

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO
E INVESTIGACIÓN EN SALUD



TESIS DE GRADO

**“DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS
EN POBLADORES VOLUNTARIOS DE LA AMAZONIA BOLIVIANA
MEDIANTE EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO Y MOLECULAR”**

TESIS DE GRADO

PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIATURA EN BIOQUÍMICA

POSTULANTE : NARDA JHANIRA ROMERO TEJERINA
TUTORA : DRA. SUSANA REVOLLO ZEPITA

LA PAZ – BOLIVIA

2018

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO
E INVESTIGACIÓN EN SALUD

Tesis de grado:

DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS
EN POBLADORES VOLUNTARIOS DE LA AMAZONIA BOLIVIANA
MEDIANTE EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO Y MOLECULAR

Presentado por: Univ. Narda Jhanira Romero Tejerina

Para optar el grado académico de **Licenciado en Bioquímica**

Nota numeral.....

Nota literal.....

Ha sido.....

Directora a.i. de la Carrera de Bioquímica: Dra. Wilma Strauss Zegada

Tutora: Dra. Susana Revollo Zepita

Tribunal: Dra. Wilma Strauss Zegada

Tribunal: Dr. Efraín Salamanca Capusiri

Tribunal: Dr. David Gutiérrez Yapu

DEDICATORIA

A Diosito todo poderoso Jehová, que día a día me protege, bendice, ilumina y guía mis pasos para poder cumplir mis metas.

A mis Papitos, hermanos y sobrina quienes siempre están a mi lado dándome amor, comprensión y que con su apoyo me ayudaron a cumplir una meta más en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A Diosito todo poderoso Jehová, porque sin él nada sería posible, por darme sabiduría, fuerza, protección, amor, por no dejarme caer y poner a mi lado personas que también me ayudaron a salir adelante. Sin tu presencia nada sería posible mi Señor, muchas gracias por guiar mis pasos todos los días de mi vida.

A mis Papitos por la educación, valores, principios que me inculcaron, por todo su sacrificio, amor, cariño, comprensión y sobre todo por la paciencia que tuvieron conmigo para ayudarme a cumplir una meta más en mi vida de las muchas que tendré por delante. Los amo, Diosito siempre les de mucha salud, para permitirme estar a su lado muchos años más.

A mi hermanita Gabriela, mejor amiga, compañera de vida, gracias por tus palabras, por levantarme siempre cuando tengo tropiezos, por tu apoyo, comprensión, amor, tu aliento y palabras para hacerme entender que por algo Diosito me trajo a este mundo, ¡y lo descubriré hermanita!. Muchas gracias por ser mi fuerza para salir adelante. Las palabras no son suficientes para poder expresar todo éste amor que siento por ti, eres mi ejemplo a seguir y doy gracias a Diosito infinitamente por haberme puesto como hermana a ti. Te amo muchísimo mi bebé.

A mi sobrinita Marianita, que aparte de ser mi sobrina es como mi hijita, gracias princesa por alegrarme los días con tus travesuras, bailes, cantos y cuentos. Doy gracias a Diosito por haberme permitido estar a tu lado, compartir 8 añitos y 8 meses de tu vida juntas, eres una razón por la que sigo adelante mi nena preciosa.

A mi amigo Marco, porque me ayudo con sus palabras y oraciones, para tener éxito en las pruebas y para mi día a día.

Gracias a mis Docentes de la Facultad, por brindarnos sus valores y conocimientos del mundo de la Bioquímica en las Ciencias de la Salud.

Al Instituto SELADIS, por haberme recibido con las puertas abiertas. Gracias a mi Tutora Dra. Susana Revollo Zepita, por permitirme realizar mi Proyecto de Tesis en el Laboratorio de Genética Molecular.

A la Dra. Jorgia Callapa, agradecerle por su colaboración, enseñanza, confianza, apoyo, paciencia y sobre todo por la dedicación que tuvo para la ejecución exitosa de este Proyecto.

A la Dra. Marcia por su tiempo, paciencia, orientación y apoyo que me dio para la optimización en la prueba de PCR.

Al Dr. José Luis Choquehuanca y al Dr. Luis Fernando Sosa Tordoya del Laboratorio de Histocompatibilidad e Inmunogenética, por permitirme utilizar algunos de sus equipos y por la cooperación para realizar mi prueba de IFI. Muchas gracias por su disponibilidad.

A este estudio, que contó con el apoyo técnico y financiero del Proyecto "Búsqueda de nuevas zonas endémicas de la Enfermedad de Chagas en la Amazonía Boliviana como efecto del Cambio Climático" UMSA 01, financiado por la Agencia Suiza para el Desarrollo y Cooperación COSUDE-PIA-ACC.

A la Universidad Autónoma del Beni José Ballivian (UABJB), a la cabeza del Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud, Dr. Juan Marcelo Linares, quién firmó el documento de conformidad de participación de la UABJB y el apoyo de los investigadores de la misma Universidad, quienes colaboraron con la parte técnica del proyecto.

A mis tribunales de Tesis: Dra. Wilma Strauss Zegada, Dr. Efraín Salamanca Capusiri y Dr. David Gutiérrez Yapu, por su disponibilidad de tiempo para revisar, corregir y ayudar a mejorar en muchos aspectos este trabajo de Investigación, con el único objetivo de pulir el proyecto y sea un mejor documento de ayuda para futuras investigaciones.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE ANEXOS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ABREVIATURAS

RESUMEN

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1 HISTORIA DEL PARÁSITO.....	3
2.2 EPIDEMIOLOGÍA.....	5
2.2.1 EPIDEMIOLOGÍA EN BOLIVIA.....	7
2.2.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DEL VECTOR.....	9
2.3 AGENTE ETIOLÓGICO.....	10
2.3.1 MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DE LOS DIFERENTES ESTADIOS DEL PARÁSITO.....	11
2.3.2 CICLO BIOLÓGICO DEL <i>Trypanosoma cruzi</i>	13
2.4 VÍAS DE TRANSMISIÓN.....	14
2.4.1 TRANSMISIÓN VECTORIAL.....	15
2.4.2 TRANSMISIÓN TRANSFUSIONAL.....	15
2.4.3 TRANSMISIÓN CONGÉNITA.....	16
2.4.4 TRANSMISIÓN VÍA ORAL.....	17
2.4.5 TRANSMISIÓN POR TRASPLANTE DE ÓRGANOS.....	18
2.4.6 TRANSMISIÓN POR ACCIDENTES DE LABORATORIO.....	19
2.5 EFECTOS DEL CAMBIO CLIMÁTICO Y LA ENFERMEDAD DE CHAGAS.....	19
2.6 MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	20
2.6.1 FASE AGUDA.....	20
2.6.2 FASE CRÓNICA.....	21

2.6.2.1 FORMA CARDIACA.....	22
2.6.2.2 FORMA DIGESTIVA.....	22
2.7 DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS.....	22
2.7.1 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL.....	22
2.8 MÉTODOS SEROLÓGICOS.....	23
2.8.1 CHAGAS TEST RÁPIDO	23
2.8.2 INMUNO-ENSAYO ENZIMÁTICO (ELISA)	24
2.8.3 HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA (HAI).....	25
2.8.4 INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI).....	25
2.9 MÉTODOS MOLECULARES.....	25
2.9.1 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	25
2.9.1.1 KINETOPLASTO DEL <i>Trypanosoma cruzi</i>	27
3. TRATAMIENTO.....	27
4. ANTECEDENTES.....	28
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	30
6. JUSTIFICACIÓN.....	32
7. HIPÓTESIS	33
8. OBJETIVOS	33
8.1 OBJETIVO GENERAL.....	33
8.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
9. DISEÑO O TIPO DE ESTUDIO.....	34
9.1 TIPO DE ESTUDIO	34
9.2 CONTEXTO Y LUGAR	34
9.3 POBLACIÓN EN ESTUDIO	34
9.3.1 ASPECTOS ÉTICOS	34
9.4 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.....	35
9.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	35
9.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	35
10. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	35
10.1 TRINIDAD	35
10.2 SAN BORJA.....	35
10.3 SAN JOAQUÍN	36

11. DISEÑO METODOLÓGICO.....	36
11.1 TOMA DE MUESTRA	36
11.2 CHAGAS TEST RÁPIDO.....	36
11.3 DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO.....	36
11.3.1 TÉCNICA DE ELISA	36
11.3.2 TÉCNICA DE HAI.....	37
11.3.3 TÉCNICA DE IFI.....	38
11.4 DIAGNÓSTICO MOLECULAR.....	40
11.4.1 EXTRACCIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO	40
11.4.2 OPTIMIZACIÓN DE LA PRUEBA DE PCR	41
11.4.3 AMPLIFICACION (PCR PUNTO FINAL EN VERITY).....	42
11.4.4 REVELADO DE LOS PRODUCTOS DE LA PCR (ELECTROFORESIS EN GELES DE AGAROSA).....	43
12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	43
13. RESULTADOS.....	44
14. DISCUSIÓN	57
15. CONCLUSIONES	58
16. RECOMENDACIONES.....	59
17. BIBLIOGRAFÍA	60

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINAS
FIGURA 1. ENFERMEDADES DESATENDIDAS: ENFERMEDAD DE CHAGAS..	5
FIGURA 2. DISTRIBUCIÓN MUNDIAL DE CASOS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS.....	6
FIGURA 3. MAPA DE BOLIVIA CON ESTRATIFICACIÓN DE MUNICIPIOS SEGÚN NIVEL DE INFESTACIÓN MAYOR Y MENOR DEL 3%.....	7
FIGURA 4. ESTIMACIÓN DE CASOS DE POBLACIÓN INFECTADA POR <i>Trypanosoma cruzi</i>	9
FIGURA 5. AGENTE ETIOLÓGICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS.....	10
FIGURA 6. ESTADIO MORFOLÓGICO DE <i>T. cruzi</i> : TRIPOMASTIGOTE.....	11
FIGURA 7. ESTADIO MORFOLÓGICO DE <i>T. cruzi</i> : EPIMASTIGOTE.....	12
FIGURA 8. ESTADIO MORFOLÓGICO DE <i>T. cruzi</i> : AMASTIGOTE.....	12
FIGURA 9. CICLO MORFOLÓGICO DE <i>T. cruzi</i> : TRIPOMASTIGOTE.....	13
FIGURA 10. VÍAS DE TRANSMISIÓN DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS.....	14
FIGURA 11. TRANSMISIÓN VECTORIAL.....	15
FIGURA 12. TRANSMISIÓN TRANSFUSIONAL.....	16
FIGURA 13. TRANSMISIÓN CONGÉNITA.....	17
FIGURA 14. TRANSMISIÓN VÍA ORAL.....	18
FIGURA 15. SIGNO DE ROMAÑA.....	21
FIGURA 16. COMPONENTES Y PROCEDIMIENTOS DE LA PCR EN PUNTO FINAL.....	26

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

	PÁGINAS
TABLA N° 1. PRIMERS ESPECÍFICOS PARA PCR, EMPLEADOS PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE <i>T. cruzi</i>	41
TABLA N° 2. PROTOCOLO DE PREPARACIÓN DE PCR MASTER MIX.....	42
TABLA N° 3. NÚMERO Y PORCENTAJE DE VARONES Y MUJERES PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS.....	44
TABLA N° 4. RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS TRINIDAD (PACIENTES CON AL MENOS 1 PRUEBA POSITIVA).....	46
TABLA N° 5. DATOS DE LOS FACTORES DE RIESGO EN TRINIDAD.....	48
TABLA N° 6. RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS SAN JOAQUÍN (PACIENTES CON AL MENOS 1 PRUEBA POSITIVA).....	49
TABLA N° 7. DATOS DE LOS FACTORES DE RIESGO EN SAN JOAQUÍN.....	51
TABLA N° 8. RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS SAN BORJA (PACIENTES CON AL MENOS 1 PRUEBA POSITIVA).....	51
TABLA N° 9. DATOS DE LOS FACTORES DE RIESGO EN SAN BORJA.....	53
TABLA N° 10. RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO Y MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN PACIENTES DE LAS 3 REGIONES DE LA AMAZONÍA BOLIVIANA.....	54
GRÁFICA 1. PORCENTAJE DE VARONES Y MUJERES, EN EL ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LA AMAZONÍA BOLIVIANA (TRINIDAD, SAN JOAQUÍN Y SAN BORJA).....	45
GRÁFICA 2. PORCENTAJE DE PERSONAS SEROPOSITIVAS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN PACIENTES DE LAS 3 REGIONES DE LA AMAZONÍA BOLIVIANA.....	55
GRÁFICA 3. PORCENTAJE DE PERSONAS POSITIVAS EN PCR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN PACIENTES DE LAS 3 REGIONES DE LA AMAZONÍA BOLIVIANA.....	56

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINAS
ANEXO 1. CERTIFICADO DE AVAL ÉTICO.....	69
ANEXO 2. CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	70
ANEXO 3. ENCUESTA PARA LA REALIZACIÓN DEL PROYECTO.....	71
ANEXO 4. TRÍPTICO DE INFORMACIÓN REPARTIDO A LA POBLACIÓN EN ESTUDIO.....	72
ANEXO 5. MAPA DE LAS POBLACIONES EN ESTUDIO.....	73

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

	PÁGINAS
FOTOGRAFÍA N°1: DIÁLOGO DE SABERES MEDIANTE LA TRANSFERENCIA DE CONOCIMIENTOS.....	75
FOTOGRAFÍA N°2: TRINIDAD.....	75
FOTOGRAFÍA N°3: SAN JOAQUÍN.....	76
FOTOGRAFÍA N°4: SAN BORJA.....	76
FOTOGRAFÍA N°5: TOMA DE MUESTRA DE SANGRE PARA EL DIAGNÓSTICO DE CHAGAS.....	77
FOTOGRAFÍA N°6: PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE SANGRE.....	77
FOTOGRAFÍA N°7: TIRAS DE CHAGAS TEST RÁPIDO CON MUESTRAS DE PACIENTES (TRINIDAD, SAN JOAQUÍN Y SAN BORJA).....	78
FOTOGRAFÍA N°8: KIT DE ELISA NOVATEC PARA LA DETERMINACIÓN DE IgG anti- <i>T. cruzi</i>.....	78
FOTOGRAFÍA N°9: PLACA ELISA CON LAS MUESTRAS DE LOS PACIENTES CON SUS RESPECTIVOS CONTROLES.....	79
FOTOGRAFÍA N°10: LECTURA DE LA PLACA DE ELISA CON LOS RESULTADOS EN EL ESPECTROFOTÓMETRO A 450 nm.....	79
FOTOGRAFÍA N°11: KIT DE HAI CHAGAS POLYCHACO PARA LA DETERMINACIÓN DE IgG anti- <i>T. cruzi</i>.....	80
FOTOGRAFÍA N°12: PLACA HAI CON RESULTADOS DE MUESTRAS DE LOS PACIENTES CON SUS RESPECTIVOS CONTROLES.....	80
FOTOGRAFÍA N°13: IFI APLICADA A SUERO DE PACIENTES UTILIZANDO ANTÍGENOS EPIMASTIGOTES DE <i>T. cruzi</i>.....	81
FOTOGRAFÍA N°14: OBSERVANDO LAS PLACAS DE IFI DE LOS PACIENTES EN MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA A 1000X.....	81
FOTOGRAFÍA N°15: a) IFI POSITIVO; b) IFI NEGATIVO.....	82
FOTOGRAFÍA N°16: AMPLIFICACIÓN EN EL TERMOCICLADOR VERITY DE APPLIED BYOSYSTEMS.....	82
FOTOGRAFÍA N°17: ELECTROFORESIS PARA VISUALIZAR LOS FRAGMENTOS DE DNA OBTENIDOS DE LA AMPLIFICACIÓN.....	83

FOTOGRAFÍA N°18: GEL DE AGAROSA REPRESENTATIVO DE LA AMPLIFICACIÓN POR PCR DE LA REGIÓN VARIABLE DEL KADN DEL *T. cruzi* EN MUESTRAS DE SANGRE DE PACIENTES DE LA AMAZONÍA BOLIVIANA TRINIDAD, SAN BORJA Y SAN JOAQUÍN.....**83**

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

T. cruzi: *Trypanosoma cruzi*

OMS: ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD

ECA: ENFERMEDAD DE CHAGAS AGUDO

ECC: ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICO

ELISA: ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (Inmunoensayo Enzimático)

HAI: HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA

IFI: INMUFLUORESCENCIA INDIRECTA

PCR: REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

pb: Pares de Bases

μl: Microlitro

TMB: Tetrametilbenzidina

RESUMEN

La Enfermedad de Chagas es causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, es un problema multidimensional íntimamente relacionado a la pobreza en toda América Latina. En Bolivia existe cerca de 1.2 millones de personas afectadas con esta enfermedad, siendo los departamentos más afectados Chuquisaca, Cochabamba y Tarija, otros parcialmente afectados son La Paz, Santa Cruz y norte de Potosí según los reportes del Ministerio de Salud. El insecto vector de esta enfermedad se desarrolla muy bien en estas áreas porque encuentra las condiciones ideales de temperatura, humedad, hábitat y alimento, más con los efectos del cambio climático que ha existido en los últimos años, este insecto podría desplazarse a regiones amazónicas de Bolivia y transmitir la enfermedad. Sin embargo, no existen datos sobre la prevalencia de la Enfermedad de Chagas en estas regiones de la Amazonía Boliviana (Trinidad, San Joaquín y San Borja). Por lo que en el presente estudio se aporta datos importantes respecto a la presencia de la Enfermedad de Chagas en regiones amazónicas de Bolivia.

Se trabajó con pobladores mayores de 18 años de edad (Trinidad, San Borja y San Joaquín), a través de una encuesta se tuvo conocimiento de su percepción sobre la enfermedad y los factores de riesgo asociados a la Enfermedad de Chagas. En nuestro estudio, el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas se realizó mediante la Prueba Rápida in situ o Chagas test rápido, la determinación de anticuerpos contra el parásito en muestras de suero de pacientes se ejecutó con las pruebas ELISA, HAI e IFI, y PCR en punto final para la detección del ADN del parásito en las muestras de sangre. Demostrándose la presencia de la Enfermedad de Chagas en las 3 regiones de la Amazonía Boliviana, en Trinidad 3 muestras dieron seropositivo para las pruebas ELISA, HAI e IFI, siendo el porcentaje de infección del 5.45 %, San Joaquín 1 muestra seropositivo con un 2,1 % infección y San Borja 5 muestras seropositivas con 9.3 % infección. Todas las muestras de sangre de los pacientes fueron analizadas por la PCR en punto final, teniendo en Trinidad 8 pacientes positivos con un porcentaje de 14,5 %, San Joaquín 1 positivo con 2,1 % y San Borja 3 positivos con 6,9 %.

ABSTRACT

Chagas disease is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, it is a multidimensional problem closely related to poverty throughout Latin America. In Bolivia there are about 1.2 million people affected with this disease, with the departments most affected Chuquisaca, Cochabamba and Tarija, others partially affected are La Paz, Santa Cruz and north of Potosí according to the reports of the Ministry of Health. The insect vector of this disease develops very well in these areas because it finds the ideal conditions of temperature, humidity, habitat and food, more with the effects of climate change that has existed in recent years, this insect could move to Amazonian regions of Bolivia and transmit the disease. However, there are no data on the prevalence of Chagas disease in these regions of the Bolivian Amazon (Trinidad, San Joaquín and San Borja). Therefore, in this study we provide important data regarding the presence of Chagas disease in the Amazonian regions of Bolivia.

We worked with residents over 18 years of age (Trinidad, San Borja and San Joaquín), through a survey we learned about their perception of the disease and the risk factors associated with Chagas Disease. In our study, the diagnosis of Chagas disease was made using the rapid in situ test or Chagas rapid test, the determination of antibodies against the parasite in patient serum samples was performed with the ELISA, HAI and IFI tests, and PCR at the end point for the detection of the parasite DNA in the blood samples. Demonstrating the presence of Chagas Disease in the 3 regions of the Bolivian Amazon, in Trinidad 3 samples were seropositive for the ELISA, HAI and IFI tests, being the percentage of infection of 5.45%, San Joaquín 1 sample seropositive with a 2, 1% infection and San Borja 5 seropositive samples with 9.3% infection. All patients' blood samples were analyzed by PCR at the end point, with Trinidad having 8 positive patients with a percentage of 14.5%, San Joaquin 1 positive with 2.1% and San Borja 3 positive with 6.9. %.

1. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Chagas, constituye un importante problema de salud pública en el continente americano, esta enfermedad es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) y forma parte de un grupo de enfermedades que afectan a poblaciones vulnerables (Guhl y col 2005), con aproximadamente 8 a 10 millones de infectados y 110 millones en riesgo de infección en 21 países de América Latina, lo que equivale a un 27% de prevalencia (1.448 individuos infectados por 100.000 habitantes) y una tasa de incidencia anual de 0,008 casos por 100.000 habitantes, causando cerca de 15.000 muertes cada año en el continente (Hugo y col, 2014).

En Bolivia 3.5 millones de personas que viven en las áreas endémicas están en riesgo de contraer la Enfermedad de Chagas, aproximadamente el 20% de la población Boliviana está infectada con el *T. cruzi*, esto es cerca de 1.2 millones de personas afectadas. En Bolivia, la zona endémica de la Enfermedad de Chagas se extiende desde los 300 a los 3500 msnm, esto corresponde a más de la mitad del territorio nacional, principalmente los valles y los llanos. Los departamentos más afectados son Chuquisaca, Cochabamba y Tarija. Otros departamentos parcialmente afectados son La Paz, Santa Cruz y norte de Potosí. Los triatomíneos del género *Rhodnius* se desarrollan muy bien en estas áreas porque encuentran las condiciones ideales de temperatura y humedad, pero también hábitat y alimento (Arteaga y Ortega, 2010).

El Programa Nacional de Chagas del Ministerio de Salud y Deportes hasta la fecha reconoció 6 departamentos endémicos (La Paz, Cochabamba, Santa Cruz, Chuquisaca, Potosí y Tarija) y como regiones no endémicas (Beni, Pando y Oruro) (Manual de Diagnóstico, 2009). Sin embargo en octubre del año 2010 se reportó el primer brote de la Enfermedad de Chagas en la Amazonía Boliviana en el Municipio de Guayaramerín (departamento del Beni) con un reporte de 14 casos agudos por transmisión oral. La transmisión de *T. cruzi* es complicada en la Amazonía por la presencia de una gran diversidad de mamíferos reservorios silvestres y potenciales vectores, lo que lleva a una alta probabilidad de infección (Santalla y col., 2011).

En América del Sur la Enfermedad de Chagas, el paludismo, el dengue, la leishmaniasis y la esquistosomiasis, son las principales enfermedades de transmisión vectorial. Estas enfermedades son sensibles al clima en lo que respecta al número de personas afectadas (Moreno y col., 2015). La distribución geográfica y la dinámica poblacional de las enfermedades vectoriales se relacionan con los patrones de temperatura, lluvias y humedad. La mayoría de los vectores son artrópodos de sangre fría altamente sensibles a las temperaturas ambientales. El calentamiento mundial favorece su desarrollo, las temperaturas más altas aceleran el metabolismo de los insectos, incrementan la producción de huevos y la necesidad de alimentarse. Las lluvias además tienen un efecto indirecto sobre la longevidad del vector, debido al aumento de la humedad que crea un hábitat favorable para su desarrollo. Las inundaciones pueden generar efectos catastróficos en la naturaleza al disminuir las fuentes de alimentación, al igual que la deforestación favorece el desplazamiento de los insectos a zonas habitadas por el hombre (Berberian y Rosanova, 2012).

2. MARCO TEÓRICO

La superficie amazónica de Bolivia cubre una extensión de 824.000 kilómetros cuadrados, que representa el 75% de su territorio nacional y el 11.20 % de toda la cuenca amazónica continental. La Amazonía boliviana se encuentra ubicada en los departamentos de Beni, Pando, norte de Santa Cruz, La Paz y Cochabamba (Reyes y Herbas, 2012).

La Enfermedad de Chagas en la Amazonía, puede considerarse una enfermedad enzoótica de los animales salvajes, dado que los focos de triatomíneos silvestres que se adaptaron previamente a los ambientes peridomésticos humanos, solo han sido informados en localidades extremadamente raras. En tales situaciones, los insectos se alimentan de animales domésticos y aves de corral, así como de animales salvajes, como los marsupiales, que se acercan e invaden los hogares en su búsqueda de alimento. (Coura y Junqueira, 2012). El *T. cruzi* es un parásito altamente pleomórfico con un complejo ciclo de vida, que involucra un amplio rango de especies de mamíferos silvestres y domésticos, los cuales constituyen los reservorios del mismo (WHO, 2010).

El ciclo biológico del *T. cruzi* se inicia cuando el triatomino libre de infección se alimenta de sangre humana o de animales infectados que contienen los trypomastigotes. Los Trypomastigotes se diferencian en Epimastigotes en la parte anterior del tubo digestivo del triatomino, los que se multiplican y se mantienen en el intestino medio durante toda la vida del insecto. En el recto del triatomino, se transforman en Trypomastigotes metacíclicos y son eliminados con las heces.

El rol de los insectos transmisores de esta enfermedad en la Amazonía Boliviana es poco conocida debido a que los investigadores, epidemiólogos y las medidas de control han sido focalizadas hasta ahora sobre *Triatoma infestans*, el mayor vector de la región Andina de este país. Pero en los últimos años se ha reportado que los triatominos del género *Rhodnius* son los principales involucrados en la transmisión de *T. cruzi* en la Amazonía. La importancia epidemiológica de *Rhodnius* está relacionada a una fuerte tendencia a la domesticación pero también a la capacidad de entrar esporádicamente a las casas sin colonizarlas y por su asociación de hábitat plenamente conocida con las palmeras. Una caracterización es necesaria para establecer qué especies podrían estar involucradas, más aún si ya se tiene un reporte de transmisión oral de la enfermedad de Chagas en la región Amazónica de Bolivia por estos insectos (Buitriago y col., 2010).

En Bolivia dos eventos marcan la importancia de este género en la transmisión de la Enfermedad de Chagas, las evidencias de domiciliación de *Rhodnius stali* y la identificación del primer caso autóctono de Chagas agudo en el Municipio tropical de Alto Beni (500 a 800 msnm), donde presumiblemente habría signos de transmisión del *T. cruzi* a los humanos, en el año 2010 reportaron la captura de 12 insectos vectores de la enfermedad de Chagas identificados como *Rodhnius stali* en palmas de motacú, nombre científico *Attalea phalerata* (Justi y col., 2010).

2.1 HISTORIA DEL PARÁSITO

La Enfermedad de Chagas debe su nombre al médico brasileño Carlos Chagas, quien la descubrió en 1909. Esta enfermedad la causa el parásito *T. cruzi*, que es transmitido a los animales y a los seres humanos a través de insectos vectores que se encuentran

solamente en las Américas (especialmente en las zonas rurales, donde la pobreza es generalizada) (Global Health, 2017).

Carlos Chagas encontró el parásito en el vector, en el ser humano y luego describió las lesiones patológicas, tanto en animales inoculados experimentalmente con *T. cruzi*, como en las autopsias de los casos humanos. Hay evidencias de que la infección humana por *T. cruzi* comenzó en los valles de Cochabamba. En un principio, la infección por *T. cruzi* era una zoonosis silvestre, es decir, vivía en la sangre y tejidos de animales silvestres. Estos animales eran picados por vinchucas, y pasaban la infección a otro huésped susceptible, sin mayor perjuicio para los animales huéspedes. En la época precolombina, tribus preincaicas se establecieron en estos valles y comenzaron la cría doméstica del conejillo de indias. El vector, al encontrarse con un medio propicio para su reproducción, adquirió el hábito domiciliario, se instaló en las casas de los colonos preincaicos y comenzó a alimentarse de la sangre tanto de sus animales como de los propios hombres. Esto es lo que se llamó “domiciliación del vector”, lo que trajo consigo la infección humana por *T. cruzi*. El ciclo silvestre del *T. cruzi* únicamente se ha visto en los valles Cochabambinos, por eso se cree que fue a partir de aquí de donde se produjo la expansión de la infección (Vega, 2003).

Desde Bolivia, el vector y el parásito se habrían difundido gracias a la expansión de las tribus bolivianas preincaicas hasta el norte de Chile y el sur del Perú. Mediante técnicas de biología molecular, se ha podido aislar ADN del *T. cruzi* en momias de 500 a más de 4000 años, en el norte de Chile y el sur de Perú, lo que podría explicar ésta hipótesis. La transmisión en Argentina se cree que llegó a través de la cordillera de los Andes por medio de los vaqueros trashumantes. Mucho más tarde, durante el fin del siglo XIX y principios del XX, se produce la mayor expansión de la infección, debido al desarrollo de la red de ferrocarril en Argentina y Brasil. De esta manera se ha expandido desde las épocas preincaicas hasta nuestros días. Actualmente, la infección humana por *T. cruzi* se extiende desde México hasta Argentina y Chile, afectando a 18 millones de personas y además, 90 millones de personas se encuentran en riesgo de adquirir la infección (aproximadamente el 20% de la población de América Latina) (Vega, 2003).

2.2 EPIDEMIOLOGÍA

La Enfermedad de Chagas presenta factores de riesgos epidemiológicos asociados con la pobreza y con las malas condiciones de vivienda (Guhl, 2009). Es un severo problema de salud en áreas rurales, zonas urbanas y periurbanas de México, América Central y Sudamérica, con manifestaciones clínicas y características epidemiológicas variables. (Tarleton y col., 2014). Está considerada la cuarta causa de mortalidad en América Latina, provocando 43.000 muertes por año, causadas en su mayor parte por la cardiopatía que ocasiona el parásito cuando habita en las fibras cardíacas (Guhl, 2009).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que afecta de 8 a 10 millones de individuos; especialmente en América Latina se considera en riesgo de infección a un mínimo de 110 millones de individuos en 21 países (Argentina, Brasil, Chile, Uruguay, Paraguay, Perú, Ecuador, Bolivia, Venezuela, Colombia, Guyana Francesa, Guyana, Surinam, Costa Rica, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Panamá, Belice, Guatemala y México) (Salazar y col., 2016). Estrechamente vinculada con aspectos socioeconómico-culturales deficitarios, siendo reconocida por la OMS como una de las 17 enfermedades tropicales desatendidas del mundo (Saumell y col., 2015).

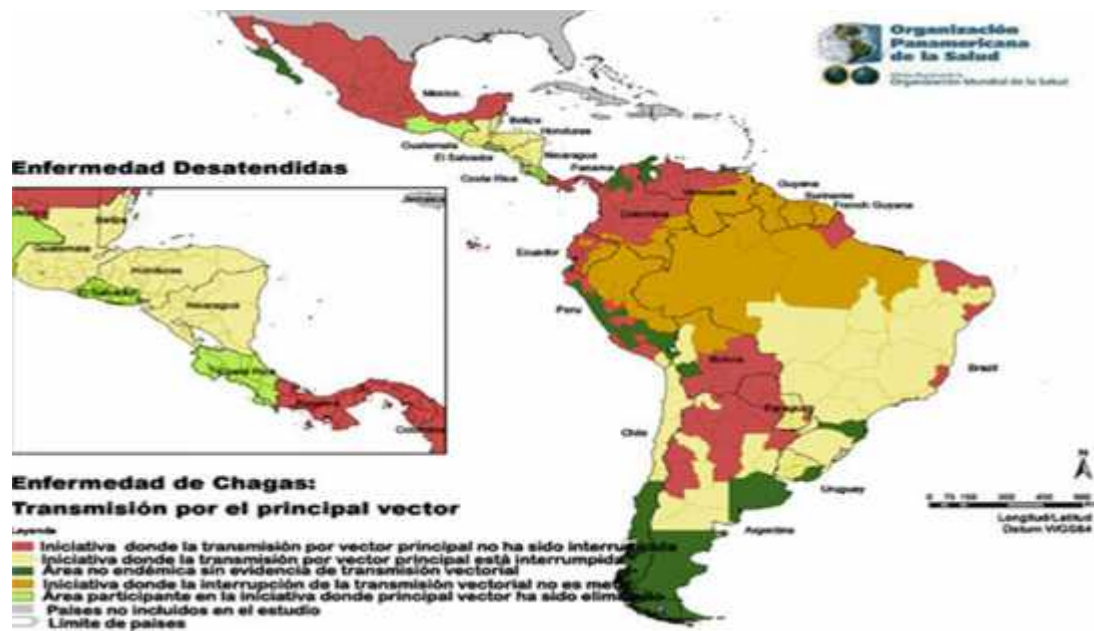


Figura N° 1: Enfermedades desatendidas: Enfermedad de Chagas. Transmisión por el principal vector. Sept. 2014. Fuente: PAHO/HSD/CD/Enfermedades Desatendidas.

Los movimientos poblacionales han modificado el perfil epidemiológico de esta enfermedad y la han convertido en un riesgo mundial, especialmente en bancos de sangre donde los índices de contaminación varían entre 3 y 53%, y está considerada como emergente en países no endémicos (Estados Unidos, Canadá, Australia, Japón, Francia, España, Bélgica, Portugal, Suiza, Gran Bretaña, Irlanda del Norte, Italia, Alemania, Austria, Croacia, Dinamarca, Luxemburgo, Noruega, los Países Bajos, Rumania y Suecia) (Salazar y col., 2016).

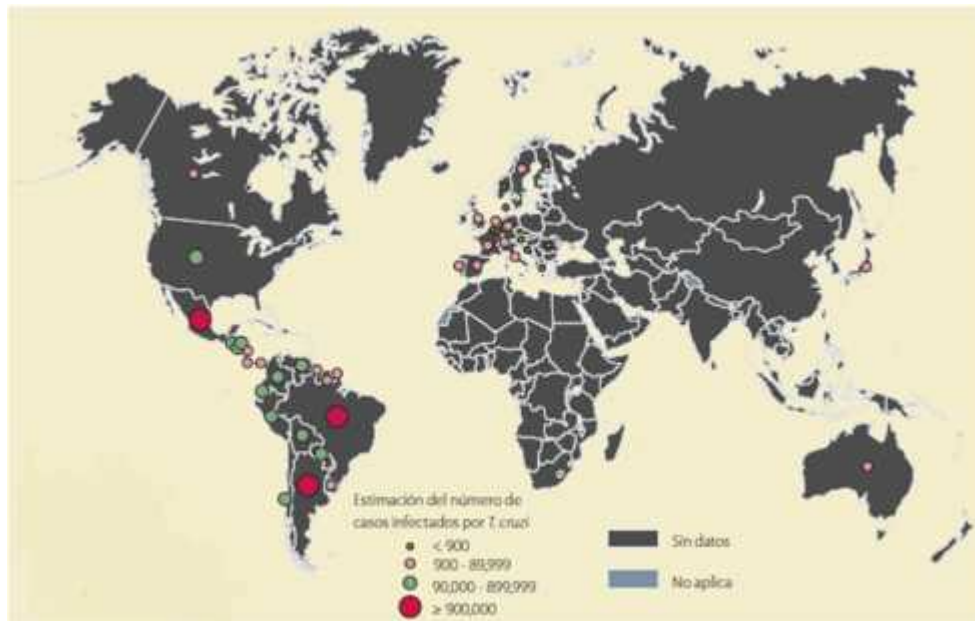


Figura N° 2: Distribución mundial de casos de la Enfermedad de Chagas.

Fuente: Rev. Fac. Med. (Méx.) vol.59 no.3 Ciudad de México may./jun. 2016.

En las últimas dos décadas, la Enfermedad de Chagas se ha extendido a regiones más no infectadas en comparación con su evolución desde hace más de 9 000 años. La infección causada por *T. cruzi* existió entre animales salvajes, pero luego se extendió a animales domésticos y seres humanos, con un incremento relativo observándose a principios del siglo XX. Durante muchas décadas, la Enfermedad de Chagas fue una enfermedad estrictamente rural. Sin embargo, los cambios socioeconómicos, el éxodo rural, la deforestación y la urbanización han transformado el perfil epidemiológico de la enfermedad, convirtiéndola en un fenómeno más urbano / periurbano (Kirchhoff, 2011).

2.2.1 EPIDEMIOLOGÍA EN BOLIVIA

En Bolivia, la zona endémica de la Enfermedad de Chagas se extiende desde los 300 a los 3500 msnm. Esto corresponde a más de la mitad del territorio nacional, principalmente los valles y los llanos. Los departamentos más afectados son Chuquisaca, Cochabamba y Tarija. Otros departamentos parcialmente afectados son La Paz, Santa Cruz y norte de Potosí. La vinchuca se desarrolla muy bien en estas áreas porque encuentra las condiciones ideales de temperatura y humedad, pero también hábitat y alimento (Arteaga y col., 2010).

La Enfermedad de Chagas es una prioridad sanitaria en Bolivia. 3.5 millones de personas que viven en las áreas endémicas están en riesgo de contraer esta enfermedad. Aproximadamente el 20% de la población boliviana está infectada con el *T. cruzi*, y de estos, 25% presentan lesiones cardíacas, con las graves consecuencias que esto representa. Por otra parte, debido a las migraciones de las áreas rurales a las grandes ciudades, en zonas normalmente no endémicas, debemos de tener en cuenta el riesgo de transmisión por medio de transfusiones de sangre y la transmisión congénita (Arteaga y col., 2010).

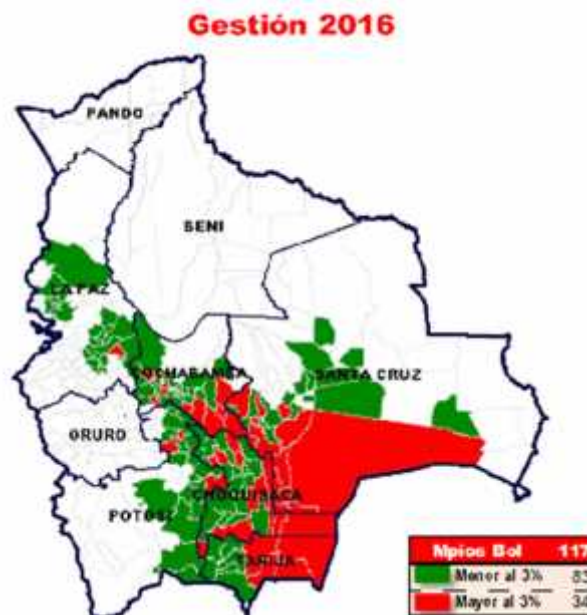


Figura N°3: Mapa de Bolivia con estratificación de municipios según nivel de infestación mayor y menor del 3%. Fuente: Programa Nacional de Chagas Ministerio de Salud del Estado Plurinacional de Bolivia, 2016.

Las condiciones sociales tienen mucha importancia en la Enfermedad de Chagas, porque afecta principalmente a las clases más pobres de las zonas endémicas, ya que los Triatomíneos del Género *Rhodnius* viven fundamentalmente en las palmeras, grietas de las casas de adobe y en los techos de paja de las localidades suburbanas y rurales, también en depósitos donde las cosas se mueven con poca frecuencia, pero no pueden vivir en las paredes encaladas y tampoco pueden excavar en el cemento o en el ladrillo.

La incidencia de esta parasitosis presenta una fuerte tendencia, en zonas donde ocurren mejoras generales en la calidad de vida, en especial de la vivienda, y donde los programas de desinfección se llevan a cabo de forma regular (Pereira y Pérez, 2003).

2.2.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DEL VECTOR

Se considera que 6 especies, capaces de adaptarse y colonizar la casa del hombre, presentan una significación epidemiológica importante en América del Sur: *T. infestans*, *T. brasiliensis*, *T. dimidiata*, *T. sordida*, *P. megistus* y *R. prolixus*. Una séptima especie, *R. pallescens*, tiene un rol epidemiológico importante en América Central. *T. infestans* tiene una amplia distribución en los países del Cono Sur: Bolivia, Chile, Perú, Argentina, Paraguay, Uruguay y Brasil. De México al norte de América del Sur se encuentran *R. prolixus* y *T. dimidiata*. *T. brasiliensis*, es el vector predominante en el noreste de Brasil pero está extendiendo su distribución al sur, hasta los estados de Bahía y Minas Gerais. *P. megistus* está distribuida en la costa de Brasil y se encuentra también en pequeños focos de Bolivia, Paraguay, Argentina y Uruguay. *T. sordida* está distribuida en el sur de Brasil, Bolivia, Paraguay y norte de Argentina. En Bolivia se han informado 15 especies de triatomíneos distribuidas en 6 géneros, entre ellas, *T. infestans* ha merecido la mayor atención como vector domiciliario y es responsable de los altos índices de contaminación vectorial. Bolivia es el único país donde los focos silvestres de *T. infestans* han sido encontrados, estos focos existen en la región de Cochabamba. Últimamente, algunos *T. infestans* silvestres fueron descubiertos en el Chaco, otras especies como *T. sordida*, *R. stali*, *P. rufotuberculatus* y *Eratyrus mucronatus* pueden encontrarse habitadas en Bolivia. (Huerta, 2017).

El *T. cruzi* es endémico o potencialmente endémico en 21 países del continente americano, principalmente en zonas rurales de México, América Central y del Sur entre 42° N y 40° S de latitud. Se estima un total entre 16 y 18 millones de personas infectadas en 18 países de Latinoamérica. Se pueden evidenciar importantes diferencias entre estos países latinoamericanos: **Brasil**, el porcentaje de la población infectada es del 1.3% del total del país, lo que significa aproximadamente 5 millones de personas. **Argentina, Honduras, Paraguay y El Salvador** presentan un porcentaje entre el 5% y el 10% de la población infectada con la enfermedad. **Chile, Colombia, Ecuador y Venezuela**: entre el 1% y el 5%. Otros países como **México y Nicaragua** presentan un porcentaje de infección menor al 1%. Los casos presentados en otros países de **Europa, en Japón o Australia** se deben a personas latinoamericanas que han viajado a estos países. En **Estados Unidos**, la infección se encuentra más frecuentemente asociada a inmigrantes de México, Centro América y Sur América. En **Bolivia** la Enfermedad de Chagas abarca extensas áreas geográficas y, entre ellas, los valles andinos y el Chaco son las más infestadas. El 55% del territorio es considerado como área endémica, con una población rural cerca de 1 millón de personas. Sólo zonas altas, superiores a los 3.500 msnm, y los llanos tropicales, con temperaturas muy altas y húmedas, serían una barrera para la extensión del área chagásica en Bolivia (Huerta, 2017).

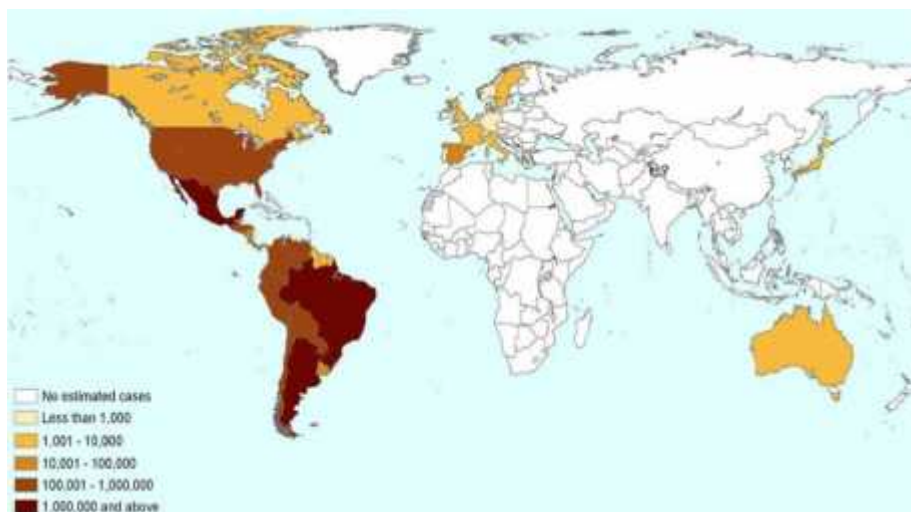


Figura N°4: Estimación de casos de población infectada por *T. cruzi*, 2009.

Fuente: In Med (Instituto for International Medicine).

2.3 AGENTE ETIOLÓGICO

La Enfermedad de Chagas es producida por el *T. cruzi*, protozoo que tiene un ciclo evolutivo complejo, el cuál experimenta una serie de cambios morfológicos durante su desarrollo, tanto en el huésped definitivo (mamíferos, algunos marsupiales y el hombre) como a nivel del huésped intermediario o vector, constituido por los triatominos (Bernal, 2015).

El *T. cruzi* es un parásito unicelular que altera su vida entre dos hospederos multicelulares uno invertebrado y uno vertebrado, presentando un ciclo de vida digenético. En función de la forma general de las células (esférica, piriforme o alargada), la posición relativa entre el núcleo y el cinetoplasto (anterior, lateral o posterior), la manera de salida del flagelo (central o vertical) (Rios, 2015).

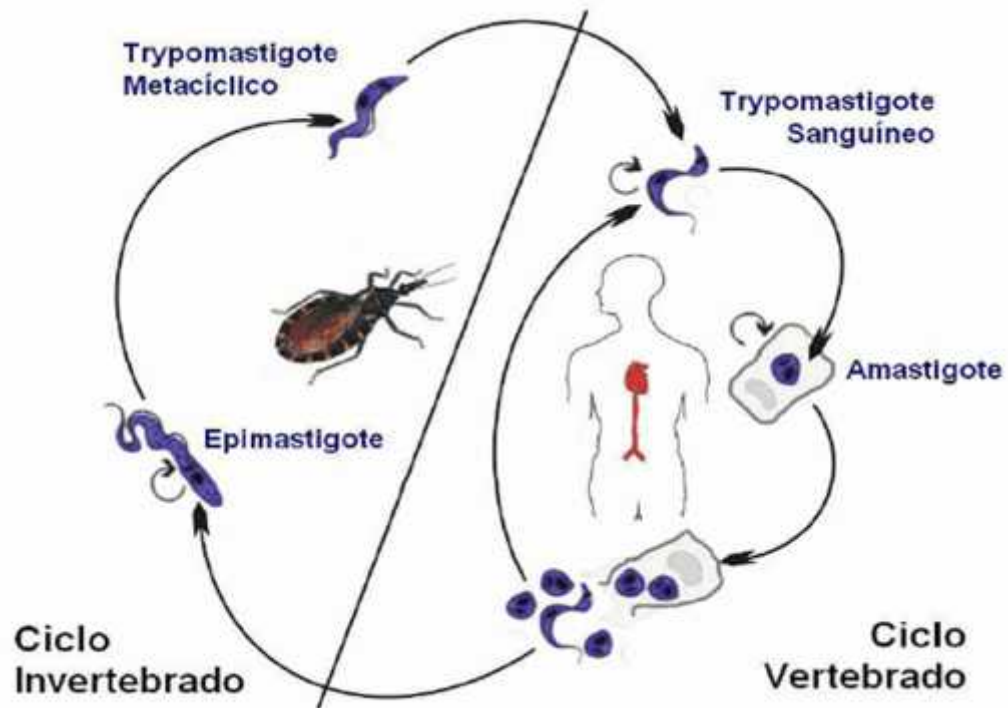


Figura N° 5: Agente etiológico de la Enfermedad de Chagas. Fuente: Chagas disease, Duffy y col., 2010.

2.3.1 MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DE LOS DIFERENTES ESTADIOS DEL PARÁSITO

El *T. cruzi* es un protozoo hemoflagelado digenético perteneciente a la familia Trypanosomatidae, incluida en el orden Kinetoplastida del filo Sarcomastigophora (OMS, 2002; Carrada, 2004), se distribuye ampliamente en todo el continente americano, presentando un rango considerable de vectores, hospederos y reservorios, así como un amplio pleomorfismo genético y biológico natural, al cual se le ha atribuido las diferentes manifestaciones con que se presenta la enfermedad (Murray y col., 2005; Gil y col., 2007). El *T. cruzi* presenta tres estadios morfológicos: Tripomastigote metacíclico o sanguíneo, Epimastigote y Amastigote. (Becerril, 2008).

Tripomastigote metacíclico: Morfológicamente se distingue por presentar una forma alargada de 20 a 25 μm de longitud, con núcleo grande, vesiculoso y central, cinetoplasto subterminal esférico de alta densidad de ADN en una posición posterior, flagelo corto que emerge del blefaroplasto y membrana ondulante estrecha, lo cual le confiere movimiento. En este estadio, el parásito no posee capacidad replicativa; sin embargo, corresponde a la forma infecciosa extracelular (Martins y col., 2012).

Tripomastigote sanguíneo: Se observa en sangre, es una forma flagelada de 12 a 20 μm , cuyo flagelo emerge del blefaroplasto cerca del cinetoplasto con membrana ondulante estrecha (Martins y col., 2012). Al igual que el tripomastigote metacíclico este estadio no se considera una fase replicativa, sin embargo, posee la capacidad para invadir otras células del hospedero y es la forma infectiva para el insecto vector (Becerril, 2008).



Figura N°6: *Estadio morfológico de T. cruzi: Tripomastigote*

Fuente: www.uta.edu/Chagas/html/bio/Tcru.html

Epimastigote: Se encuentra en el tracto digestivo del triatomino y en las glándulas anales de marsupiales infectados. Presenta aspecto fusiforme de 20 a 25 μm de longitud, cinetoplasto 5 anterior al núcleo y membrana ondulante poco desarrollada. No infectiva para el ser humano o mamífero, y se encuentra en el vector invertebrado. Presenta actividad replicativa intensa por división binaria longitudinal (Romero, 2007).

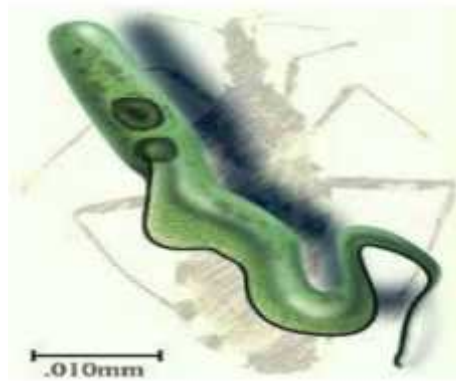


Figura N°7: Estadio morfológico de *T. cruzi*: Epimastigote

Fuente: www.uta.edu/Chagas/html/bio/Tcru.html

Amastigote: Es la forma intracelular de *T. cruzi* que se encuentra en los tejidos del hospedero vertebrado. Posee una forma redondeada llamada leishmanoide, mide de 2 a 2.5 μm , carece de flagelo exterior y membrana ondulante, por lo que su movimiento es únicamente por rotación. Es la forma replicativa intracelular en el hospedero mamífero, que se reproduce por división binaria longitudinal cada 12 horas (Becerril, 2008).



Figura N°8: Estadio morfológico de *T. cruzi*: Amastigote

Fuente: www.uta.edu/Chagas/html/bio/Tcru.html

2.3.2 CICLO BIOLÓGICO DEL *Trypanosoma cruzi*

El ciclo biológico del *T. cruzi* posee un ciclo de vida complejo que incluye tres fases morfológicas comprendidas en dos hospederos: el vector invertebrado y el hospedero mamífero (Becerril, 2008). Inicia cuando el vector triatomino ingiere tripomastigotes sanguíneos de un hospedero mamífero infectado. Dichos tripomastigotes sanguíneos se diferencian en epimastigotes, multiplicándose por fisión binaria longitudinal en el intestino medio del vector. Posteriormente, estos migran hacia la porción distal del intestino y se diferencian en tripomastigotes metacíclicos infecciosos, los cuales se excretan con las heces del vector (Bern, 2015). En las deyecciones se encuentran introduciendo heces del vector con tripomastigotes metacíclicos a través de la picadura del insecto o por erosiones de la piel (Toso y col., 2011).

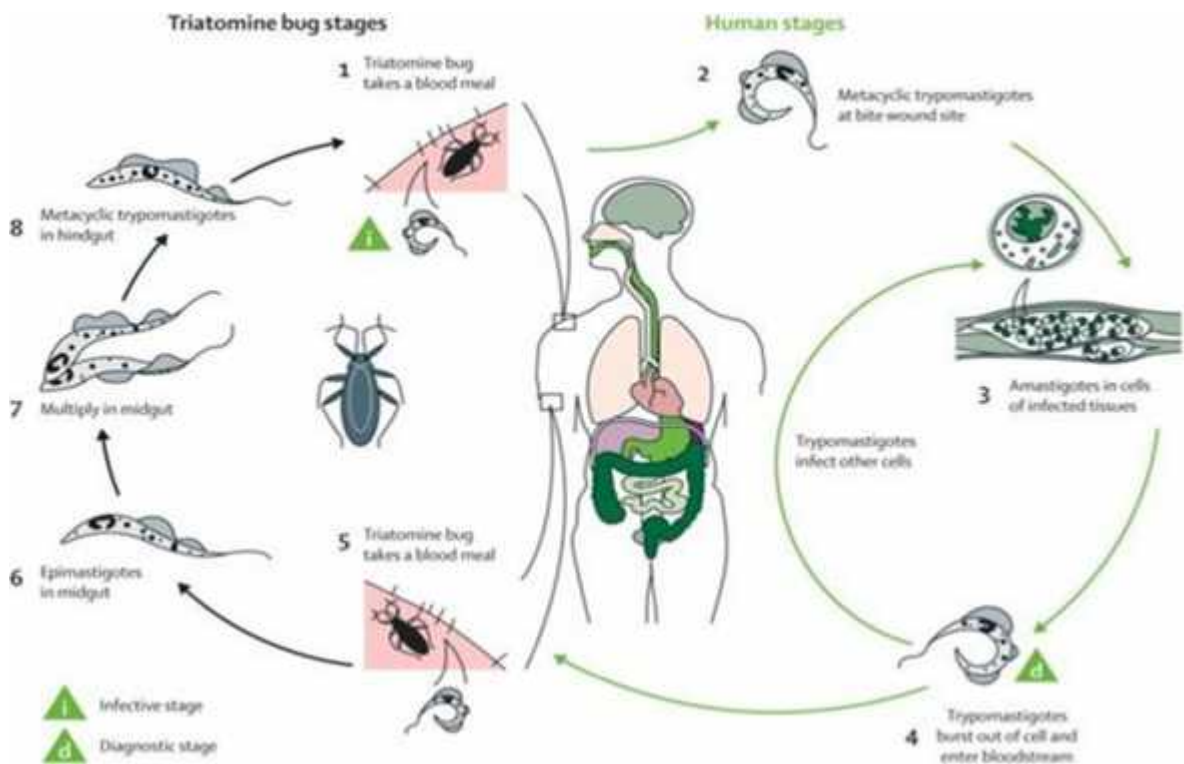


Figura N° 9: Ciclo morfológico de *T. cruzi*: Tripomastigote

Fuente: www.uta.edu/Chagas/html/bio/Tcru.html

Los tripomastigotes metacíclicos, una vez dentro del mamífero, se introducen en las células de tejidos cercanos al sitio de penetración, en donde se diferencian al estadio de amastigotes intracelulares, los cuales se replican por fisión binaria longitudinal con un tiempo de duplicación de aproximadamente 12 horas durante un período de 4 a 5 días (Bern, 2015).

Los amastigotes pueden infectar nuevas células o diferenciarse rápidamente en tripomastigotes sanguíneos, los cuales mecánicamente provocan la lisis de la célula y su diseminación en todo el organismo por vía hematológica, en donde pueden invadir cualquier célula nucleada. El ciclo biológico se completa cuando un triatominos se alimenta de un mamífero infectado y adquiere al parásito que se encuentra en el torrente sanguíneo de este mismo (Becerril, 2008).

2.4 VÍAS DE TRANSMISIÓN

Las formas de transmisión más importantes son: vectorial, transfusional y congénita. Sin embargo es importante mencionar que existen también otras formas de transmisión como el trasplante de órganos, por vía oral y leche materna.

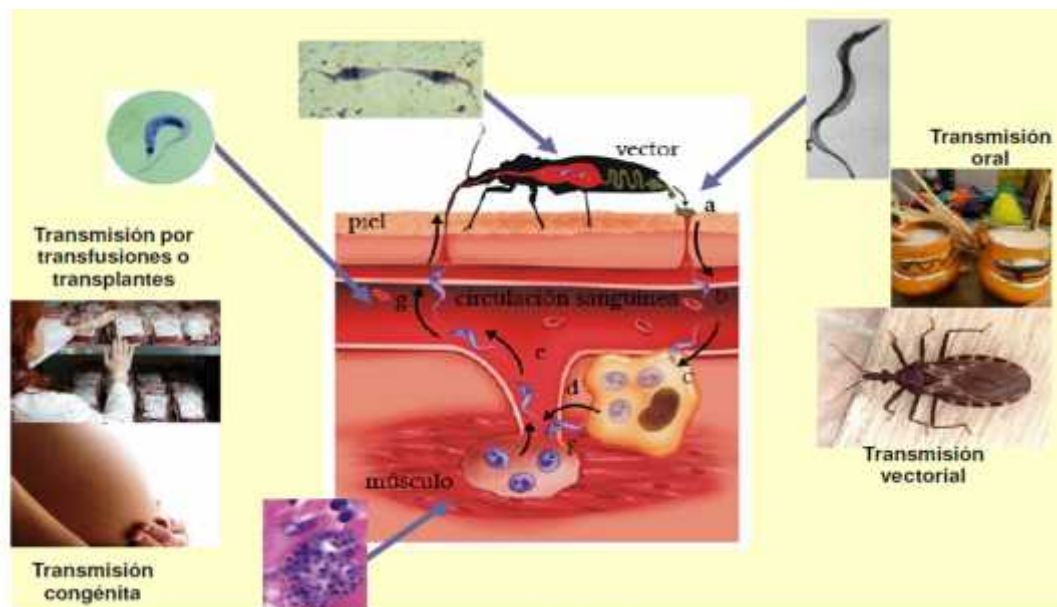


Figura N° 10: Vías de transmisión de la Enfermedad de chagas.

Fuente: ww.transmision/congenita/de/laenfermedaddechagas&oqimg.

2.4.1 TRANSMISIÓN VECTORIAL

La principal vía de transmisión de *T. cruzi* es la vía vectorial, en la cual los tripomastigotes metacíclicos presentes en las heces infectadas de los insectos vectores penetran a través de lesiones en la piel o a través de la mucosa de los mamíferos. Esta vía de transmisión es la causante de más del 80% de los casos conocidos en áreas endémicas. La principal estrategia de control en áreas de endemidad ha sido la vigilancia y control de la actividad vectorial (Díaz y col., 2014).

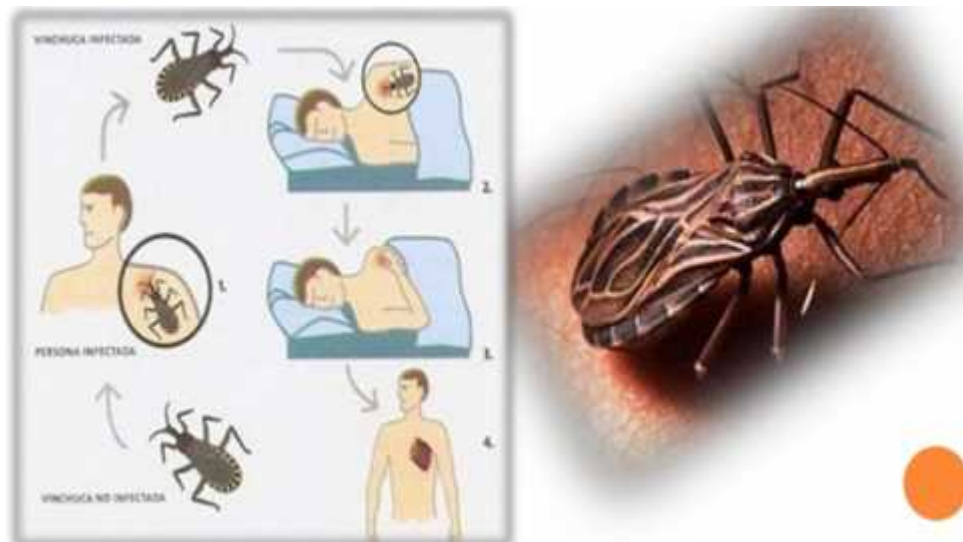


Figura N° 11: Transmisión vectorial

Fuente: Polimodal del Colegio San Miguel de Adrogué, 2007

2.4.2 TRANSMISIÓN TRANSFUSIONAL

La segunda vía de infección en importancia es la transfusional, y esto se debe a la gran progresión de la infección al estado crónico asintomático, a su prevalencia elevada en la población de donantes de sangre y la viabilidad del parásito en condiciones de almacenamiento de la sangre, ya que el parásito *T. cruzi* puede sobrevivir en plaquetas almacenadas a temperatura ambiente, en sangre entera o glóbulos rojos a 4°C durante 21 días, en plasma y en crioprecipitados (Blejer y col., 2002).

El parásito se puede transmitir de una persona infectada a otra no infectada por medio de transfusiones sanguíneas. Ya hemos dicho que el parásito se aloja en los tejidos, y que periódicamente sale al torrente circulatorio (Alonso, 2003). Se estima que el riesgo de transmisión del parásito por la transfusión de una unidad de 500 ml de sangre total oscila entre el 12 y 20 % (Guhl, 2009).



Figura N° 12: Transmisión Transfusional de la Enfermedad de Chagas.

Fuente: Isabel Pérez S., DGDC-UNAM, 2017

2.4.3 TRANSMISIÓN CONGÉNITA

Las mujeres infectadas pueden transmitir la enfermedad a sus hijos durante el embarazo, la transmisión congénita se produce entre el 2 y 8% de las mujeres infectadas. Estos niños nacen con el trypanosoma circulando en su sangre, la infección así adquirida puede tener implicaciones clínicas que perjudiquen el desarrollo del niño y además la infección se puede transmitir de generación en generación si no se administra el tratamiento adecuado (Alonso, 2003).

La transmisión congénita o transplacentaria ha sido limitada a las zonas rurales; sin embargo, existe cada vez con mayor frecuencia en ciudades donde no hay transmisión vectorial, como consecuencia de la migración. Se han notificado casos en Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Guatemala, Honduras, Paraguay, Uruguay y Venezuela (Martínez y col., 2013).



Figura N° 13: Transmisión Congénita

Fuente: FabaInforma /Salud nacional promueve la prevención del Chagas congénito, 2015.

2.4.4 TRANSMISIÓN VÍA ORAL

La vía oral es una forma importante de transmisión en el ciclo selvático y por ser la ruta natural para la infección de reservorios silvestre e inclusive reservorios domésticos. Sin embargo, esta vía de transmisión en humanos no es la más común, ocurriendo de manera inusual a través de la ingesta de frutas, alimentos contaminados o por aspectos culturales relacionados con el consumo de carne cruda o poco cocida (Díaz, 2014).

La contaminación de los alimentos se produce por el contacto de estos con las heces del vector infectado, cuando inadvertidamente se tritura el insecto durante la preparación de los mismos o cuando son contaminados con secreciones anales de marsupiales infectados (Souza y col, 2013). Los alimentos asociados con este tipo de transmisión han sido jugo de caña y de frutas (asaí, guayaba y naranja); comida casera como: sopa, caldo, leche, agua y carne de caza. Algunos estudios confirmaron que factores como la temperatura y humedad, afectan la viabilidad del parásito en las elaboraciones alimentarias; el parásito es viable hasta por nueve horas a 4°C, e incluso después de 12 horas a 5°C, pero no lo es después de dos horas a -20°C (Neves y col., 2007).

Es importante señalar que la transmisión oral se ha manifestado en regiones donde se adelantó el control vectorial, en áreas rurales y periurbanas de baja endemicidad. Estos cambios epidemiológicos parecen ser consecuencia del desequilibrio ecológico dado por

la destrucción de los ecosistemas y utilización de grandes áreas para monocultivos que llevan a disminución de las fuentes de alimentación de los insectos vectores (Roque y col., 2008). Es por esto que los triatomíneos silvestres migran a nuevos ecótopos o son atraídos a las viviendas por diferentes estímulos, entre ellos las fuentes luminosas y fuentes alternativas de alimentación (Pinto, 2012). Igualmente la presencia de reservorios silvestres, en las zonas peri-urbanas y rurales, los cuales han sido reportados con altas tasas de infección, cercanas a 70% y la presencia en su orina y secreciones anales de tripomastigotes metacíclicos que podrían contaminar los alimentos o elementos de cocina (Pinto, 2006).

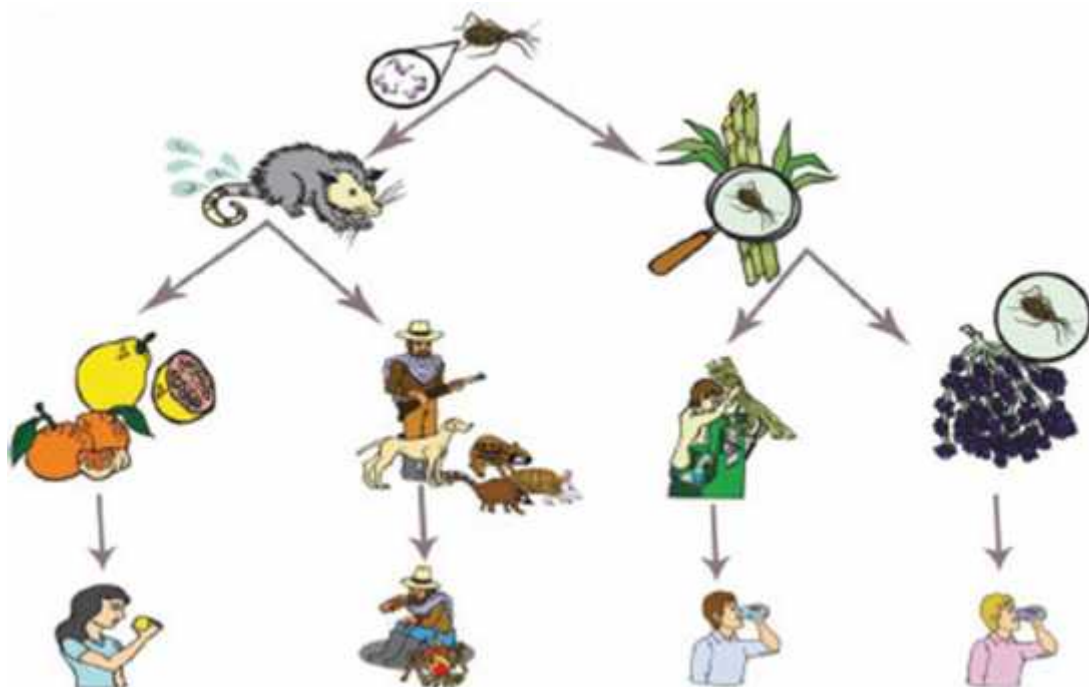


Figura N° 14: Formas de transmisión de la Enfermedad de Chagas por Vía Oral
Fuente: Rev. Univ. Ind. Santander. Salud vol.46 no.2 Bucaramanga, May/Aug. 2014

2.4.5 TRANSMISIÓN POR TRASPLANTE DE ÓRGANOS

La transmisión se puede producir como consecuencia del trasplante de órganos como el riñón, el corazón o el páncreas procedentes de donantes infectados. Generalmente todos los receptores son susceptibles de presentar la parasitosis al trasplantarle órganos infectados, ya que se le establecen tratamientos inmunosupresores destinados a disminuir el rechazo de los órganos (Pereira y Pérez, 2003).

2.4.6 TRANSMISIÓN POR ACCIDENTES DE LABORATORIO

Se ha informado la transmisión accidental de la enfermedad de Chagas, en laboratorios y hospitales, debido a la incorrecta manipulación de diferentes tipos de materiales contaminados, como excretas de triatomíneos, cultivos de parásitos y sangre infectada de seres humanos y animales (Guhl, 2009).

2.5 EFECTOS DEL CAMBIO CLIMÁTICO Y LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

La distribución geográfica y la dinámica poblacional de las enfermedades vectoriales se relacionan con los patrones de temperatura, lluvias y humedad. La mayoría de los vectores son artrópodos de sangre fría altamente sensibles a las temperaturas ambientales. El calentamiento mundial favorece su desarrollo, las temperaturas más altas aceleran el metabolismo de los insectos, incrementan la producción de huevos y la necesidad de alimentarse. Las lluvias además tienen un efecto indirecto sobre la longevidad del vector, debido al aumento de la humedad que crea un hábitat favorable para su desarrollo. Las inundaciones pueden generar efectos catastróficos en la naturaleza al disminuir las fuentes de alimentación, que al igual que la deforestación favorece el desplazamiento de los insectos a zonas habitadas por el hombre (Patz JA, 2002).

Los triatomíneos habitan una gran variedad de ambientes y están bien adaptados a una gran variedad de climas. Aunque la mayoría de las especies de triatomíneos se distribuyen en zonas intertropicales, también llegan a las regiones templadas con inviernos fríos como la Patagonia, Indiana y Maryland. Desde una perspectiva epidemiológica, *Rhodnius prolixus* (en Centroamérica y el norte de América del Sur) y *Triatoma infestans* (en la región del cono Sur de América del Sur) son las especies de vectores más importantes (Guhl, 2009); el primero está adaptado a las regiones tropicales, mientras que el segundo a sitios templados. El complejo *Triatoma brasiliensis* es un grupo monofilético también de importancia debido a que esta especie presenta una de las tasas de infección de *T. cruzi* más altas, así como elevados índices de infestación intradomiciliarios (Ceballos y col., 2011).

2.6 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Los síntomas de la EC pueden variar en gravedad según el tropismo celular del parásito, carga parasitaria, tiempo de infección y la zona geográfica. (Walderez y col., 2013). La Enfermedad de Chagas tiene dos fases diferenciadas: la fase aguda y la fase crónica, cada una con diferentes signos clínicos

2.6.1 FASE AGUDA

La fase aguda suele ser asintomática o presentarse como una enfermedad febril autolimitante (Rassi y col., 2010). Generalmente, el periodo de incubación es de 5 a 14 días después de la exposición con heces de insectos triatominos, o de 20 a 40 días después de una transfusión sanguínea, encontrando parásitos en la circulación sanguínea en un lapso de 4 a 6 meses luego de la infección (Becerril, 2008). Cuando el parásito entra en la sangre, su número va a aumentar muy rápidamente gracias a una sucesión de ciclos de multiplicación dentro de las células, que durarán unas 3 a 8 semanas. Durante este periodo, la cantidad de parásitos en sangre (parasitemia) es muy elevada, y el diagnóstico se puede efectuar con técnicas parasitológicas directas (buscando directamente el parásito en la sangre) (Alonso, 2003). En dicha fase se pueden presentar algunos signos, como el Chagoma de inoculación, caracterizado por un proceso inflamatorio agudo localizado en el sitio de infección que produce una lesión eritematosa maculonodular consistente (Carabarin y col., 2013), y el signo de Romaña, un edema unilateral palpebral con adenitis retroauricular, el cual aparece cuando la infección tiene lugar en la conjuntiva ocular (Rassi y col., 2010).

Otros síntomas incluyen malestar general, fiebre, dolor de cabeza, dolores musculares y articulares, anorexia, vómitos, diarrea, somnolencia, linfadenopatía, edema, hepatoesplenomegalia, y convulsiones (Carabarin y col., 2013). Normalmente esta fase pasa desapercibida, el sistema inmune se activa y comienza a luchar contra el parásito, pero el 5-10% de las personas infectadas pueden presentar complicaciones cardíacas o cerebral las que pueden desembocar a la muerte del paciente durante la fase aguda (Alonso, 2003).



Figura N° 15: Signo de Romaña (edema unilateral palpebral con adenitis retroauricular); Fuente: Vega y Naquira 2006.

2.6.2 FASE CRÓNICA

En la fase crónica la EC se puede presentar como forma indeterminada, en la cual el 40% de los individuos infectados siguen siendo totalmente asintomáticos. Aunque en algunos de ellos presentan serología positiva para la infección con *T. cruzi*, al igual muchos de estos pacientes pueden tener resultados de Xenodiagnóstico y de PCR positivos por varios años (Coura, 2007).

Esta fase aparece después de 10 a 30 años tras la infección, en el 20 a 30% de los pacientes infectados, las parasitemias siguen siendo bajas, y los anticuerpos están presentes. En esta fase puede haber lesiones en el músculo cardiaco (corazón) que evolucionan hacia una insuficiencia cardiaca, lesiones el tubo digestivo con alteraciones en la motilidad y que van a evolucionar hacia dilataciones en el esófago o el colon (las más frecuentes) y dificultad del tránsito de alimentos (disfagia y estreñimiento). El diagnóstico en esta fase se hace mediante serología para Chagas, y se deben hacer exámenes complementarios (electrocardiograma, radiografías) para determinar la magnitud de las alteraciones. La mortalidad en esta fase varía entre 5-25%, y está relacionada con la severidad de las lesiones y el tratamiento administrado. El tratamiento depende de la lesión: en la cardiopatía chagásica se pueden necesitar antiarrítmicos, marcapasos o incluso trasplante cardiaco; en el Chagas digestivo, alimentación adecuada, laxantes y cirugía (Alonso, 2003).

2.6.2.1 FORMA CARDIACA

Esta fase se caracteriza por darse a nivel cardíaco que evoluciona a miocardiopatía dilatada e insuficiencia cardíaca congestiva, ocurre en aproximadamente el 30% de los casos crónicos y es la causa principal de mortalidad por enfermedad de Chagas. Otras de las manifestaciones cardíacas son las arritmias, entre las más frecuentes se encuentran las extrasístoles ventriculares, taquicardia ventricular, fibrilación ventricular, fibrilación auricular, bradiarritmias y bloqueos auriculoventriculares; y su forma de presentación clínica son las palpitaciones, la lipotimia y el síncope. El compromiso cardíaco que produce la enfermedad de Chagas es responsable de 21.000 muertes por año en América Latina, siendo la forma más frecuente la muerte súbita (48%) seguida por la falla cardíaca (37%) (Díaz, 2015).

2.6.2.2 FORMA DIGESTIVA

Esta forma afecta vísceras huecas como esófago o colon. Se observa clínicamente de dos formas: el megaesófago y el megacolon, en el primero el principal síntoma es la disfagia, que es lentamente progresiva y se exagera por la ingestión de alimentos. Los pacientes regularmente consultan por náuseas, dolor esofágico, pirosis, hipo, sialorrea con hipertrofia de las glándulas salivales, tos y desnutrición en el orden citado. En el megacolon el síntoma principal es el estreñimiento. Otros síntomas son el meteorismo, distensión abdominal, timpanismo y desquicia. La presencia de megacolon en un adulto proveniente de área endémica es un indicador de alto riesgo de existencia de megacolon chagásico; y si los resultados serológicos son negativos deben ser repetidos, pues es muy rara la ausencia de anticuerpos específicos en un caso con megacolon (Díaz, 2015).

2.7 DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DEL CHAGAS

2.7.1 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Actualmente para el diagnóstico de los pacientes con la Enfermedad de Chagas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la realización de dos pruebas basadas en diferentes principios y antígenos, y una tercera en caso de discordancia (OMS, 2016).

2.8 MÉTODOS SEROLÓGICOS

El diagnóstico serológico de la Enfermedad de Chagas se basa en la determinación de inmunoglobulinas específicas de la clase G totales (IgG). En la actualidad disponemos de un amplio número de test serológicos para el diagnóstico de la EC, que se diferencian entre sí por el principio de la técnica o los antígenos que utilizan, factores que condicionan su sensibilidad y especificidad. Se conocen como tests convencionales los que emplean como antígeno la totalidad del parásito como la inmunofluorescencia indirecta (IFI) o mezclas de fracciones antigénicas del parásito como la hemoaglutinación indirecta (HAI) o ensayos inmunoenzimáticos (ELISA). En general se considera que las pruebas que utilizan antígenos crudos o totales presentan más reacciones cruzadas, con lo que la especificidad es menor. La serología es una herramienta de gran utilidad en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas (Riera, 2013).

A diferencia con los tres métodos anteriores, que requieren de un mínimo equipamiento y/o personal entrenado, entre los métodos serológicos también se incluyen los test denominados “rápidos”. Estos pueden presentar varios formatos, incluyendo el denominado “casete” o en forma de “tiras diagnósticas”, que son capaces de proporcionar resultados en menos de 1 hora. Estas pruebas funcionan con una cantidad mínima de sangre (sangre total, plasma o suero) y tienen la ventaja de que no requieren equipamiento externo (Villasante y Hernández, 2015).

2.8.1 CHAGAS TEST RÁPIDO

Es una prueba de tamizaje rápido inmunocromatográfico para la detección de anticuerpos para *T. cruzi* en plasma, suero o sangre total humana.

La prueba emplea un antígeno recombinante *T. cruzi* fijado en la línea de prueba. Cuando una muestra, que contiene anticuerpos anti *T. cruzi* se agrega a la prueba, los anticuerpos reaccionan con los anticuerpos anti-IgG humana de ratón conjugados con oro coloidal formando un complejo antígeno-anticuerpo que se fija al antígeno recombinante *T. cruzi* produciendo una línea de prueba roja violeta (T), el excedente de los complejos

antígeno-anticuerpo y/o las partículas de oro coloidal que no reaccionaron migran más allá y son inmovilizados en la segunda línea por anti-IgG de ratón formando la línea de control (C) para demostrar el funcionamiento correcto de los reactivos.

2.8.2 INMUNO-ENSAYO ENZIMÁTICO (ELISA)

Esta técnica se basa en la adsorción pasiva del antígeno de *T. cruzi* en un soporte o fase sólida (superficie de poliestireno) constituido por los pocillos de las placas de microtitulación (policubetas). El antígeno, adsorbido sobre una superficie de poliestireno es puesto en contacto con los anticuerpos presentes en el suero en dilución apropiada. La unión antígeno-anticuerpo es revelada al añadir anticuerpos anti IgG con una enzima que activa una sustancia cromógena. La intensidad de color es proporcional a la cantidad de anticuerpos. Como la prueba ELISA, tanto convencional como la que utiliza antígenos recombinantes, es una técnica recomendada en el diagnóstico de Chagas (Ministerio de salud, 2007).

Los ELISAS convencionales, utilizan como antígeno un extracto acuoso el cual es preparado a partir de epimastigotes de *T. cruzi*. Tiene una sensibilidad de (100%) y Especificidad (97-98%), es importante destacar que la especificidad de la técnica se ve limitada debido a la reacción cruzada del antígeno del *T. cruzi* con sueros de pacientes afectados con Lepra, Tuberculosis, Leishmaniasis (Orozco, 2002).

2.8.3 HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA (HAI)

Se basa en la detección de anticuerpos aglutinantes específicos anti *T. cruzi* presentes en los sueros de los infectados chagásicos. El antígeno soluble es fijado a la superficie de glóbulos rojos que previamente han sido tratados, comportándose como partículas inertes capaces de absorber antígenos parasitarios y que se denominan "hematíes sensibilizados". Estos se aglutinan cuando son puestos en presencia de diferentes diluciones de los sueros estudiados si estos contienen los anticuerpos específicos (Ministerio de salud, 2007).

2.8.4 INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)

Consiste en hacer reaccionar los anticuerpos presentes en los sueros de los infectados chagásicos con un antígeno figurado constituido por una suspensión de epimastigotes que han sido depositados sobre un portaobjetos especialmente diseñado. Los complejos antígeno-anticuerpo formados se revelan mediante una anti gammaglobulina humana marcada con un colorante fluorescente como ser el isotiocianato de fluoresceína (fluorocromo). El complejo formado se visualiza por excitación del fluorocromo mediante un rayo excitador de luz ultravioleta y la observación de este fenómeno se realiza con la ayuda del microscopio de fluorescencia (Ministerio de salud, 2007).

Esta es la prueba serológica más usada para confirmar el diagnóstico de la enfermedad de Chagas por su elevado grado de Sensibilidad (98%) y Especificidad (100%) respectivamente (Luquetti y Rassi, 2000).

2.9 MÉTODOS MOLECULARES

La técnica de la PCR es un método de diagnóstico molecular que detecta el ADN del parásito que se encuentra en la sangre de los pacientes. Esta estrategia presenta muchas variantes, cada una de ellas con diferentes grados de sensibilidad y especificidad. En general, es una técnica más sensible que la microscopía, ya que puede detectar pequeñas cantidades de ADN de *T. cruzi* en la sangre. Sin embargo, su implementación requiere de un laboratorio especializado y actualmente no se ha hecho ninguna validación de esta técnica para su utilización estandarizada en el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas.

2.9.1 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

La PCR es un método in vitro de síntesis de ADN con el que un segmento particular de éste es específicamente amplificado al ser delimitado por un par de cebadores o iniciadores que lo flanquean. Su copiado se logra en forma exponencial a través de repetidos ciclos de diferentes periodos y temperaturas de incubación en presencia de una enzima ADN polimerasa termoestable. Así se obtienen en cuestión de horas millones de copias de la secuencia deseada del ADN. La PCR es una técnica de biología molecular

altamente específica, rápida, sensible y versátil para detectar cantidades ínfimas de un cierto ADN específico, posibilitando su fácil identificación y prescindiendo del uso de radioisótopos, indispensables antes de su invención. La reacción consta por lo regular, de 30 ciclos repetitivos conformados cada uno de tres pasos: el primero consiste en la ruptura de los puentes de hidrógeno del ADN para desnaturalizarlo, para lo que se incubaba a una temperatura de alrededor de 95°C, por 1 minuto. Este paso expone las bases nitrogenadas del ADN blanco. En el segundo paso sucede la hibridación de las cadenas desnaturalizadas del ADN blanco con los denominados cebadores o iniciadores (ADN sintético de hebra sencilla), a una temperatura que facilita el apareamiento de las bases nitrogenadas complementarias de ambas clases de ADN's, esta temperatura depende de la temperatura de fusión (T_m) de los iniciadores, pero generalmente oscila entre 50 y 60°C. El tercer paso se efectúa a 72°C, temperatura a la que la polimerasa extiende la longitud de los cebadores, añadiendo los diferentes nucleótidos libres en el orden que le va dictando la secuencia de nucleótidos de la cadena que actúa como molde (Rodríguez y Barrera, 2004).

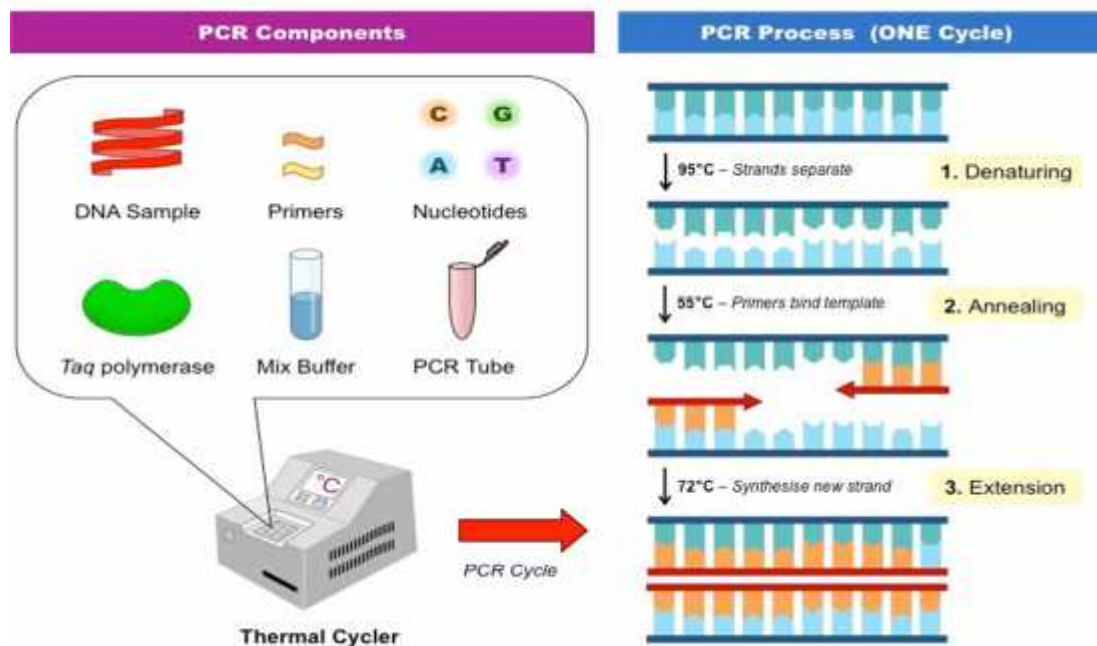


Figura N° 16: Componentes y procedimientos de la PCR en punto final.

Fuente: By e Atwood in Category e Atwood's Notebook Posted (April 30, 2017).

2.9.1.2 KINETOPLASTO DEL *Trypanosoma cruzi*

Permite la detección de ADN de las regiones variables de los minicírculos del kinetoplasto de *T. cruzi*. El parásito presenta generalmente entre 10.000 y 30.000 minicírculos y cada uno de estos presenta cuatro copias de la región variable, lo cual hace que se pueda tener hasta 120.000 copias por parásito de la secuencia a amplificar. Esta diana presenta una elevada sensibilidad, en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. El DNA nuclear y kinetoplástico de *T. cruzi* contiene varias secuencias repetitivas que son de mucha utilidad como blanco para la técnica de PCR. Mediante esta técnica es posible amplificar secuencias específicas fáciles de purificar desde el tripanosoma. Con los primers S35 Y S36, se amplifican fragmentos de DNA de 330 pb desde la región variable de los miembros del kinetoplasto *T. cruzi* (Ferre, 2015).

3. TRATAMIENTO

Para el tratamiento de esta enfermedad, como se mencionó anteriormente, se utilizan principalmente dos medicamentos, el **Nifurtimox** y el **Benznidazol**, descubiertos en 1965 y 1971 respectivamente. Estos agentes funcionan como profármacos y activan enzimas conocidas como nitroreductasas, las cuales generan efectos citotóxicos que llevan a la muerte del parásito. Tienen una efectividad aproximada del 50 % al 70 % durante la fase aguda de enfermedad, en contraste, su uso prolongado (más de 10 años) en pacientes con formas crónicas tiene una tasa de curación de solo 8 al 30 %. Además de su baja eficacia, muchos pacientes suelen interrumpir el tratamiento por el desarrollo de efectos tóxicos inespecíficos, los más comunes son los síntomas gastrointestinales como pérdida de peso, náuseas, vómito y malestar gástrico; también pueden presentarse alteraciones hematológicas como leucopenia, trombocitopenia y agranulocitosis; dermatológicas como dermatitis atópica, síndrome de Steven-Jhonson y neurológicas como polineuropatías. Otros factores importantes que se deben tener en cuenta en el manejo de esta condición son las crecientes tasas de resistencia del parásito a estos medicamentos y su difícil acceso (Jaramillo y col., 2015).

Por el momento, la quimioterapia utilizada en la Enfermedad de Chagas continúa siendo insuficiente, y pocas nuevas alternativas terapéuticas logran ser evaluadas mediante

ensayos clínicos; adicionalmente se encuentra asociada a efectos genotóxicos que pueden llegar a limitar la dosis y la duración del tratamiento, así como generar efectos negativos en la calidad de vida del paciente (Jaramillo y col., 2015).

Por lo tanto, es muy importante y necesario alcanzar un mayor conocimiento de los medicamentos utilizados en la actualidad, y de posibles nuevos compuestos con el objetivo de identificar de forma adecuada sus mecanismos de toxicidad en el parásito y el huésped, para así lograr minimizarlos y obtener medicamentos más seguros y efectivos.

4. ANTECEDENTES

La Enfermedad de Chagas fue descubierta en 1909 por Carlos Chagas, un médico brasileño que estaba estudiando la transmisión de la malaria en los trabajadores de una línea de ferrocarril en el estado de Minas Gerais. Carlos Chagas primero descubrió el parásito en el tubo digestivo de una especie de “chinchas” que infestaban las casas de la región. Vio que este parásito era una nueva forma de trypanosoma, y le dio el nombre de *T. cruzi* en honor a su maestro, el Dr. Osvaldo Cruz. Posteriormente, encontró el mismo parásito en la sangre de una niña de dos años que presentaba fiebre, y comenzó a estudiar el parásito, su transmisión, su ciclo evolutivo, las implicaciones clínicas y la importancia médica y social de esta enfermedad (Vega, 2003).

La Enfermedad de Chagas es un problema de gran magnitud en América Latina debido a su alta prevalencia, morbilidad y mortalidad. A su vez, las migraciones desde los países latinoamericanos hacia los Estados Unidos y Europa han dispersado a una cantidad significativa de personas portadoras de la enfermedad. Es importante tener en cuenta que la mayoría de los pacientes permanecen en la forma indeterminada de la enfermedad por décadas, sin manifestar ningún síntoma ni signo de su afección (González y col., 2012).

El incremento de casos autóctonos de la Enfermedad de Chagas en la Amazonia a partir de los años setenta hace temer que pueda convertirse en un novedoso problema de salud pública en la región. Este cambio del patrón epidemiológico de la enfermedad en la región amazónica debe ser explicado por las transformaciones ambientales y sociales que han ocurrido en los pasados treinta años (Oporto, 2007).

En los últimos años el Cambio Climático es una creciente amenaza para la salud humana, porque aumenta la probabilidad de impactos graves, generalizados e irreversibles en los determinantes sociales y medioambientales de la salud: agua potable, aire limpio, alimentos suficientes y vivienda segura en especial para los grupos con mayor vulnerabilidad asociada a otros determinantes sociales como los demográficos, socioeconómicos, políticos y culturales (Sánchez, 2016). Los diversos factores propician las condiciones para que los distintos reservorios y vectores de enfermedades transmisibles, entre los cuales se destacan mosquitos, roedores y garrapatas (Gorodner y col., 2013) puedan ampliar las poblaciones, su potencial de propagación y el rango de acción geográfico a zonas (aparecen en latitudes y altitudes mayores), donde encuentra un alto número de personas susceptibles (Cerdeira y col., 2008; Gonzales y col., 2014).

Hay una relación significativamente positiva entre las variaciones de las precipitaciones, la temperatura y la humedad, al crear condiciones beneficiosas para el ciclo de vida y el desarrollo de los agentes patógenos o de los vectores que se reproducen en medios acuáticos por el hábito de acumular agua en contenedores que se convierten en criaderos del vector (Lozano, 2016; OMS, 2003).

En algunas regiones, como África y América del Sur, existe una gran diversidad de vectores de enfermedades que son sensibles al cambio climático, y se necesitarán mayores esfuerzos y recursos para contener el cambio previsto de la epidemiología de las enfermedades. Además, la variabilidad del clima, a diferencia de cualquier otro factor epidemiológico, puede precipitar simultáneamente múltiples epidemias de enfermedades y otros tipos de catástrofes. El cambio climático tiene consecuencias de gran alcance que van más allá de la salud y afectan a todos los sistemas necesarios para la vida. Es pues, un factor de enorme importancia entre aquellos que afectan a la salud y la supervivencia humana.

La transmisión oral ha sido considerada una forma rara e inusual, sin embargo, en los últimos años esta forma de transmisión ha llamado la atención en países como Brasil, Venezuela y Colombia por la presentación de microbrotes de Enfermedad de Chagas Aguda (ECA) asociados a la ingesta de alimentos o bebidas contaminadas con el

parásito. En Colombia desde el año 2008 se han registrado nueve microbrotes en cuatro departamentos que han involucrado siete casos fatales. Sin embargo, esta información podría estar subestimada por lo inusual de la presentación clínica que lleva a que el personal médico no realice el diagnóstico diferencial con otras patologías prevalentes en nuestro medio. Adicionalmente, la transmisión oral se considera como una forma de transmisión reemergente, con amplia morbilidad y mortalidad comparada con las otras vías de infección y se presenta en áreas tanto urbanas como rurales. En este sentido, podríamos decir que ha cambiado el panorama de la transmisión de la Enfermedad de Chagas y por tanto se hace necesario implementar medidas de vigilancia para detectar los casos de manera temprana e implementar estrategias de control y prevención. Esta revisión ofrece una perspectiva de algunos aspectos epidemiológicos, clínicos y patológicos que acompañan la transmisión oral de la Enfermedad de Chagas (Díaz y González, 2014).

En Octubre de 2010 en la región de Guayaramerín, Beni-Bolivia se observó muestras de gota gruesa y frotis con presencia de formas flagelares compatibles con *T. cruzi*. El Laboratorio de Parasitología del INLASA mediante pruebas directas (frotis, gota gruesa, micrométodo y pruebas indirectas), las cuales confirmaron la presencia de 14 personas infectadas con *T. cruzi*. En el seguimiento epidemiológico se pudo determinar que todos los casos tuvieron como vía de contaminación, la vía oral a través del consumo de jugo a partir de la fruta del Majo procedente de la Amazonía, región selvática de Guayaramerín-Beni (Santalla y col., 2011).

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Enfermedad de Chagas es causada por el protozoo *T. cruzi*, es endémica en América Latina con más 15 millones de infectados, 50.000 nuevos casos anuales y alrededor de 14.000 muertes por año. Es una enfermedad socio-económica que afecta a poblaciones de escasos recursos y con viviendas precarias. Es un serio y creciente problema de salud pública en Bolivia, se extiende desde los 300 a los 3500 msnm, esto corresponde a más de la mitad del territorio nacional, principalmente los valles y los llanos. Los departamentos más afectados son Chuquisaca, Cochabamba y Tarija. Otros

departamentos parcialmente afectados son La Paz, Santa Cruz y norte de Potosí. Bolivia es el país que tiene el mayor porcentaje de su territorio en la cuenca amazónica, pero el Programa de Control de la Enfermedad de Chagas en Bolivia no se ha enfocado en estas regiones, debido a que no existen reportes de transmisión humana y está enfocado más en las regiones de los llanos y las tierras del chaco, siendo que la Enfermedad de Chagas es considerada una enfermedad emergente. Los triatomíneos del género *Rhodnius* se desarrolla muy bien en estas áreas porque encuentra las condiciones ideales de temperatura y humedad, pero también hábitat y alimento (Arteaga y Ortega, 2010).

En Bolivia, existen alrededor de 3 millones de personas con esta enfermedad, especialmente en la zona de los Valles y el Chaco. Particularmente, en Chuquisaca, el segundo departamento con extrema pobreza, después de Potosí se estima que el 33 % de la población vive con la enfermedad; entre las zonas endémicas del departamento se encuentran, los municipios de Villa de Huacaya y Villa Vaca Guzmán donde, en los últimos seis años, la incidencia de la enfermedad fue del 80% en personas mayores de 21 años, vale decir que, de cada 10 personas adultas 8 respectivamente son portadores de esta enfermedad, según el Sistema de Información en Salud (SIS, 2017).

El *T. cruzi* es un parásito altamente pleomórfico con un complejo ciclo de vida que involucra un amplio rango de especies de mamíferos silvestres y domésticos, los cuales constituyen los reservorios del mismo. La presentación clínica de la enfermedad es heterogénea e involucra, tanto la forma aguda como la crónica. La transmisión de la Enfermedad de Chagas ocurre de diversas formas, principalmente por contacto de mucosas o piel herida con las heces del vector infectado. Otras formas de transmisión son: transfusional, congénita, por trasplantes de órganos y por accidente de laboratorio (Díaz y González, 2014).

La Enfermedad de Chagas se desarrolla en dos fases clínicas: aguda y crónica; cada una de ellas con características clínicas, criterios diagnósticos y terapéuticos diferentes. En el caso particular de la transmisión vectorial, la fase aguda se inicia con la infección y generalmente es asintomática, afecta principalmente a niños. Cuando ocurren los síntomas, los más comunes son: inflamación en el sitio de inoculación (Chagoma),

edema palpebral unilateral (signo de Romaña), fiebre y dolor de cabeza. Esta fase usualmente se resuelve espontáneamente entre dos a cuatro meses, sin embargo algunos casos (2-6%) pueden llevar a la muerte (Anis y col., 2010).

La fase crónica puede durar toda la vida en la mayoría de los individuos infectados ya que no hay presencia de síntomas clínicos, pero entre un 30 a 40% entre el rango de 15 a 20 años después, pueden presentar manifestaciones cardíacas, digestivas, mixtas o neurológicas y esta forma representa la fase crónica sintomática. Presenta una forma inicial denominada indeterminada en la cual el parásito no es detectable por métodos parasitológicos directos pero la serología es positiva (Flórez y col., 2010).

6. JUSTIFICACIÓN

Si bien, la Enfermedad de Chagas es una problemática multidimensional íntimamente relacionada a la pobreza estructural en toda América Latina, la migración de poblaciones endémicas hacia otras ciudades está condicionando la globalización de la misma (Arteaga y Ortega, 2010), consecuentemente las variaciones de los factores medioambientales debidos al cambio climático modificarían el nicho ecológico de la Enfermedad de Chagas en la Amazonía Boliviana.

Se han realizado algunos estudios en la Amazonía Boliviana, específicamente en la región de Guayaramerín, pero no así en las regiones de Trinidad, San Borja y San Joaquín, por lo que no existen datos sobre la prevalencia de la Enfermedad de Chagas en esas 3 regiones. Es así que en el presente estudio lo que se quiere es aportar un conocimiento importante para la salud pública en las zonas de la Amazonia Boliviana, facilitando el acceso de la población para comenzar el Proceso de Diagnóstico, implementando una estrategia de Información, Educación y Comunicación, permitiendo sensibilizar a la población sobre la Problemática y la Prevención de la Enfermedad de Chagas.

Esta investigación pretende ser un estudio preliminar para motivar futuros estudios de prevalencia de la Enfermedad de Chagas en toda la parte Amazónica de Bolivia.

7. HIPÓTESIS

El presente estudio identificará a pacientes con Enfermedad de Chagas en tres regiones de la Amazonía Boliviana: Trinidad, San Joaquín y San Borja mediante Pruebas de Diagnóstico Serológico y Molecular.

8. OBJETIVOS

8.1 OBJETIVO GENERAL

- ❖ Determinación del Porcentaje de la Enfermedad de Chagas en Pobladores voluntarios de la Amazonia Boliviana mediante el Diagnóstico Serológico y Molecular.

8.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Realizar la toma de muestras de sangre de voluntarios en 3 regiones Amazónicas de Bolivia: Trinidad, San Joaquín y San Borja.
- ❖ Realizar el Chagas test rápido a todos los pacientes incluidos en este estudio.
- ❖ Determinar por Diagnóstico Serológico la Enfermedad de Chagas mediante las técnicas de IFI, ELISA y HAI.
- ❖ Determinar mediante Diagnóstico Molecular la Enfermedad de Chagas mediante la técnica de la PCR en punto final.
- ❖ Determinar pacientes con Enfermedad de Chagas autóctona o importada.
- ❖ Determinar los Factores de Riesgo asociados a la Enfermedad de Chagas.
- ❖ Efectuar el análisis de datos mediante el Software Epi Info.

9. DISEÑO O TIPO DE ESTUDIO

9.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio descriptivo, transversal ecológico donde la unidad básica de análisis es la población estudiada en Trinidad, San Joaquín y San Borja.

9.2 CONTEXTO Y LUGAR

La captación de pacientes fue realizada en Trinidad, San Joaquín y San Borja, donde se obtuvieron las muestras para ser analizadas. El procesamiento de las muestras fue llevado a cabo en el Laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Servicios Laboratorio de Diagnóstico e Investigación en Salud (SELADIS), Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas (FCFB) de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA).

9.3 POBLACIÓN EN ESTUDIO

La población estudiada fueron varones y mujeres mayores de 18 años de edad que acudieron a una atención primaria en salud en nosocomios de Trinidad, San Joaquín y San Borja, obteniendo 148 voluntarios para el estudio.

9.3.1 ASPECTOS ÉTICOS

Todos los individuos que formaron parte del presente Estudio, fueron informados acerca de los Objetivos, Importancia y Alcance, que se iba a tener en el presente trabajo **(Fotografía N°1)**.

Se les proporcionó un consentimiento informado **(Anexo N° 2)**, tríptico **(Anexo N° 3)** y encuesta **(Anexo N°4)** para poder obtener los factores de riesgo.

Aclaremos que el paciente fue voluntariamente al nosocomio, sin recibir ningún tipo de pago, abono o dinero alguno por las pruebas de laboratorio que se les realizó.

9.4 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

9.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Personas mayores de 18 años de ambos sexos asintomáticos que acudieron a los nosocomios para una atención primaria en salud.
- Personas que aceptaron su participación voluntariamente y firmaron el Consentimiento informado después de haber recibido la información sobre la Enfermedad de Chagas.

9.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSION

- Personas que no acudieron a los nosocomios para una atención primaria en salud.
- Personas que no firmaron el Consentimiento informado.
- Menores de edad.

10. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

10.1 TRINIDAD

Trinidad, capital del Departamento de Beni. Se encuentra a una altura de 160 msnm. El Río Mamoré pasa a 13 kilómetros al oeste de la ciudad. El clima del municipio es cálido y húmedo tropical con una temperatura promedio de 27° con fluctuaciones hasta 38°. La época fría entre mayo y Julio se caracteriza por vientos fríos de Sur denominados surazos. Los meses de noviembre hasta marzo son los más lluviosos con 1800 mm de precipitación fluvial (**Mapa Anexo N° 5**)

10.2 SAN BORJA

La municipalidad de San Borja se encuentra en las tierras bajas de Bolivia, al este de la Sierra Muchanes. El clima de la región es tropical durante todo el año y húmedo, la vegetación original es la de la selva tropical. La temperatura media en la región es de alrededor de 26 °C y varía muy poco entre los meses de junio y julio. La precipitación anual es de 1800 mm, con lluvias moderadas de 60-70 mm meses de junio a septiembre,

y una marcada estación lluviosa de diciembre a marzo, con precipitaciones mensuales de 200 a 300 mm (**Mapa Anexo N° 5**).

10.3 SAN JOAQUÍN

San Joaquín de Agua Dulce, geográficamente se encuentra a 13° 03' de latitud sud y 64° 49' de longitud oeste. Está a 139 msnm. La humedad relativa promedio por mes es de 72%. Tiene un promedio de 98.3 días con precipitación pluvial. Ubicado al noreste del departamento del Beni, limita al norte con la República Federativa de Brasil, al sur con la Provincia de Cercado (Beni), al Este con la Provincia de Iténez y al Oeste con la Provincia de Yacuma (**Mapa Anexo N° 5**).

11. DISEÑO METODOLÓGICO

11.1 TOMA DE MUESTRA

Se realizó la toma de muestra de sangre y la obtención del suero de 148 pobladores, en las regiones de estudio (Trinidad, San Borja y San Joaquín), las cuales fueron transportadas hasta el Laboratorio de Genética Molecular del Instituto SELADIS.

11.2 CHAGAS TEST RÁPIDO

En el ensayo 10 µl de sangre fueron dispuestos sobre la tira de reacción, posteriormente se agregó el buffer revelador provisto en el kit, luego de 10 minutos se observó la línea coloreada, cuando el resultado era positivo apareció una segunda línea por debajo del control (**Observar Fotografía N° 7**).

11.3 DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

11.3.1 TÉCNICA DE ELISA (KIT ELISA NOVA TEC INMUNODIAGNÓSTICA GMBH)

Se pipeteó 100 µl de controles y muestras en los pocillos respectivos, se dejó el pocillo A1 para el blanco. Recubrimos las tiras con los autoadhesivos suministrados y se incubó 1 h ± 5 minutos a 37°C, después de la incubación, retiramos el autoadhesivo, aspiramos el líquido de la tira y lavamos tres veces con 300 µl de la solución de lavado. El tiempo

entre cada lavado y cada aspiración fue de por lo menos 5 segundos. Para sacar el líquido restante de las tiras, se sacudió sobre papel absorbente.

Se pipeteó 100 µl del conjugado de Proteína A en cada pocillo con excepción del blanco y cubrimos con una lámina adhesiva, incubamos 30 minutos a temperatura ambiente evitando la luz solar directa. Repetimos el lavado como mencionamos anteriormente.

Se pipeteó 100 µl de sustrato de tetrametilbenzidina (TMB) en todos los pocillos y se incubó exactamente 15 minutos en oscuridad a temperatura ambiente.

Se pipeteó en todos los pocillos 100 µl de la solución de parada en el mismo orden y mismo intervalo de tiempo como con el sustrato de TMB. Toda coloración azul que se formó durante la incubación se convirtió en amarilla.

Medimos la extinción de la solución en cada pocillo con 450/620nm en un periodo de 30 minutos después de añadir la solución de parada.

Realizamos la lectura con la ayuda del blanco en el pocillo A1, la calibración al cero del fotómetro (lector de ELISA) y se medimos la extinción de todos los pocillos con una absorbancia de 450nm.

Anotamos los resultados de los controles y de las muestras en la hoja de resultados **(Observar Fotografías N° 9 y 10)**.

11.3.2 HEMOAGLUTINACIÓN INDIRECTA (HAI) KIT HAI POLYCHACO (LABORATORIOS LEMOS S.R.L.)

Se colocó 25 µl del diluyente de Muestras y se tomó un microdiluidor el cual se sumergió en H₂O destilada, secamos con papel filtro y seguidamente colocamos en el suero analizar. Al retirarlo se controló que la muestra cubra la totalidad de los espacios vacíos.

Sumergimos el microdiluidor cargado en el 1° pocillo y giramos el mismo entre ambas manos, no menos de 10 veces. Esta operación aseguró una perfecta homogenización de la muestra. Transferimos los microdiluidores a la fila siguiente y repetimos la misma

operación hasta la dilución deseada. Se retiró los microdiluidores y secamos con papel de filtro. Sucesivamente sumergimos en dos recipientes con agua destilada y secamos con papel de filtro para usarlos nuevamente.

Tomamos nuevamente un microdiluidor el cual se sumergió en H₂O destilada, secamos con papel filtro y seguidamente colocamos en el suero analizar. Al retirarlo se controló que la muestra cubra la totalidad de los espacios vacíos. Se retiró los microdiluidores y secamos con papel de filtro. Sucesivamente sumergimos en dos recipientes con agua destilada y secamos con papel de filtro para usarlos nuevamente. Esto se realizó con el Control Positivo y el Control Negativo provistos en el equipo.

Utilizamos la micropipeta de 25µl para la toma, realizamos la dilución de la muestra y los controles, homogeneizamos por carga y descarga, transfiriendo 25µl de pocillo en pocillo hasta la dilución deseada, descartando los últimos 25µl.

Se depositó 25µl de Hematíes no sensibilizados (Frasco N°4) en los pocillos 1 y 2 (dilución ½ y ¼) solamente del suero, sin colocar en las diluciones de los Controles Positivo y Negativo.

Depositamos 25µl de Antígeno (Frasco N°1) en los restantes pocillos. Dilución 1/8 hasta la dilución a investigar.

Dejamos la policubeta en reposo a resguardo de vibraciones durante un mínimo de 2 horas y realizamos la lectura (**Observar Fotografía N° 12**).

11.3.3 TÉCNICA DE IFI

PREPARACIÓN DEL ANTÍGENO PARA IFI (CHAGAS)

Realizamos a partir de formas epimastigotes de cultivo (5-8 días) de *T. cruzi*.

Se efectuó 3 lavados con Medio LIT 10 minutos a 3000 r.p.m. Después del último lavado desechamos el sobrenadante y colocamos 2 ml de PBS a pH 7,4, más 2 gotas de glutaraldehído al 2,5%, mezclamos bien y dejamos 10 minutos.

Seguidamente centrifugamos nuevamente a 3000 r.p.m. durante 10 minutos, desechamos el sobrenadante y añadimos PBS a pH 7,4, de acuerdo a la cantidad del sedimento.

Verificamos observando al microscopio y vimos si existía cantidad adecuada de parásitos (30 a 50 por campo).

Verificada la concentración adecuada de parásitos, procedimos al cargado del Ag en las láminas.

Nota: Las láminas deben estar completamente lavadas y desengrasadas.

PREPARACIÓN DE ANTÍGENOS

Teniendo los Cultivos con elevada cantidad de parásitos (30 a 50 por campo), realizamos dilución con PBS diluido:

25% de parásitos

$25 \times 15 = 375$

$10 = 3750 \mu\text{l} = 3.5 \text{ ml}$ de PBS agregamos a 10 vol. de sedimento

En láminas de IFI sembramos 1 gota pequeña de la dilución del antígeno con ayuda de pipetas Pasteur en cada pozo.

Secamos a temperatura ambiente y guardamos a -70°C hasta su uso.

REACCIÓN IFI

Retiramos las láminas y colocamos para secar.

Seguidamente realizamos las diluciones del suero:

1:40 (40 X) 5 μl + 195 μl PBS

1:80 (80 X) 100 μl + 100 μl PBS

1:160 (160 X) 100 μl + 100 μl PBS

1:320 (320 X) 100 μl + 100 μl PBS

Sacamos 100 μ l del suero diluido y depositamos en los orificios de la lámina los cuales contienen el Ag y colocamos en cámara húmeda a 37 °C x 30 minutos.

Lavamos las láminas con una solución de PBS (añadimos 1 gota de PBS y secamos nuevamente), colocamos las láminas en un recipiente y cubrimos con PBS para lavar 3 veces por 5 minutos cada vez.

Secamos las láminas en el ventilador. Incubamos las láminas con el conjugado anti IgG humano marcado con fluoresceína a 37° C x 30 minutos y lavamos las láminas (del mismo modo citado anteriormente) secar, montar y leer.

MONTAJE

Luego que la lámina estaba seca, colocamos 1 gota de glicerina alcalina, cubrimos con cubreobjetos y realizamos la lectura observando en el microscopio (**Observar Fotografías N° 13, 14 y 15**).

11.4 DIAGNÓSTICO MOLECULAR

11.4.1 EXTRACCIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO

A partir de la sangre venosa tomada, realizamos la extracción del material genético del paciente mediante el Método Fenol Cloroformo, en un tubo ependorff añadimos 500 μ l de muestra, 500 μ l TEC-SDS, 20 μ l de Proteinasa K y 10 μ l DTT 1M, agitamos en el vórtex durante 20 segundos para mezclar y reposar en el Heating 2horas a 56° C. Pasado el tiempo, añadimos fenol cloroformo y agitamos por 5 minutos, centrifugamos por 5 minutos a 13000rpm. Separamos el sobrenadante, colocamos 500 μ l Etanol frío y 20 μ l Acetato de sodio. Mezclamos y observamos el ovillo.

Centrifugamos 5 minutos a 13000rpm, desechamos el sobrenadante, resuspendemos con 200 μ l de Etanol al 70%. Centrifugamos 5 minutos a 13000rpm, eliminamos el sobrenadante, evaporamos 10 minutos, colocamos 50 μ l H₂O y guardamos a -20 °C hasta el momento de su uso para la prueba de PCR.

11.4.2 OPTIMIZACIÓN DE LA PRUEBA DE PCR

Sabemos que ningún protocolo de PCR es apropiado para todas las condiciones de trabajo y tipos de reactivos que en él se emplean, cada aplicación de una nueva PCR en un laboratorio requiere la Optimización de las condiciones de trabajo para el tipo y calidad de reactivos que se están empleando.

Algunos de los problemas que se presentan: ausencia de producto de la PCR, presencia de bandas inespecíficas de fondo debido a una hibridación errónea o mala extensión de los cebadores, formación de dímeros de cebadores que compiten con la amplificación del producto deseado, mutaciones en la ausencia blanco o heterogenicidad al interior de las secuencias amplificadas entre los cebadores, entre otros.

Para el ADN control positivo se utilizó muestras proporcionadas del Instituto Seladis, Laboratorio de Genética Molecular.

La Secuencia de ADN fue previamente obtenida de artículos, la cual nos proporcionó datos específicos para el estudio, los primer's específicos S35 y S36 de *T. cruzi*, se observan en la **Tabla 1**, los cuales fueron obtenidos comercialmente (Invitrogen) para amplificar un fragmento de 330 pb y determinar la presencia de *T. cruzi* en las muestras de ADN extraído (Harris, 1998).

Tabla 1: Primers específicos para PCR, empleados para determinar la presencia de *Trypanosoma cruzi*. Fuente: *Appropriate Transfer of Biomolecular Techniques* Eva Harris, 1998.

PRIMER	SECUENCIA	pb
S35	5'-AAA TAA TGT ACG GGK GAG ATG CAT GA (K = G/T)	330 [pb]
S36	5'-GGG TTC GAT TGG GGT TGG TGT	330 [pb]

La preparación del Master Mix para los reactivos que se utilizó en la PCR para la amplificación, se observa en la **Tabla 2**:

Tabla 2: Protocolo de Preparación de PCR Master Mix

Reactivos	Ci	Cf	Vol./tubo ul	Vol. Total
BUFFER	10 X	1X	1,5	48
dNTP's	10 mM	0,8 mM	0,3 ul	9,6
Primer F	10 uM	0.5 uM	0,15 ul	4,8
Primer R	10 uM	0.5 uM	0,15 ul	4,8
Mg Cl₂	50 mM	5 mM	0,75 ul	24
DMSO	100%	5%	0,75	24
ddH₂O			9,25	296
Taq. Polimerasa	5 UI/ ul	0.05 UI	0.15 ul	4,8
TOTAL			13 ul	416

Vol. Mix	13
Vol. Muestra	2
Vol. Total	15
N° tubos	32

11.4.3 AMPLIFICACION (PCR PUNTO FINAL EN VERITY)

El termociclador, es un equipo que permite la PCR de forma eficiente y rápida, mediante la realización automática y cíclica de los cambios de temperatura que se requieren para la amplificación de una cadena de ácido desoxirribonucleico (ADN), a partir de una enzima termoestable. La PCR posibilita que una pequeña cantidad de moléculas de ADN sea amplificada muchas veces, de manera exponencial.

Esta metodología es comúnmente empleada en laboratorios médicos y de investigaciones biológicas, con una gran variedad de aplicaciones, entre ellas, la detección de la expresión de genes y de enfermedades hereditarias, la identificación de

huellas genéticas, la clonación de genes, las pruebas de paternidad, la informática del ADN y el diagnóstico de enfermedades infecciosas (Guerrero y col., 2013).

La prueba molecular se realizó mediante la PCR en punto final, donde a partir de 1 mililitro de la muestra de sangre, se realizó la extracción de ADN con proteinasa K en una concentración de 20 mg/ml, extracción orgánica fenol-cloroformo y posterior precipitación del material genético obtenido con etanol absoluto y acetato de sodio 3 Molar. Posteriormente se realizó la amplificación del ADN obtenido, basado en el protocolo de Eva Harris 1998, utilizando los primers S35y S36 (**Tabla 1**), después de la optimización de PCR, se realizó el siguiente protocolo de amplificación de 35 ciclos: **30 segundos a 94°C de desnaturalización, 30 segundos a 58°C de hibridación y 30 segundos a 72°C de polimerización**, en un Termociclador Verity de Applied Biosystems con un producto de amplificación de 330 pb (**Observar Fotografía N° 16**).

11.4.4 REVELADO DE LOS PRODUCTOS DE LA PCR (ELECTROFORESIS EN GELES DE AGAROSA)

Para poder visualizar los fragmentos de DNA obtenidos de la amplificación, se colocó 10ul del amplificado con 1ul de azul de bromofenol. El material amplificado fue identificado mediante electroforesis vertical en gel de agarosa al 1,5% en tampón TBE 1x, por 50 minutos a 250 mAmp y 250 Voltios. En cada corrida se incluyó un marcador de peso molecular correspondiente a DNA en escalera de 100 pb. Los productos obtenidos fueron observados en un transluminador a una longitud de onda de 254 nm. Se observó la presencia de kDNA de *T. cruzi* que generó un fragmento de 330 pb, siendo un resultado positivo en la PCR (**Observar Fotografía N°17**).

12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos fueron ingresados en una planilla de cálculo Microsoft Excel, programa que se utilizó para el análisis. Todos los procedimientos estadísticos se llevaron a cabo con el programa Epi Info versión 7. Para el análisis de las variables cualitativas, los datos fueron expresados como valores porcentuales.

13. RESULTADOS

El estudio fue realizado entre los meses de junio-julio de 2017 en 3 regiones de la Amazonía Boliviana, contando con participantes en el estudio epidemiológico de la Enfermedad de Chagas, en Trinidad (57 personas); San Joaquín (48 personas) y San Borja (43 personas), teniendo un total de 148 personas entre varones y mujeres mayores de edad con el rango de edad 18 y 70 años.

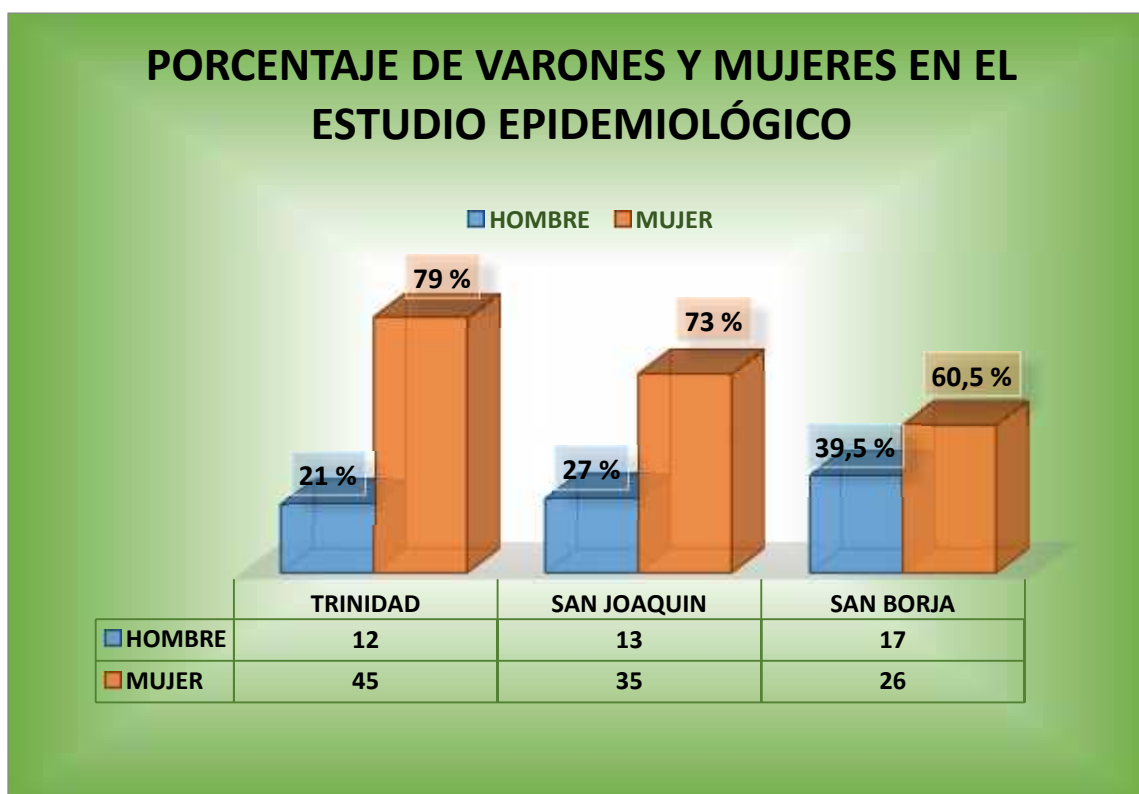
Los resultados del número de pacientes que acudieron a los nosocomios para una atención primaria en salud y participaron voluntariamente en el estudio se muestran en la *Tabla 3*.

Tabla 3. Número y porcentaje, de varones y mujeres participantes en el estudio epidemiológico de la Enfermedad de Chagas en 3 regiones de la Amazonia Boliviana

LUGAR	NÚMERO Y PORCENTAJE DE PARTICIPANTES		
	VARONES	MUJERES	TOTAL
TRINIDAD	12 (21%)	45 (79%)	57
SAN JOAQUIN	13 (27%)	35 (73%)	48
SAN BORJA	17 (39,5%)	26 (60,5%)	43
TOTAL	42 (27%)	106 (73%)	148

En la presente tabla se evalúa la estimación del porcentaje de participantes del estudio epidemiológico de la Enfermedad de Chagas en la Amazonía Boliviana: en el Departamento de Beni, en la localidad de Trinidad; poblaciones de San Joaquín y San Borja, tanto de varones como de mujeres, siendo mayor el porcentaje de participación de las mujeres (73%) en comparación con la participación de los varones (27%).

Gráfica 1. Porcentaje de varones y mujeres, en el estudio epidemiológico de la Amazonía Boliviana (Trinidad, San Joaquín y San Borja).



FACTORES DE RIESGO

Los factores de riesgo fueron obtenidos utilizando encuestas elaboradas con variables consideradas como primordiales en la transmisión de la Enfermedad de Chagas. Se les plantearon preguntas con el objetivo tener un conocimiento sobre antecedentes de los pacientes; edad; sexo; lugar de nacimiento; la actividad cotidiana que realizan; condiciones físicas de las viviendas, su cercanía a las palmeras, el consumo o no de los frutos de palmera, la presencia de animales intradomiciliarios y peridomiciliarios entre otros. Los datos obtenidos, fueron procesados mediante el programa estadístico Epi-Info y así logrando establecer los factores de riesgo asociados a la Enfermedad de Chagas.

TRINIDAD

Los resultados del diagnóstico serológico y molecular de la Enfermedad de Chagas de los pacientes de Trinidad se muestran en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Resultados del diagnóstico de la enfermedad de Chagas – Trinidad (positivos a 1 prueba)

MUJERES							
Nº	CÓDIGO	EDAD	PRUEBA RAPIDA	ELISA	HAI	IFI	PCR
1	2T*	24	No reactivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
2	11T*	49	Reactivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
3	17T*	33	No reactivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
4	25T*	41	No reactivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
5	26T*	55	Reactivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
6	50T	19	No reactivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
VARONES							
Nº	CÓDIGO	EDAD	PRUEBA RAPIDA	ELISA	HAI	IFI	PCR
1	12T*	20	Reactivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
2	19T*	67	No reactivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
3	23T	43	No reactivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
4	39T	45	No reactivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
5	44T	46	No reactivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo

*Pacientes considerados Chagas positivo por tener al menos 2 pruebas positivas (OMS, 2001).

De 55 personas estudiadas en Trinidad, 44 fueron mujeres (80%) y 11 fueron varones (20%). Aproximadamente el 14% (n=6) se consideran con diagnóstico Chagas positivo

ya que 2 mujeres dieron positivo en 2 o más pruebas y 4 mujeres dieron positivo en la prueba molecular de la PCR, como este ensayo es parasitológico indirecto porque detecta ADN del parásito en la sangre, estarían cursando la etapa aguda de la enfermedad.

Detallando los resultados obtenidos, 2 mujeres fueron positivas en la Prueba Rápida; 2 fueron positivas en ELISA; 2 fueron positivas en HAI; 5 fueron positivas en IFI y 4 fueron positivas en PCR. De estas, 2 (4,5%) mujeres dieron positivo en 4 pruebas (Prueba rápida, HAI, ELISA, IFI); 3 mujeres fueron positivas en IFI, PCR y 1 mujer fue positiva solo en la prueba de la PCR.

Respecto a los varones, el 36% (n=4) se consideran con diagnóstico Chagas positivo, de estos, 9% (n=1) dio positivo en 5 pruebas (Prueba rápida, HAI, ELISA, IFI y PCR) se trata de una persona de 20 años; otro (1) varón fue positivo en HAI y PCR; 1 varón solo fue positivo en PCR, 1 varón fue positivo en ELISA, IFI y 1 varón fue positivo en IFI, PCR. El 36% (n=4) dio positivo en la prueba de PCR.

FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN TRINIDAD

El porcentaje de participantes mujeres con edad mayor a 50 años en Trinidad fue del 28% y con edad menor a 50 años fue del 72%. Más del 80% de las viviendas contaba con luz eléctrica, el 49% de las viviendas tenía el techo construido con teja, el 17% con techos de calamina, el 33% con pared construida de madera, el 60% tenía animales (entre perro, gato, chanco, gallinas), el 18% tenía palmeras en su peridomicilio y el 28% consumía jugo de fruto de palmera.

En la **Tabla 5** se muestran los datos del lugar de nacimiento, condiciones de vivienda y consumo de jugos de frutos de palmeras considerados como factores primordiales relacionados con la transmisión de la Enfermedad de Chagas.

Tabla 5. Datos del lugar de nacimiento, condiciones de vivienda y consumo de jugos de frutos de palmeras de los pacientes con Chagas positivo (Trinidad).

CODIGO	EDAD	LUGAR DE NACIMIENTO	CONDICIONES DE LA VIVIENDA				ACTIVIDAD	CONSUMO DE JUGOS DE FRUTO DE PALMERA
			PARED	TECHO	PRESENCIA DE PALMERAS	PRESENCIA DE ANIMALES		
MUJERES								
2T	24	San Ignacio Moxos	Ladrillo sin revoque	Teja	No	No	Estudiante	No
11T	49	Santa Ana de Yacuma	Madera	Calamina	Si	Si	Cocinera	No
17T	33	Marban-San Pablo-Beni	Madera	Calamina	No	No	Empleada	No
25T	41	Trinidad	Madera	Calamina	No	No	Empleada	No
26T	55	Trinidad	Ladrillo	Calamina	No	No	Lab. de casa	No
50 T	19	Trinidad	Cemento	Calamina	No	Perros	Estudiante	Sí, lo prepara
VARONES								
12T	20	Trinidad	Ladrillo sin revoque	Teja	No	Chanchos, perro	Estudiante	Si, compra el jugo
19T	67	La Paz	Ladrillo	Duralit	No	No	Comercio	No
23T	43	Reyes – Beni	Madera	Calamina	No	No	Empleado	No
39T	45	Casarabe - Beni	Cemento	Teja	No	No	Empleado	No
44T	46	Itenez-Bella Vista – Beni	Madera	Calamina	No	Perro	Agricultor	No

De las 6 mujeres con diagnóstico positivo de la Enfermedad de Chagas, 6 mujeres nacieron en diferentes lugares del Beni; tienen diferentes edades (entre 19 a 55 años), de ellas 3 mujeres tienen la pared de su vivienda construida de madera; 5 tienen techo construido con calamina; solo 1 mujer tiene palmeras en su vivienda; 2 mujeres tienen animales domésticos; las 6 mujeres tienen diferentes actividades como labores de casa, comercio, estudiantes y solo 1 mujeres consumen jugos de fruto de palmera.

De los 4 varones que revelaron un Diagnóstico Positivo de la Enfermedad de Chagas, 3 varones nacieron en el Beni; 1 nació en La Paz. Tienen diferentes edades (entre 20 a 67 años); 2 varones tiene la pared de su vivienda construida de madera; 2 varones tienen animales en su peridomicilio; 1 varón se dedica a trabajos de agricultura y solo 1 varón consumen jugos de fruto de palmera.

SAN JOAQUÍN

Los resultados del diagnóstico serológico y molecular de la Enfermedad de Chagas de pacientes de San Joaquín se muestran en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Resultados del diagnóstico de la enfermedad de Chagas – San Joaquín (a 1 prueba positiva)

VARONES							
Nº	Código	EDAD	PRUEBA RAPIDA	ELISA	HAI	IFI	PCR
1	19SJ*	43	No reactivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
2	38SJ*	66	Reactivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo

*Pacientes considerados Chagas positivo por tener al menos 2 pruebas positivas (OMS, 2001).

Los resultados del diagnóstico serológico y molecular de la Enfermedad de Chagas de las personas de San Joaquín, con positividad en las diferentes pruebas se muestran en la *Tabla 6*.

De 48 personas estudiadas, 35 fueron mujeres (73%) y 13 fueron varones (27%). Respecto a los resultados fueron 2 varones, los que dieron positivo en el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas 15% (n=2), de estos, 1 varón dio positivo en 4 pruebas (Prueba Rápida, HAI, ELISA, IFI) y 1 varón dio positivo en la prueba de IFI y PCR.

FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN SAN JOAQUÍN

El porcentaje de participantes mujeres con edad mayor a 50 años fue del 40% y con edad menor a 50 años fue del 60%. Más del 90% de las viviendas contaba con luz eléctrica; el 59% de las viviendas estaba construida con techos de teja; el 4% con techos de calamina; 11% con techos de ramas de palma; el 18,5% de las paredes de las viviendas estaba construida de madera; el 79% tenía animales (entre perro, gato, chancho, gallinas, chivos) en su peridomicilio; el 32% tenía palmeras en su peridomicilio y el 27% consumía jugo de fruto de palmera.

En la *Tabla 7* se muestran los datos del lugar de nacimiento, condiciones de vivienda y consumo de jugos de frutos de palmeras considerados como factores primordiales relacionados con la transmisión de la Enfermedad de Chagas de los pacientes positivos en San Joaquín.

Tabla 7. Datos del lugar de nacimiento, condiciones de vivienda y consumo de jugos de fruto de palmeras de los pacientes con Chagas positivo (San Joaquín).

CODIGO	EDAD	LUGAR DE NACIMIENTO	CONDICIONES DE LA VIVIENDA				ACTIVIDAD	CONSUMO DE JUGOS DE FRUTO DE PALMERA
			PARED	TECHO	PRESENCIA DE PALMERAS	PRESENCIA DE ANIMALES		
VARONES								
19SJ	43	Magdalena	Ladrillo	Hojas de palmera de motacú	No	No	Empleado	No
38SJ	66	Sud Yungas - La Paz	Ladrillo y madera	Tejas	Si	Perro	Empleado	No

De los 2 varones con diagnóstico positivo para Chagas, 1 varón nació en los Yungas de La Paz, 1 nació en Magdalena – Beni, 1 varón tiene vivienda de ladrillo y uno tiene el techo de su vivienda construido con ramas de palma de motacú, 1 varón tiene palmeras en su peridomicilio, son empleados y no consumen jugos de fruto de palmera.

SAN BORJA

Los resultados del diagnóstico serológico y molecular de la Enfermedad de Chagas de pacientes de San Borja se muestran en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Resultados del diagnóstico de la Enfermedad de Chagas – San Borja (1 prueba positiva)

MUJERES							
Nº	CÓDIGO	EDAD	PRUEBA RAPIDA	ELISA	HAI	IFI	PCR
1	4SB*	70	Reactivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
2	6SB*	49	Reactivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
3	8SB	54	No reactivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo

VARONES							
Nº	CÓDIGO	EDAD	PRUEBA RAPIDA	ELISA	HAI	IFI	PCR
1	24SB*	47	No reactivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
2	36SB*	38	Reactivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
3	43SB*	57	Reactivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo

*Pacientes considerados Chagas positivo por tener al menos 2 pruebas positivas (OMS, 2001)

Los resultados del diagnóstico serológico y molecular de las personas de San Borja con positividad en las diferentes pruebas de diagnóstico de la Enfermedad de Chagas, se muestran en la **Tabla 8**.

De 43 personas estudiadas, 26 fueron mujeres (60,5%) y 17 fueron varones (39,5%). Aproximadamente el 19 % (2 mujeres) dieron positivo a alguna de las pruebas, de estas, 7,7% (n=1) mujer dió positivo en las 5 pruebas (Prueba Rápida, HAI, ELISA, IFI, PCR). Respecto a los varones, 1 dio positivo en 3 pruebas (ELISA, HAI e IFI), 1 dio positivo (Prueba Rápida, HAI y ELISA), 1 dio positivo en 4 pruebas (Prueba Rápida, HAI, ELISA e IFI).

Factores de riesgo relacionados con la Enfermedad de Chagas en San Borja

El porcentaje de participantes mujeres con edad mayor a 50 años fue del 33% y con edad menor a 50 años fue del 67%.

Teniendo en cuenta a los factores de riesgo asociados a la Enfermedad de Chagas mencionados anteriormente, se encontró que más del 90% de las viviendas contaba con luz eléctrica, el 47% con techos construidos de calamina, 9% con techos de palma, el 19% con pared construida de madera, el 74% tenía animales domésticos (entre perro,

gato, chanco, gallinas, chivos), el 57% tenía palmeras en su peridomicilio y el 10% consumía jugo de fruto de palmera.

En la **Tabla 9** se muestran los datos del lugar de nacimiento, condiciones de vivienda y consumo de jugos de frutos de palmeras considerados como factores primordiales relacionados con la transmisión de la Enfermedad de Chagas de los pacientes positivos en San Borja.

Tabla 9. Datos del lugar de nacimiento, condiciones de vivienda y consumo de jugos de fruto de palmeras de los pacientes con Chagas positivo (San Borja)

CODIGO	EDAD	LUGAR DE NACIMIENTO	CONDICIONES DE LA VIVIENDA				ACTIVIDAD	CONSUMO DE JUGOS DE FRUTO DE PALMERA
			Pared	Techo	Presencia de palmeras	Presencia de animales		
MUJERES								
4SB	70	Sucre	Ladrillo	Calamina	Si	No	Lab. de casa	Si, lo prepara
6SB	49	Santa Cruz	Ladrillo	Teja	No	No	Guarda parque	No
8SB	54	San Borja	Ladrillo	Duralit	No	Sí	Lab. de casa	No
VARONES								
24SB	47	Irupana Sud Yungas	Ladrillo	Calamina	Si	Ganado, gallinas	Agricultor	No
36SB	38	Cuevo Santa Cruz	Cemento	Calamina	Si	Perro	veterinario	No
43SB	57	Padilla Chuquisaca	Cemento	Calamina	No	Perro	Empleado	No

De las 2 mujeres de San Borja con diagnóstico positivo para la Enfermedad de Chagas, cuyas edades se encuentran entre 49 y 70 años, 1 mujer nació en Sucre, 1 en Santa Cruz; las 2 mujeres tienen su casa construida de ladrillo; 1 mujer tiene palmeras en su

peridomicilio, 1 mujer tiene animales domésticos; tienen diferentes actividades como labores de casa y solo 1 mujer consume jugo de fruto de palmera. De los 3 varones con diagnóstico positivo de la Enfermedad de Chagas, estos tienen edades entre 38 y 57 años, los 3 nacieron en áreas endémicas como Yungas de La Paz, Santa Cruz y Chuquisaca; los 3 tienen animales domésticos, 2 tienen palmeras en sus peridomicilios, 1 es agricultor y ninguno consume jugos de fruto de palmera.

RESULTADOS EN LAS 3 REGIONES

En la **Tabla 10** se muestran los resultados en porcentaje de pacientes con diagnóstico positivo para la Enfermedad de Chagas en las 3 regiones estudiadas.

Tabla 10. Resultados del diagnóstico serológico y molecular de la Enfermedad de Chagas en pacientes de las 3 regiones de la Amazonía Boliviana.

PACIENTES	TRINIDAD	SAN JOAQUIN	SAN BORJA	TOTAL
N° DE PACIENTES	55	48	43	148
POSITIVOS ELISA	5 (9,1%)	2 (4,2%)	8 (18,6%)	15 (10,1%)
POSITIVOS HAI	4 (7,2%)	2 (4,2%)	7 (16,3%)	13 (8,9%)
POSITIVOS IFI	8 (18,2%)	2 (6,2%)	5 (18,6%)	15 (10,1%)
POSITIVOS ELISA- HAI	3 (4,4%)	1 (2,1%)	5 (11,6%)	9 (6,1%)
POSITIVOS ELISA-HAI-IFI	3 (5,4%)	1 (2,1%)	4 (9,3%)	8 (5,4%)
POSITIVOS PCR	8 (14,5%)	1 (2,1%)	3 (6,9%)	12 (8,1%)

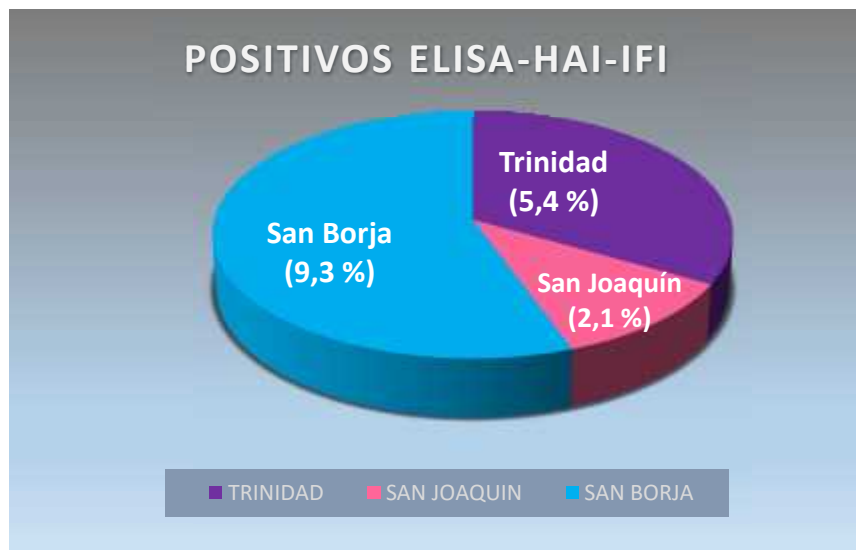
Como se puede ver en la **Tabla 10**, los datos exhibidos nos muestran que de los resultados de las muestras de pacientes de **Trinidad** evidencian que de 55 muestras analizadas, 3 muestras dieron resultado seropositivo para las pruebas ELISA, HAI e IFI **siendo el porcentaje de infección del 5.4% (Gráfica 2)**. Las muestras corresponden a 1 mujer de 49 años de edad, originaria de Santa Ana de Yacuma, 1 mujer de 55 años de edad, nativa de Trinidad y 1 varón de 20 años de edad natural de Trinidad.

Los resultados de las muestras de pacientes de **San Joaquín** evidencian que de las 48 muestras analizadas, solo 1 muestra presentó resultado seropositivo para las pruebas de

ELISA, HAI e IFI, **siendo el porcentaje de infección del 2,1% (Gráfica 2)**. La muestra corresponde un varón de 66 años de edad, originario de Sud Yungas del departamento de La Paz.

Los resultados de las muestras de pacientes de **San Borja** evidencian que de 43 muestras analizadas, 5 muestras dieron resultado seropositivo para las pruebas de ELISA, HAI e IFI, **siendo el porcentaje de infección del 9,3% (Gráfica 2)**. Las 2 muestras corresponden a mujeres con edades de 49 años natural de Santa Cruz, de 71 años nacido en Sucre. Las 3 muestras restantes corresponden a 1 varón de 47 años nativo de Irupana, un varón de 38 años nativo de Cuevo del departamento de Santa Cruz y un varón de 57 años natural de Sucre.

***Gráfica 1.** Porcentaje de personas seropositivas de la Enfermedad de Chagas en pacientes de las 3 regiones de la Amazonía Boliviana.*



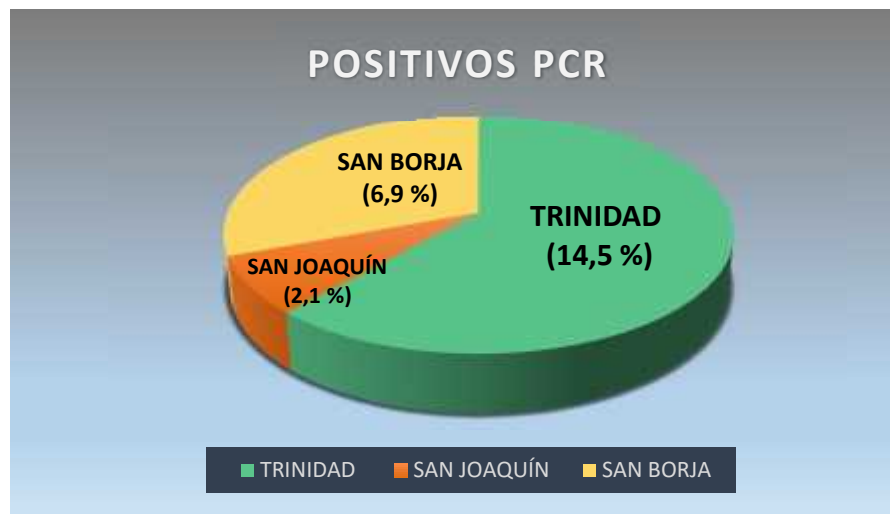
Como podemos observar en *la Tabla 10*, los datos exhibidos nos muestran que de los resultados de las muestras de pacientes de **Trinidad** evidencian que de 55 muestras analizadas, 8 muestras dieron resultado positivo para la prueba de PCR en punto final, **siendo el porcentaje de infección del 14,5% (Gráfica 3)**. Las muestras corresponden a

1 mujer de 49 años de edad, originaria de Santa Ana de Yacuma, 1 mujer de 55 años de edad, nativa de Trinidad y 1 varón de 20 años de edad natural de Trinidad.

Los resultados de las muestras de pacientes **de San Joaquín** evidencian que de las 48 muestras analizadas, solo 1 muestra presentó resultado positivo para la prueba de PCR, **siendo el porcentaje de infección del 2,1% (Gráfica 3)**. La muestra corresponde un varón de 66 años de edad, originario de Sud Yungas del departamento de La Paz.

Los resultados de las muestras de pacientes de **San Borja** evidencian que de 43 muestras analizadas, 3 muestras dieron resultado seropositivo para la prueba de PCR, **siendo el porcentaje de infección de 6,9 % (Gráfica 3)**.

Gráfica 3. Porcentaje de personas positivas en PCR de la Enfermedad de Chagas en pacientes de las 3 regiones de la Amazonía Boliviana.



Para determinar si la Enfermedad de Chagas de los pacientes es presuntamente importada o autóctona, se analizaron los lugares de nacimiento de los pacientes: De los 7 pacientes Chagas positivo de Trinidad, 1 es de Cochabamba y 1 es de La Paz; de los 2 pacientes con Chagas positivo de San Joaquín, 1 paciente es de La Paz; en San Borja de los 5 pacientes con Chagas positivo, 5 pacientes son de diferentes lugares (Sucre, Santa Cruz, Yungas - La Paz y Chuquisaca). Entonces se puede dar una estimación que del total de los casos con Chagas positivo, el 3% serían casos importados.

14. DISCUSIÓN

En Bolivia la región Amazónica aún no es considerada como endémica de la Enfermedad de Chagas, del mismo modo, se debe mencionar también que son muy pocos los estudios realizados sobre la prevalencia de la Enfermedad de Chagas en la Amazonía Boliviana. En el año 2010, realizaron estudios de seroprevalencia en personas de la población de Guayaramerín.

En el presente estudio se profundizó y realizó el estudio y se confirmó la presencia de la Enfermedad de Chagas en los otros sectores de la Amazonia Boliviana como Trinidad, San Borja y San Joaquín. En el cual como resultados de este estudio confirmamos la presencia de la Enfermedad de Chagas en pobladores de 3 regiones de la Amazonía Boliviana: Trinidad, San Joaquín y San Borja. Realizándose 5 pruebas para poder diagnosticar a un paciente como Chagásico; como Pruebas Serológicas (Prueba rápida, ELISA, HAI e IFI) y como Prueba Molecular (PCR), así obteniendo resultados confiables para el paciente en estudio.

Los datos adquiridos de las encuestas personales indican que el porcentaje de mujeres participantes del estudio fue mayor (73%) en comparación con la participación de los varones (27%). Por otra parte la mayoría de las personas en estudio tienen sus viviendas cerca a las palmeras y la presencia de animales domésticos, además muchas de las personas entrevistadas mencionaron que consumen frutos de palmera en forma de jugos regularmente.

Los resultados del proceso de laboratorio con las muestras de los pacientes, mostraron positividad en algunas de ellas; sin embargo debemos mencionar que las pruebas de Laboratorio para el Diagnóstico adecuado de la Enfermedad de Chagas dependen de la etapa clínica del paciente. En nuestro estudio, el Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas se basó en la determinación de anticuerpos contra el parásito en muestras de suero de pacientes mediante pruebas (ELISA, HAI, IFI) y la reacción en cadena de la polimerasa PCR en punto final para la detección del ADN del parásito en las muestras de sangre. Para las pruebas serológicas, debemos tomar en cuenta que luego de la infección con *T. cruzi*, éste resulta extraño al cuerpo humano y el sistema inmunológico

forma anticuerpos específicos contra el parásito, los cuales se encuentran sobretodo en el suero de la persona demorando aproximadamente dos semanas para ser detectables, por lo que un examen puede salir negativo aunque sucediera una infección reciente.

En algunas regiones, como África y América del Sur, existe una gran diversidad de vectores de enfermedades que son sensibles al cambio climático, y se necesitaran mayores esfuerzos y recursos para contener el cambio previsto de la epidemiología de las enfermedades. Además, la variabilidad del clima, a diferencia de cualquier otro factor epidemiológico, puede precipitar simultáneamente múltiples epidemias de enfermedades y otros tipos de catástrofes. Debido a los efectos del cambio climático, los cambios ecológicos, el desplazamiento de los individuos a las áreas selváticas y la adaptación del vector, hicieron de la Tripanosomiasis americana una enfermedad emergente en la Amazonía Boliviana y por ende en Bolivia.

15. CONCLUSIONES

- ❖ Se demostró la presencia de la Enfermedad de Chagas en las 3 regiones de la Amazonía Boliviana: Trinidad, San Joaquín y San Borja. Se colectaron 148 muestras de sangre y suero con previa firma del consentimiento informado. Acudieron a los centros de salud: 55 pacientes en Trinidad, 48 pacientes en San Joaquín y 43 pacientes en San Borja entre varones y mujeres cuya edad oscilaba entre los 18 y 70 años. Como dato relevante para estimar el porcentaje de mujeres en edad de gestación se informa que del total de mujeres participantes del proyecto, el 35% correspondía a mujeres mayores de 50 años y el 65% a mujeres menores de 50 años. Según criterios de la OMS, fueron consideradas muestras positivas de infección por *T. cruzi*, cuando al menos dos pruebas serológicas dan el mismo resultado de positividad.

- ❖ Un porcentaje importante de pacientes con Enfermedad de Chagas, son migrantes de regiones endémicas; sin embargo se han identificado pacientes con la enfermedad que son nativos de las regiones estudiadas.

- ❖ Gracias a las encuestas que se realizó a cada una de las Personas que se presentaron en los nosocomios y mediante el Software Epi Info, se pudo obtener los Factores de Riesgo asociados a la Enfermedad de Chagas, siendo los más importantes los Factores Socio culturales y Socio espaciales.
- ❖ Otro dato importante es que un porcentaje de la gente entrevistada que corresponde al (68%), no sabe sobre los efectos del cambio climático ni como confrontarlo. Por los resultados obtenidos, valoramos la respuesta de la gente de la Amazonía Boliviana, que de manera voluntaria accedieron en el abordaje del diálogo de saberes y así conformar un frente común para contrarrestar los efectos negativos del cambio climático, pero sobretodo en la prevención de las enfermedades transmitidas por vectores como la Enfermedad de Chagas.
- ❖ Los resultados obtenidos en el proyecto constituyen un valioso aporte científico y social para el país, puesto que el objetivo fue el de contribuir y alertar a las autoridades del Ministerio de salud o Servicio Departamental en Salud, para que se realice el control y se efectivice de manera responsable la vigilancia de la Enfermedad de Chagas en las 3 regiones de la Amazonía Boliviana estudiadas, porque es considerada una enfermedad silenciosa y emergente.

16. RECOMENDACIONES

- Es importante y recomendable seguir realizando más estudios a futuro fortaleciendo el diagnóstico y prevalencia de la Enfermedad de Chagas en la Amazonía Boliviana, para poder alertar y prevenir dicha enfermedad.
- Para evitar el incremento de casos de infección en la Amazonía Boliviana se recomienda a los responsables del control de las enfermedades transmitidas por vectores implementar programas de vigilancia y control de la Enfermedad de Chagas en la población.

- Desarrollar programas de educación sanitaria que eliminen los factores de riesgo con la participación activa de los habitantes de las regiones de la Amazonía Boliviana.
- Realizar capacitación y atención integral a los responsables de salud para el diagnóstico y tratamiento de Chagas en las regiones amazónicas

17. BIBLIOGRAFÍA

Arteaga V, F., & Ortega A, V. P. (2010). La Cara Oculta de la Enfermedad de Chagas. *Archivos Bolivianos de Medicina*, 14, 47.

Alonso V, C. (2003). Vinchucas, Trypanosomas y demás familia: *Nociones sobre la enfermedad de Chagas*. *Acta Nova*, 2(3), 423.

Becerril, M. (2008). *Parasitología Médica*. México: McGraw-Hill Interamericana.

Berberian, G., & Rosanova, M. T. (2012). Impacto del cambio climático en las enfermedades infecciosas. *Archivos argentinos de pediatría*, 110(1), 39-45.

Bern, C. (2015). Chagas' Disease. *The New England Journal of Medicine*, 373(5), 456-466.

Blejer, J., Carreras, L. y Salamone, H. (2002). Riesgo de transmisión de infecciones por vía transfusional. *Medicina*, 62(3), 259-278.

Briceño L., R. (2007). Chagas disease and globalization of the Amazon. *Cadernos de Saúde Pública*, 23, S33-S40.

Buitrago R, R., Brenière S, F., Taborga M, X., Quispe A, R., & Revollo Z, S., (2016). Identificación Genética del Agente Causal y el Insecto Vector de la Enfermedad de Chagas Circulante en La Amazonía Boliviana: Provincia Iturrealde. *Revista Con-Ciencia*, 4, 93.

Carabarin L, A., González V, M., Rodríguez M, O., Baylón P, L., Rosales E, J., Reyes L, P. & Arce F, M. (2013). Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: An update. *Acta Tropica*, 127(2), 126-135.

Ceballos, L. A., Piccinali, R. V., Marcet, P. L., Vazquez-Prokopec, G. M., Cardinal, M. V., Schachter-Broide, J., Gurtler, R. E. (2011). Hidden sylvatic foci of the main vector of Chagas disease *Triatoma infestans*: Threats to the vector elimination campaign. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(10), e1365. doi: 10.1371/journal.pntd.0001365.

Cerda, J., Valdivia, G., Valenzuela, M. y Venegas, J. (2008). Cambio climático y enfermedades infecciosas. Un nuevo escenario epidemiológico. *Revista Chilena de Infectología*, 25(6), 447-452.

Chagas disease (American trypanosomiasis). *WHO. Fact sheet*. Updated March 2017.

Claudia Libertad Bernal Parra (2015). Transmisión congénita de la Enfermedad de Chagas en áreas endémicas de Bolivia – Influencia de los índices de infestación vectorial (Tesis de Grado). Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.

Coura, J. R., & Junqueira, A. C. (2012). Risks of endemicity, morbidity and perspectives regarding the control of Chagas disease in the Amazon Region. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 107(2), 145-154.

Deportes, y. Manual de procesos para la detección, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la enfermedad de chagas infantil.

Díaz, M. L., & González, C. I. (2014). Enfermedad de Chagas agudo: transmisión oral de *Trypanosoma cruzi* como una vía de transmisión re-emergente. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 46 (2), 177-188.

Ferrer, E. (2015). Técnicas moleculares para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Saber*, 27(3), 359-371.

Flórez O, Esper J, Higuera S, Barraza MF, Cabrera HB, Mantilla JC et al. Chagasic megacolon associated with *Trypanosoma cruzi* I in a Colombian patient. *Parasitol Res* 2010; 107: 439-442.

González, J., Azzato, F., Ambrosio, G., & Milei, J. (2012). La muerte súbita es infrecuente en la forma indeterminada de la enfermedad de Chagas: una revisión sistemática. *Revista argentina de cardiología*, 80(3), 242-249.

Gorodner, J., Martino, A., Neira, J. y Besuschio, C. (2013). Cambio climático y salud humana. *Revista de la Asociación Médica Argentina*, 126(1).

Gonzales G., Zevallos, A., Gonzales, C., Nunez, D., Gastanaga, C., Cabezas, C. y Steenland, K. (2014). Contaminación ambiental, variabilidad climática y cambio climático: una revisión del impacto en la salud de la población peruana. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 31(3).

Global Health – Division of Parasitic Diseases, 2017.

Guerrero Gámez, C. E., Alvarado Gómez, O. G., Gutiérrez Mauleón, H., González Garza, R., Álvarez Ojeda, M. G., & Luna Rodríguez, M. (2013).

Detección por RT-PCR punto final y tiempo real de tres especies de viroides en cítricos de Nuevo León y Tamaulipas, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 31(1), 20-28.

Guhl F, Restrepo M, Angulo VM, Antunes CM, Campbell-Lendrum D, Davies CR. Lessons from a national survey of Chagas disease transmission risk in Colombia. *Trends Parasitol* 2005; 21:259-62.

Guhl, F. (2009). Enfermedad de Chagas: Realidad y perspectivas. *Revista Biomédica*, 20(3), 228-234.

Jaramillo Jaramillo, L. I., Ruiz Mejía, C., Martínez Sánchez, L. M., & Vera Henao, S. (2017). Enfermedad de Chagas: una mirada alternativa al tratamiento. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 69 (2), 1-13.

Justi, S., Noireau, F., Monteiro, F., 2010, Infestation of peridomestic *Attalea phalerata* palms by *Rhodnius stali*, a vector of *Trypanosoma cruzi* in the Alto Beni, Bolivia, Tropical. *Medicine International Health*, 15 (6), 727-732.

Kirchhoff, L. V. (2011). Epidemiology of American trypanosomiasis (Chagas disease). In *Advances in parasitology*. Academic Press. (Vol. 75, pp. 1-18).

Lozano, J. (2016). La actuación femenina en la adaptación al cambio climático en el espacio urbano. Un estudio de caso en la Amazonia peruana. Encrucijadas. *Revista Crítica de Ciencias Sociales*, 11(1), 1-26.

Luquetti AO, Rassi A. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. In Brener Z, Andrade ZA, Barral Neto M, *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2nd edition, Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2000: 344-78.

María Fernanda Huerta Argiano (2017, Julio 1). General format. Recuperado de <https://www.slideshare.net/mariafernandahuertaanguiano/enfermedades-emergentes-y-reemergentes-77430039>.

Martins, A., Gomes, A., Mendonca, E., Lopes, J., Santana, L., Almeida, M., Siqueira, R. (2012). Biología del *Trypanosoma cruzi*: Actualización. *Asociación colombiana de infectología*, 16(1), 45-58.

Martínez, A., Herranz, M., Guibert, J. y Ezpeleta, C. (2013). Enfermedad de Chagas neonatal de transmisión vertical en países no endémicos. El uso de la PCR en el diagnóstico: ventajas sobre técnicas convencionales. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 36 (1), 115-118.

Moreno, G., Alicia, A., Maya, C., & Fernanda, M. (2015). El fenómeno del niño y la seroprevalencia de enfermedad de chagas.

Moretti E, Basso B, Castro I, Carrizo Paez M, Chaul M, Barbieri G, Canal Feijoo D, Sartori MJ, Carrizo Paez R. (2005). Chagas' disease: study of congenital transmission in cases of acute maternal infection. *Revista da Sociedade e Brasileira de Medicina Tropical*; 38 (1): 53-55.

Neves AI, Gomes FS, Freitas AM, Almeida RN, Valente VC, Valente AS. Estudo Experimental da Viabilidade do *Trypanosoma Cruzi* no Açai e Infecção em Camundongos. In 59th Annual Meeting of Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência (SBPC) 2007.

Organización Mundial de la Salud. (OMS, 2003). Cambio climático y salud humana: riesgos y respuestas: Resumen.

Orozco, Luis Carlos. El diagnóstico serológico de la infección por *T. cruzi*. Memorias del Curso – Taller Internacional de Control y Manejo de la Tripanosomiasis Americana. Bogotá - Colombia, 2002.

Palmezano Díaz, J. M., Plazas Rey, L. K., Rivera Castillo, K. E., Rojas, R., & Pahola, V. (2015). Chagas disease: reality of a frequent pathology in Santander, Colombia. *Medicas UIS*, 28 (1), 81-90.

Patz JA, Kovats RS. Hotspots in climate change and human health. *BMJ* 2002; 325:1094-8.

Parker ER, Aisha S. Chagas Disease: Coming to a Place Near You. *Dermatol Clin* 2011; 29: 53-62.

Pinto Dias JC. (2012). Tendencias sociales de la enfermedad de Chagas para las próximas décadas. *Salud Colectiva*; 8: 39-48.

Pinto CM, Ocaña M, S, Lascano MS, Grijalva MJ. (2006). Infection by trypanosomes in marsupials and rodents associated with human dwellings in Ecuador. *J Parasitol*; 92: 1251-1255.

Pinto, D. JC, Prata A, Correia D. (2009). Problems and perspectives for Chagas disease control: in search of a realistic analysis. *Revista da Sociedade e Brasileira de Medicina Tropical*; 41(2):193-196.

Rassi AJr, Rassi A, Marin-Neto JA. (2010). Chagas diseases. *Lancet*; 375: 1388–1402.

Rassi, A., Marcondes, J., Luquetti, A. & Rassi, A. (2010). Clinical Phases and Forms of Chagas Disease. En J. Telleria, & M. Tibayreng, American Trypanosomiasis: Chagas disease one hundred years of research. USA: Elsevier; 709-741.

Reyes, J. F., & Herbas, M. A. (2012). *La Amazonía Boliviana y los objetivos de desarrollo del milenio*. ARA, Articulación Regional Amazónica.

Rodríguez Sánchez, I. P., & Barrera Saldaña, H. A. (2004). La reacción en cadena de la polimerasa a dos décadas de su invención. *Ciencia UANL*, 7(3).

Romero, R. (2007). Microbiología y parasitología humana. México: *Médica Panamericana*.

Roque AL, Xavier SC, Rocha MG, Duarte AC, D'Andrea PS, Jansen AM. (2008). *Trypanosoma cruzi* transmission cycle among wild and domestic mammals in three areas of orally transmitted Chagas disease outbreaks. *Am J Trop Med Hyg*; 79:742-749

Salazar S. PM., Bucio T. MI., Cabrera B. M., de Alba-Alvarado MC, Castillo S. DR., Zenteno G. EA., Rojo M. J., Fernández S. NA., Perera S. MG., (2016). Enfermedad de Chagas en México. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*; 59 (3):6-16.

Salazar, J. J., Gallego, L. M., Suárez, B. L., Luz, H., Hernández T. M., & Naranjo, M. M. (2014). Estudio seroepidemiológico de la enfermedad de Chagas en la comunidad Copey-El Guayabillo, Estado Carabobo, Venezuela. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 66(1), 34-47.

Saumell, C. R., Soriano A. A., Díaz, L. S., & Brustenga, J. G. (2015). Documento de consenso sobre el abordaje de la enfermedad de Chagas en atención primaria de salud de áreas no endémicas. *Atención Primaria*, 47(5), 308-317.

Souza- Lima R, Vale M, Rodriguez J, Lima AR, da Silva A, Bemfica JM et al (2013). Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region, Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop*; 46: 510-514.

Shikanai-Yasuda MA, Barbosa-Carvalho N. (2012). Oral transmission of Chagas disease. *Clin Infect Dis*; 54: 845-852.

Soto, H., Tibaduiza, T., Montilla, M., Triana, O., Suárez, D. C., Torres, M. T., & Lugo, L. (2014). Investigación de vectores y reservorios en brote de Chagas agudo por posible transmisión oral en Aguachica, Cesar, Colombia. *Cadernos de saúde pública*, 30, 746-756.

Tatiana Silvia Rios Quisbert (2015). *Trypanosoma cruzi* a partir de pacientes procedentes del primer brote oral y la asociación de la seroconversión post tratamiento reportado en el Municipio de Guayaramerín – Beni el año 2010 (Tesis de Grado). Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.

Toso, A., Vial, F., & Galanti, N. (2011). Transmisión de la enfermedad de Chagas por vía oral. *Revista médica de Chile*, 139(2), 258-266.

WHO. Chagas diseases (American Trypanosomiasis); Fact Sheet No 340; World Health Organization: Geneva, Switzerland, updated March, 2013.

World Health Organization. Chagas disease (American trypanosomiasis) fact sheet (revised in June 2010). *Weekly Epidemiological Record*, 85(34), 334-336.

ANEXOS

ANEXO N°1:

Certificado de Aval Ético

	COMITÉ NACIONAL DE BIOÉTICA Comisión de ética de la investigación
---	---

AVAL ETICO

A quien corresponda:

La Comisión de Ética de la Investigación del Comité Nacional de Bioética (CEI-CNB), tiene a bien informar que fue presentado a la CEI-CNB, para su revisión y aval ético el proyecto **EVALUACION DEL PROYECTO: BUSQUEDA DE NUEVAS ZONAS ENDEMICAS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA AMAZONIA BOLIVIANA COMO EFECTO DEL CAMBIO CLIMATICO** por el Laboratorio de Genética Molecular del Instituto SELADIS de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor San Andrés, La Paz, Bolivia y cuyo responsable es la **Dra. Susana Revollo Zepita**.

El Comité de Ética de la Investigación ha revisado la propuesta y realizo observaciones sugirió ciertas modificaciones y aclaraciones, las cuales quedaron subsanadas por la investigador principal y cuya constancia consta en los archivo de la Comisión.

Por tanto se tiene a bien certificar que el proyecto **EVALUACION DEL PROYECTO: BUSQUEDA DE NUEVAS ZONAS ENDEMICAS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA AMAZONIA BOLIVIANA COMO EFECTO DEL CAMBIO CLIMATICO** cumple con todos los requisitos éticos, por lo que los miembros de la CEI-CNB le otorgan el respectivo **AVAL ÉTICO** para la prosecución en su ejecución.

Atentamente



Dra. INGRID GABY MELGAREJO POMAR
COORDINADOR



COMITE NACIONAL DE BIOETICA
COMISION DE ETICA DE LA INVESTIGACION

La Paz, junio 24 - 2016

c.c. Arch.

ANEXO N°2:

Consentimiento Informado

PROYECTO: "BUSQUEDA DE NUEVAS ZONAS ENDEMICAS DE LA
ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA AMAZONIA BOLIVIANA COMO EFECTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO"

INSTITUTO SELADIS-UMSA CONSENTIMIENTO INFORMADO

En fecha..... en la localidad de.....

Yo.....

con carnet de identidad..... en pleno uso de mis facultades, libre y voluntariamente manifiesto que he sido debidamente informado y en consecuencia autorizo a que sea utilizada mi muestra para un efecto de investigación, teniendo en cuenta que:

- He comprendido la naturaleza y el propósito del procedimiento.
- He tenido la oportunidad de aclarar mis dudas.
- Estoy satisfecho(a) de la información proporcionado.
- Reconozco que todos los datos proporcionados referencias de mi historial médico son ciertos y que no omitido ningún tipo de información.

Por tanto, declaro estar debidamente informado y doy mi expreso consentimiento a la manipulación de mi muestra.

FIRMA

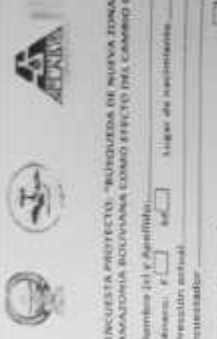
DIAGNÓSTICO DE CHAGAS

COORDINADORA

DRA. SUSANA REVOLLO

ANEXO N°3:

Encuesta para la realización del Proyecto



ENCUESTA PROYECTO: "BÚSCUDA DE BUENAS PRÁCTICAS ENFERMERAS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA AMAZONIA BOLIVIANA COMO EFECTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO"

Nombre (s) y Apellido: _____ Edad: _____
 Género: Masculino Femenino Otro _____
 Dirección actual: _____
 Encuestador: _____ Fecha: _____

¿Conoce al insecto? Si No
 ¿Cómo se llama? _____
 ¿Ha visto alguna vez este insecto en su casa y alrededores? Si No
 ¿Algún vez fue picado por el insecto? Si No
 ¿Conoce la enfermedad que produce la picadura de este insecto? Si No
 ¿Construye huto de pasturas? ¿SI construye cómo lo prepara? _____

¿Conoce la enfermedad de Chagas? Si No
 ¿Cómo se transmite? Si No
 Por el vector Si NO SABE
 De madre a hijo Si NO SABE
 Otro Si No NO SABE

Otros: _____

¿Tiene familiares con la enfermedad de Chagas? Si NO NO SABE
 ¿Presenta problemas del corazón (cardiopatías)? Si NO NO SABE
 ¿Problemas intestinales, estreñimiento? Si NO NO SABE
 ¿Qué tipo de trabajo realiza?

Ganadero e) Maderero
 Agricultor f) Otros: _____
 Estudiante

Labores de casa o ama de casa
 Pared de la casa: Ladrillo Cemento Adobe Madera Otro: _____
 ¿Usa impenetrador? Si No
 Pared Exterior revocada: Total Parcial Sin Revocoque
 Pared Interior revocada: Total Parcial Sin Revocoque
 Techo: Hojas de palmeras Tejas Concreto Madera Otros: _____
 Tiene luz en casa: Si No
 ¿Tiene luz a fuera de casa y funciona? _____
 Pared domicilio cerrado: Si No

¿Ella ha efectuado el cambio climático? Si No
 ¿Cómo le ha afectado en su trabajo? _____
 En su hogar? _____
 En la población? _____
 ¿Cómo se podría enfrentar a los efectos del cambio climático? _____
 ¿Conoce de nuevos enfermedades que han aparecido por efectos del cambio climático? Si No

¿Conoce cuál es la demanda o el pedido de la población para enfrentar a los efectos negativos climáticos? Si No

¿Ella ha efectuado el cambio climático? Si No
 ¿Cómo le ha afectado en su trabajo? _____
 En su hogar? _____
 En la población? _____
 ¿Cómo se podría enfrentar a los efectos del cambio climático? _____
 ¿Conoce de nuevas enfermedades que han aparecido por efectos del cambio climático? Si No

¿Conoce cuál es la demanda o el pedido de la población para enfrentar a los efectos negativos climáticos? Si No

Anexo N° 4:

Tríptico de información repartido a la población en estudio

¿El Chagas se puede evitar?

Medidas de Prevención

Uso de mosquiteras: Las mosquiteras y repelentes de insectos son útiles para evitar las picaduras de triatomines.

Mejora de vivienda: Es importante mejorar las condiciones de la vivienda para evitar la infestación de triatomines.

Debe ordenar y limpiar su casa hogar

Debe buscar rastros de los triatomines en su casa

Si aparecen triatomines o rastros de ellas en su casa, debe hacer la denuncia para que se realice el rociado de su casa con insecticida. Es **GRATUITO!!**

EVITEMOS LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

¿Qué es el Chagas?

La enfermedad de Chagas, es una parasitosis incurable y a veces mortal, producida por un parásito llamado *Trypanosoma cruzi* que es transmitido por el insecto triatomino. Afecta principalmente al corazón y al sistema digestivo.

PROYECTO: "BÚSQUEDA DE NUEVAS ZONAS ENDÉMICAS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA AMAZONIA BOLIVIANA COMO EFECTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO" COSUDE - PIA ACC

¿COMO SE CONTRAE LA ENFERMEDAD?

Transmisión vectorial
La forma más común y frecuente de contraer la infección es a través de la picadura del triatomino infectado.

Transmisión congénita
La vía de transmisión congénita, es el paso del parásito de la madre infectada al feto a través de sangre materna, placenta, líquido amniótico o durante el parto; es una variedad de Chagas agudo sin puerta de entrada aparente que fue adquirido "in útero" a través de una madre en fase aguda o en fase crónica de la enfermedad de Chagas.

Transmisión sanguínea
La transfusión de sangre es la principal vía de transmisión en áreas urbanas, donde no es habitual encontrar el vector. Aproximadamente un 20% de las personas que reciben una transfusión de un donante infectado adquieren la infección.

Transmisión oral
También es posible contraer la enfermedad al ingerir comida o bebida contaminada por el parásito (jugos de majo, asai, caña de azúcar, guayaba).

La enfermedad NO se transmite mediante el contacto casual de persona a persona y tampoco por relaciones sexuales.

Anexo N° 5:

Mapa de las poblaciones en estudio



Fuente: INE 2001

FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N° 1:



Dialogo de saberes mediante la transferencia de conocimientos

FOTOGRAFÍA N° 2:



Trinidad

FOTOGRAFÍA N° 3:



San Joaquín

FOTOGRAFÍA N° 4:



San Borja

FOTOGRAFÍA N° 5:



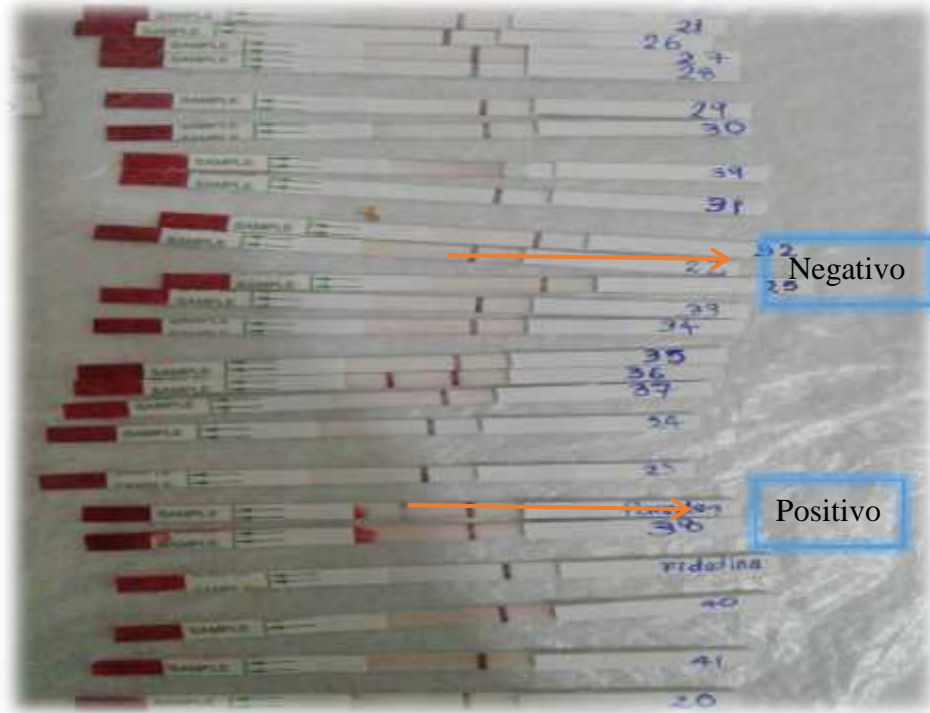
Toma de muestra de Sangre para el Diagnóstico de Chagas

FOTOGRAFÍA N° 6:



Procesamiento de las muestras de sangre

FOTOGRAFÍA N° 7:



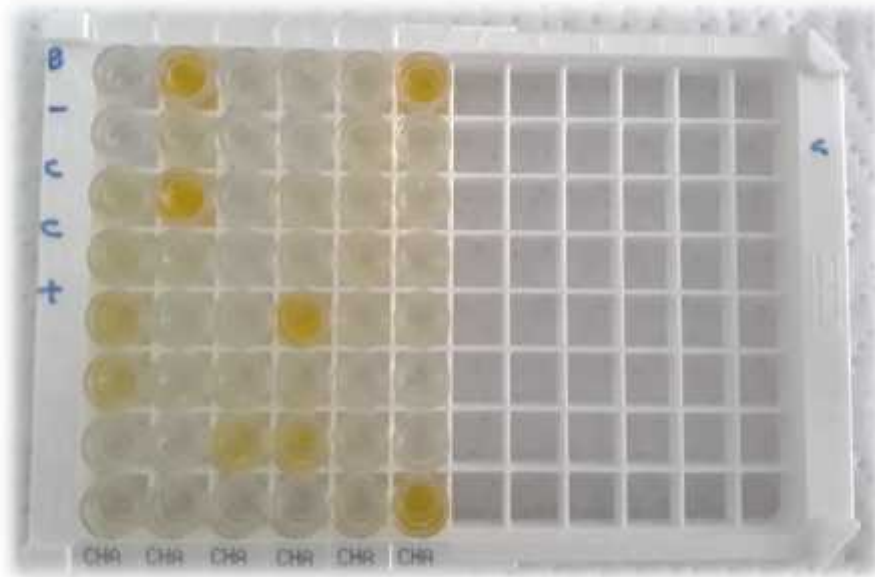
Tiras de Chagas test rápido con muestras de pacientes de Trinidad, San Joaquín y San Borja.

FOTOGRAFÍA N° 8:



Kit de ELISA NOVATEC para la determinación de IgG anti- T. cruzi

FOTOGRAFÍA N° 9:



Placa ELISA con las muestras de los pacientes con sus respectivos controles.

FOTOGRAFÍA N° 10:



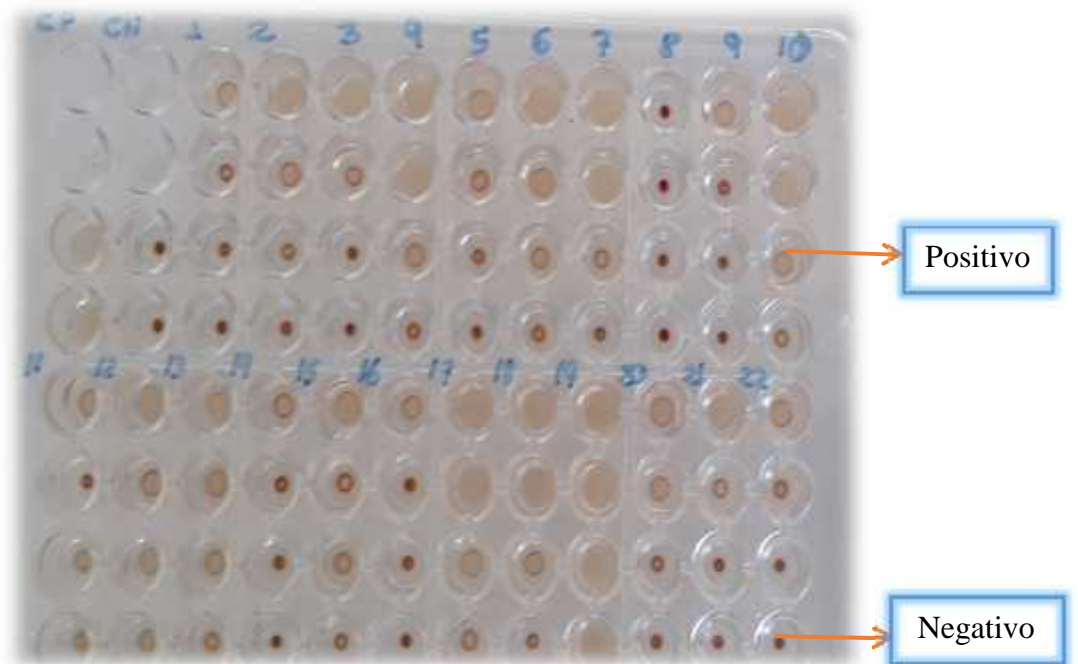
Lectura de la placa de ELISA con los resultados en el espectrofotómetro a 450 nm

FOTOGRAFÍA N° 11:



Kit de HAI CHAGAS POLYCHACO para la determinación de IgG anti- T. cruzi

FOTOGRAFÍA N° 12:



Placa HAI con resultados de muestras de los pacientes con sus respectivos controles.

FOTOGRAFÍA N° 13:



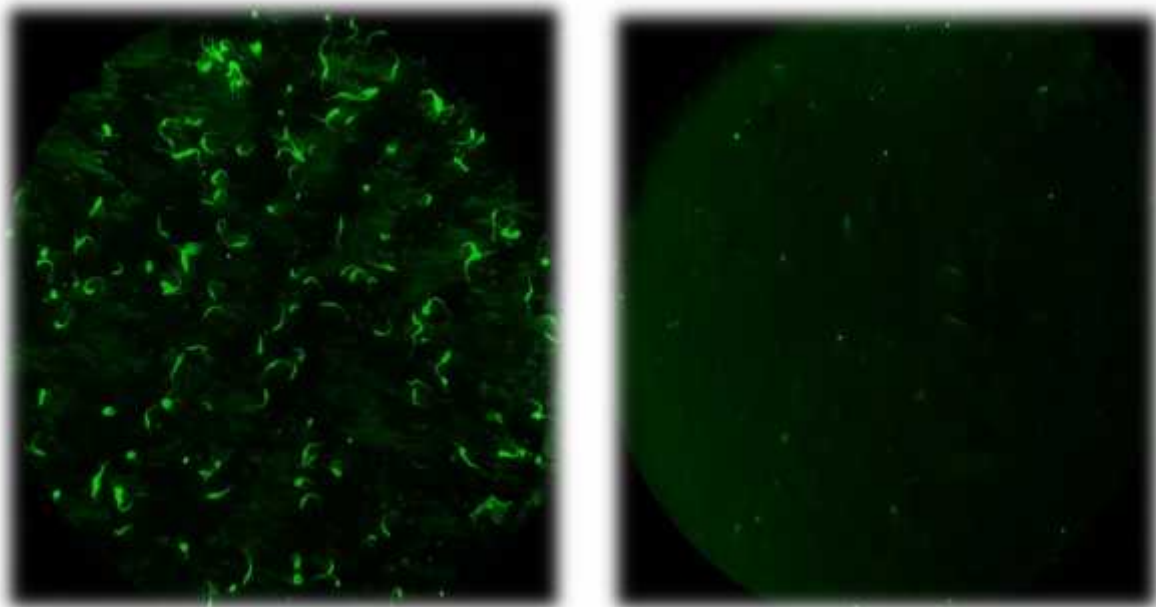
*IFI aplicada a suero de pacientes utilizando antígenos epimastigotes de *T. cruzi**

FOTOGRAFÍA N° 14:



Observando las placas de IFI de los pacientes en microscopio de fluorescencia a 1000X

FOTOGRAFÍA N° 15:



a) IFI positivo

b) IFI negativo

FOTOGRAFÍA N° 16:



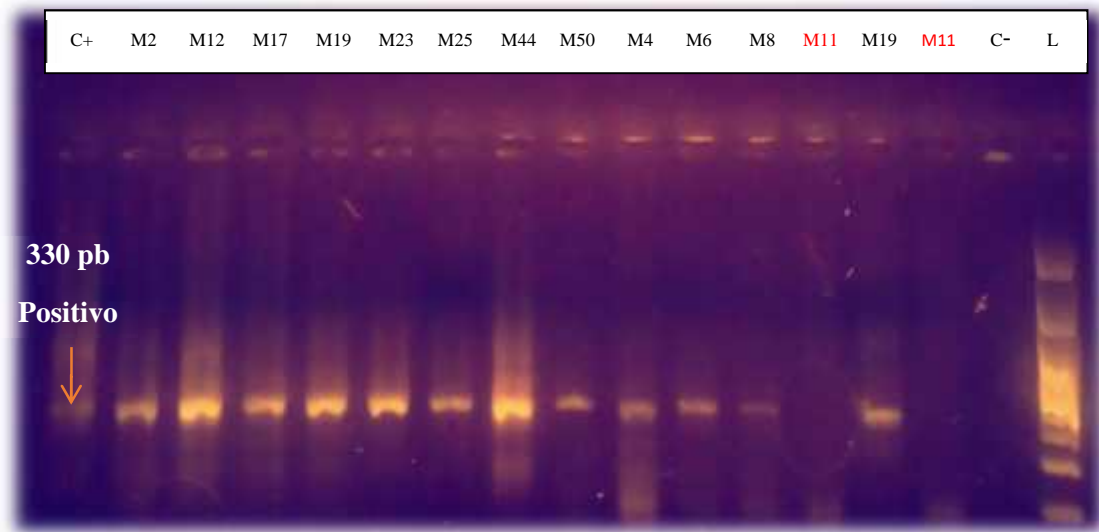
*Amplificación en el Termociclador Verity de Applied Biosystems, 35 Ciclos: 30'' a 94°C
Desnaturalización, 30'' a 58°C de Hibridación y 30'' a 72°C de Polimerización.*

FOTOGRAFÍA N° 17:



Electroforesis para visualizar los fragmentos de DNA obtenidos de la amplificación.

FOTOGRAFÍA N° 18:



Gel de agarosa representativo de la amplificación por PCR de la región variable del kADN del T. cruzi en muestras de sangre de pacientes de la Amazonía Boliviana Trinidad: M2, M12, M17, M19, M23, M25, M44, M50. San Borja: M4, M6, M8. San Joaquín: M19 C+: control positivo, C-: control negativo, L: marcador de peso molecular