de los partos de madres infectadas pueden alumbrar hijos infectados por penetración del parásito a través de la placenta (25–27). La media de edad de los casos de nuestro estudio es más indicativa de una transmisión vectorial (es decir, de exposición a los triatominos) en el pasado; todos los miembros de la familia fueron

analizados, tanto en los casos como en los controles, y no se encontró ningún positivo de menor edad que los casos. El riesgo de seropositividad de las madres en comparación con el de los padres podría deberse a una mayor exposición a los triatominos por efecto de las pautas de comportamiento maternas. Sin embargo, no habría que descartar la transmisión vertical, como ya se ha señalado (28).

La encuesta seroepidemiológica, aplicada a una muestra de población representativa en áreas de intervención, es un instrumento sensible para controlar la transmisión de *T. cruzi*. Esta nueva metodología de encuesta utilizada para la cohorte de escolares de 7 a 14 años ha facilitado el diagnóstico de *T. cruzi* y lo ha hecho más asequible para estudios de campo de gran escala en áreas rurales. Una encuesta seroepidemiológica efectuada en 10 Estados del Brasil desde 1994 mostró que la incidencia de reacciones positivas en ese grupo de edades era menor del 0,5% en nueve de esos Estados, lo cual representa una reducción superior al 96% desde 1980 (16). La cohorte de escolares aquí estudiados representa una muestra de la población nacida antes de la fase de ataque del programa de lucha contra el vector (1979–1982). Una encuesta serológica de menores de seis años habría proporcionado una información más acertada sobre el impacto del programa, ya que sólo se habría detectado la incidencia en términos de casos. Sin embargo, a diferencia de las encuestas en escuelas, las encuestas casa por casa son, en la práctica, más difíciles de realizar.

La principal limitación de una encuesta o estudio transversal a la hora de evaluar la efectividad de un programa de salud es que no permite hacer inferencias causales, toda vez que no se evalúan los factores temporales. Las encuestas pueden identificar casos negativos y positivos de infección por *T. cruzi*, y pueden estimar las tasas de prevalencia, que pueden ser comparadas para diferentes periodos de tiempo. Cuando en un estudio serológico se identifican niños positivos, se plantea el interrogante de por qué ha habido transmisión en áreas bajo control. Con la evaluación del impacto se intenta discernir cambios

en los indicadores de salud, y dilucidar si esos cambios son atribuibles a la intervención. Uno de los problemas estriba en deslindar las actuaciones del programa de los cambios sociales, económicos y medioambientales que pueden haberse producido en las áreas de intervención. El método de casos y controles ha sido sugerido recientemente como alternativa para evaluar las intervenciones de salud. Algunas de sus principales ventajas son su menor costo, su fácil ejecución, y su potencial para identificar diferentes factores de riesgo de infección (8–11). Sin embargo, los estudios de casos y controles suelen traer aparejadas distorsiones, en razón, por ejemplo, de la clasificación de los sujetos con respecto a la enfermedad y a la exposición, o de la dificultad de distinguir el efecto del factor estudiado de los efectos de otros factores de confusión. Pero, cuando no se dispone de áreas de control, el método de casos y controles es el más eficaz para evaluar los programas de lucha contra una enfermedad.

Este estudio de casos y controles integrado en una encuesta serológica puede considerarse una iniciativa centinela capaz de detectar la aparición de cambios temporales en la transmisión de *T. cruzi* en áreas de vigilancia, y particularmente la sustitución de especies de triatominos adaptados al entorno doméstico por especies silvestres, lo que podría dar lugar a una recrudescencia de las tasas de infección por *T. cruzi*. ■

Nota de agradecimiento

Esta investigación fue respaldada parcialmente por el Ministério da Saúde/Fundação Nacional de Saúde y del Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Deseamos manifestar nuestro agradecimiento a la Fundação Nacional de Saúde - Coordenação do Estado de Minas Gerais por su cooperación en el trabajo de campo.

Conflicto de intereses: ninguno declarado.

Referencias

1. Ibrahim MA. Epidemiology: application to health services. *Journal of Health Administration Education*, 1983, **1**: 37–69.
2. Holland WW, ed. *Evaluation of health care*. Oxford, Oxford University Press, 1983.
3. Omran AR. Investigación sobre sistemas de salud: métodos y escollos. *Foro Mundial de la Salud*, 1990, **11**: 288–294.
4. Shapiro S. Randomized controlled trials in health services research. In: Armenia HK et al., eds. *Epidemiology and health services*. New York, Oxford University Press, 1998, 157–181.
5. Habicht JP, Victora CG, Vaughan JP. Evaluation designs for adequacy, plausibility and probability of public health programme performance and impact. *International Journal of Epidemiology*, 1999, **28**: 10–18.
6. Kleinbaum DG, Kupper LL, Morgenstern H. *Epidemiological research: principles and quantitative methods*. New York, VNB, 1982.
7. Kelsey JL et al. *Methods in observational epidemiology*, 2nd ed. New York, Oxford University Press, 1996.
8. Smith PG, Rodrigues LC, Fine PEM. Assessment of the protective efficacy of vaccines against common diseases using case-control and cohort studies. *International Journal of Epidemiology*, 1984, **13**: 87–93.
9. Selby JV. Case-control evaluation of treatment and program efficacy. *Epidemiological Reviews*, **16**: 90–101.
10. Armenian HK, Gordis L. Future perspectives on the case-control method. *Epidemiological Reviews*, 1994, **16**: 163–164.
11. Armenia HK. Case-control methods. In: Armenia HK et al., eds. *Epidemiology and health services*. New York, Oxford University Press, 1998: 135–155.
12. Dias JCP. Control of Chagas disease in Brazil. *Parasitology Today*, 1987, **3** (11): 336–341.

13. **Silveira AC, de Rezende DF.** [Epidemiología y control de la transmisión de los vectores de la enfermedad de Chagas en el Brasil.] *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1994, **27** (suppl. 3): 11–22 (en portugués).
14. **Silveira AC, Vinhaes M.** [Enfermedad de Chagas: aspectos epidemiológicos del control.] *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1998, **31** (suppl. 2): 15–60 (en portugués).
15. **Moncayo A.** Progress towards the elimination of transmission of Chagas disease in Latin America. *World Health Statistics Quarterly – Rapport trimestriel de Statistiques sanitaires mondiales*, 1997, **50** (3–4): 195–198.
16. **World Health Organization.** Chagas disease - interruption of transmission. *Weekly Epidemiological Record*, 1997, **72** (1/2): 1–5.
17. **UNDP/World Bank/WHO/TDR.** Chile and Brazil to be certified free of transmission of Chagas disease. *TDR News*, 1999, No. 59 (June): 10.
18. **Carneiro M, Antunes CMF.** A quasi-experimental model for evaluating public health programmes: efficacy of Chagas disease control programme in Brazil. *Bulletin of the World Health Organization — Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, 1994, **72**: 721–728.
19. **Carneiro M, Antunes CMF.** [Evaluación de la eficacia de un programa de lucha contra la enfermedad de Chagas: aspectos metodológicos.] *Cadernos de Saúde Pública*, 1994, **10** (suppl. 2): 261–272 (en portugués).
20. **Costa FC et al.** Chagas disease control programme in Brazil: a study of the effectiveness of 13 years of intervention. *Bulletin of the World Health Organization — Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, 1998, **76**: 385–391.
21. **National Health Foundation.** [Estudio epidemiológico sobre la evaluación del programa de lucha contra la enfermedad de Chagas.] Brasília, Ministry of Health, 1994 (en portugués).
22. **Moreno EC, Carneiro M, Antunes CMF.** [Aspectos metodológicos de un estudio serológico de escolares y un estudio de casos y controles anidado para evaluar la eficacia del Programa de Lucha contra la Enfermedad de Chagas.] *Informe Epidemiológico do SUS*, 1996, **5**: 49–59 (en portugués).
23. **Camargo ME et al.** [Estudio serológico de la prevalencia de las infecciones de Chagas en el Brasil.] *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1984, **26**: 192–204 (en portugués).
24. **Andrade ALSS et al.** Risk factors for *Trypanosoma cruzi* infection among children in central Brazil: a case-control study in vector control settings. *American Journal Tropical Medicine and Hygiene*, 1995, **52**: 183–187.
25. **Bittencourt AL.** Possible risks factors for vertical transmission of Chagas disease. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 1992, **34**: 403–408.
26. **Andrade ALSS, Zicker F, Martelli CM.** An epidemiological approach to study congenital Chagas disease. *Cadernos de Saúde Pública*, 1994, **10** (suppl.2): 345–351.
27. **Schmunis GA.** *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of Chagas disease: status in the blood supply in endemic and non-endemic countries. *Transfusion*, 1991, **31**: 547–557.
28. **Dias JCP.** Epidemiology of Chagas disease. In: Wendel S et al., eds. *Chagas disease (American trypanosomiasis): its impact on transfusion and clinical medicine*. São Paulo, ISBT, 1992: 49–80.