



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

“INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN GRUPOS FAMILIARES
Y PERROS DE VIVIENDAS POSITIVAS AL VECTOR
Triatoma infestans: CALERA DE TANGO Y TIL TIL,
REGIÓN METROPOLITANA”

JOSÉ LUIS URIBE CORDERO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina
Preventiva Animal

Financiado por el Instituto de Salud
Pública de Chile y la Secretaría Regional
Ministerial de Salud Región Metropolitana

PROFESOR GUÍA: FERNANDO FREDES M.

SANTIAGO, CHILE
2008

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

“INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN GRUPOS FAMILIARES
Y PERROS DE VIVIENDAS POSITIVAS AL VECTOR
Triatoma infestans: CALERA DE TANGO Y TIL TIL,
REGIÓN METROPOLITANA”

JOSÉ LUIS URIBE CORDERO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina
Preventiva Animal

Nota final: _____

		Nota	Firma
PROFESOR GUÍA	:	FERNANDO FREDES M.	-----
PROFESOR CONSEJERO	:	PEDRO CATTAN A.	-----
PROFESOR CONSEJERO	:	CLAUDIO ZUÑIGA M.	-----

SANTIAGO, CHILE
2008

ÍNDICE

	Página
Resumen	I
Summary	II
Lista de Figuras, tablas y cuadros	III
Introducción	1
Revisión Bibliográfica	2
1.- Generalidades	2
2.- Manifestaciones clínicas	3
3.- Aspectos epidemiológicos	3
4.- Métodos de diagnóstico de la infección	4
5.- Situación nacional	5
6.- Situación local	6
Objetivo General	8
Objetivos Específicos	8
Material y Métodos	9
Resultados	18
Discusión	25
Conclusiones	29
Bibliografía	30
Anexos	35

RESUMEN

La enfermedad de Chagas existe desde tiempos remotos en el continente americano y constituye un problema de salud pública en países latinoamericanos. En los últimos años, la emigración masiva de personas de América Latina a otras partes del mundo ha hecho que la enfermedad se convierta en un problema mundial.

El protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, corresponde al agente etiológico de esta zoonosis, que desde el punto de vista médico veterinario, afecta a animales de hábitos intra y peridomiciliarios, los cuales son un factor de mantenimiento en la transmisión vectorial.

En Chile, el área de endemia de la enfermedad se extiende desde el paralelo 18° LS por el norte, hasta el paralelo 34,5° LS por el sur.

La Secretaría Regional Ministerial (SEREMI) de Salud de la Región Metropolitana aplica el Programa de Control del *Triatoma infestans*, vector intradomiciliario del parásito de mayor importancia epidemiológica en Chile; gracias a este programa se detectó en viviendas de comunas rurales de Calera de Tango y Til Til, la presencia reiterada de ejemplares adultos de este insecto. Por ello, esta investigación planteó como objetivo principal pesquisar infección chagásica en los integrantes de estos grupos familiares y sus perros mascota.

De un total de 269 personas examinadas, (159 de la comuna de Calera de Tango y 110 de Til Til), fueron confirmados cuatro casos provenientes de Til Til serológicamente positivos a *T. cruzi* que correspondieron a personas adultas del género masculino, cuyas edades fluctuaron entre los 33 y los 73 años. Además, fue detectada infección por *T. cruzi* en dos perros provenientes de esta misma comuna. Sin embargo, no existió relación de positividad a *T. cruzi* entre integrantes de estos grupos familiares y los perros positivos detectados.

SUMMARY

The Chagas's disease exists since a long time in The American continent and it is also a public health problem in Latin American countries. For the past years, massive people emigration from Latin America to other countries of the world have turned this disease into a world problem.

The flagellated protozoo *Trypanasoma cruzi* corresponds to the etiologic agent for this zoonosis, that from the veterinarian medical view point, it affects to animals of intra and peridomiciliaric habits, which are a maintenance factor in the vectorial transmission.

In Chile, the endemic area of the disease is from parallel 18° LS from North, until parallel 34,5°LS to South.

The Ministerial Regional Secretary (SEREMI) of Health from the Region Metropolitana applies the Control Program of *Triatoma Infestans*, intradomiciliary vector for the parasite of most epidemiologic importance in Chile; thanks to this program it has been detected the reiterative presence of this bug in his adult phase in rural counties of "Calera de Tango" and "Til Til". That is why, this investigation as put it's primary objective to detect chagasic infection in the members in these counties familiar groups and their dogs. From a total of two hundred and sixty nine examined persons, (one hundred and fifty nine from Calera de Tango, and one hundred and ten from Til Til), four cases from Til Til were serologically positive confirmed and *T. Cruzi*, they correspond to adult men which ages fluctuated between 33 and 73 years old. Besides, it was detected infection for *T. Cruzi* in two dogs from the same county. None the less, there was not a positive relation to *T. cruzi*, between integrants of this familiars groups and positive detected dogs.

LISTA DE FIGURAS, TABLAS Y CUADROS

Figuras	Página
Fig. n° 1: Ciclo de vida del <i>Trypanosoma cruzi</i> .	4
Fig. n° 2: Toma de muestra de sangre con papel filtro tipo Whatman N° 1.	11
Fig. n° 3: Pocillos controles de la Técnica RHAI: positivo y negativo.	17
Fig. n° 4: Distribución de las personas en estudio, según género.	20
Fig. n° 5: Resultados de la técnica confirmatoria Western Blot para los casos sospechosos mediante ELISA a infección por <i>T. cruzi</i> .	21
Fig. n° 6: Distribución de resultados para infección por <i>T. cruzi</i> .	22
Fig. n° 7: Placa de fondo U para la técnica Hemoaglutinación indirecta.	23
Tablas	Página
Tabla n° 1: Resultados de encuesta epidemiológica aplicada a 4 casos índices de la comuna de Til Til. 2006.	24
Cuadros	Página
Cuadro n° 1: Número de casos agudos y tasa de incidencia para enfermedad de Chagas periodo 2005-2007.	6
Cuadro n° 2: Distribución de las personas examinadas por grupos de edad, género y positividad a <i>T. cruzi</i> mediante ELISA, en las comunas de Calera de Tango y Til Til, 2006.	18
Cuadro n° 3: Número de personas examinadas por localidades y casos positivos a <i>T. cruzi</i> mediante ELISA, en la comuna de Calera de Tango, 2006.	19
Cuadro n° 4: Número de personas examinadas por localidad y casos positivos a <i>T. cruzi</i> mediante ELISA, en la comuna de Til Til, 2006.	19
Cuadro n° 5: Resumen de resultados de técnicas inmunológicas para infección a <i>T. cruzi</i> .	22
Cuadro n° 6: Número de perros examinados según comuna de procedencia y resultados de la técnica de hemoaglutinación indirecta para la detección de <i>T. cruzi</i> . 2006.	23

INTRODUCCIÓN

El protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, corresponde al agente etiológico de una parasitosis transmitida al ser humano, al igual que a otros mamíferos, por insectos hematófagos conocidos popularmente en Chile como “vinchucas” (Atías, 1999). La infección parasitaria se denomina enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana y constituye un complejo problema de salud pública en la mayoría de los países latinoamericanos, siendo endémica desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina y Chile (Apt y Reyes, 1990). En los últimos años, la migración masiva de personas de América Latina a otras partes del mundo ha hecho que la enfermedad se convierta en un problema mundial a través de los bancos de sangre que no realizan las pruebas necesarias para detectar a los donantes infectados. Se calcula que la enfermedad a nivel mundial afecta aproximadamente a unos nueve millones de personas, en su mayoría niños (OMS, 2007).

En Chile, el área de endemia de la enfermedad se extiende desde el paralelo 18° LS por el norte, hasta el paralelo 34,5° LS por el sur (Acuña, 2002).

Desde el punto de vista médico veterinario y de la salud pública, la enfermedad afecta a animales de hábitos intra y peridomiciliarios, los cuales son el principal factor de mantenimiento de la transmisión vectorial (Botero y Restrepo, 1998).

En nuestro país, se estima que existen alrededor de 150.000 individuos con enfermedad de Chagas en fase indeterminada o crónica (Salazar *et al.*, 2006). Por ello, desde 1982 se desarrolla un trabajo coordinado y sistemático entre varias entidades públicas, a fin de conseguir un adecuado control de esta afección (Parra, 2005). Actualmente, la Secretaría Regional Ministerial (SEREMI) de Salud aplica el Programa de Control del *Triatoma infestans*, vector intradomiciliario del parásito de mayor importancia epidemiológica en Chile; gracias a este programa se detectó en viviendas de comunas rurales de la Región Metropolitana: Calera de Tango y Til Til, la presencia reiterada de ejemplares adultos de *T. infestans* (Bacigalupo *et al.*, 2006).

Dentro de este marco, el presente estudio tuvo por objeto pesquisar serológicamente la presencia del parásito *T. cruzi*, en los habitantes de estas viviendas y sus perros, considerando que estas mascotas pueden actuar como reservorio, generando un riesgo para las familias de contraer la enfermedad.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Generalidades

La enfermedad de Chagas existe desde tiempos remotos en el continente americano, como lo confirman hallazgos de momias prehispánicas de los siglos XIV y XV DC, presentando estadios crónicos de la enfermedad (Forniciari, 1992). Se supone, que el parásito circuló primero entre mamíferos y vectores silvestres para luego adaptarse al ciclo doméstico de transmisión, favorecido por el desarrollo de los asentamientos de las tribus precolombinas (Acuña, 2002).

El *T. cruzi* es un protozoo que utiliza dos hospederos para completar su ciclo de vida; un vector biológico, hematófago e invertebrado, perteneciente a la subfamilia Triatominae, y otro que puede ser cualquier mamífero (Botero y Restrepo, 1998). El principal vector del parásito en Chile, involucrado en el ciclo domiciliario, es el insecto *T. infestans*. En tanto que en las zonas rurales del norte del país y de la región metropolitana, *Mepraia spinolai* es el responsable de la mantención de un ciclo primordialmente silvestre de infección. Además, en la zona desértica costera del país, se ha descrito *M. gajardoi* también de hábitos silvestres, cuya importancia epidemiológica en la enfermedad es desconocida (Canals *et al.*, 2000).

La enfermedad es una zoonosis capaz de perpetuarse en focos enzoóticos y puede persistir manteniendo ciclos peridomiciliarios o selváticos, sin que exista infección en el ser humano. La cercanía de los animales a las viviendas favorece la infección intradomiciliaria (Schmunis, 1994). Estudios efectuados en Argentina han demostrado la importancia del perro como reservorio intradomiciliario en la trasmisión del parásito. Se considera que excluir de las habitaciones a los animales domésticos, principalmente perros, puede reducir de manera importante la transmisión a los humanos (Reyes *et al.*, 2002). En nuestro país, estudios destinados a pesquisar infección por *T. cruzi* han detectado las siguientes especies animales positivas a dicha infección: Perro *Canis familiaris*, Gato *Felis catus domesticus*, Conejo *Oryctolagus cuniculus domesticus*, Caballo *Equus caballus*, Bovino *Bos taurus*, Oveja *Ovis aries*, Cabra *Capra hircus*, Llama *Lama glama* y Alpaca *Lama pacos* (Alcaíno y Gorman, 1999).

2. Manifestaciones clínicas

En el hombre la gran mayoría de los infectados por *T. cruzi* son asintomáticos, estimándose que alrededor del 20 al 25% de ellos llega a presentar manifestaciones de la enfermedad (Apt y Reyes, 1990). La lesión primaria ya sea por el sitio de la picadura (chagoma de inoculación), o por la conjuntiva ocular (signo de Romana), se manifiesta a veces como la puerta de entrada del parásito. La etapa invasiva o aguda de la infección se caracteriza por una reacción inflamatoria alrededor de las células parasitadas en los diversos tejidos. En la etapa crónica de la enfermedad la cardiomegalia y otras megaformaciones como megaesófago y megacolon son frecuentes (Atías, 1999).

Desde el punto de vista médico veterinario, cabe considerar que, la tripanosomiasis causa en perros enfermedad cardíaca, demostrada por disturbios en la conducción y arritmias ventriculares y supraventriculares, así como signos secundarios propios a esta condición tales como ascitis, efusión torácica y cianosis (Barr *et al.*, 1989).

3. Aspectos epidemiológicos

El mecanismo de transmisión de la enfermedad de Chagas puede ser:

A) Vectorial: a través de las heces de triatominos que contengan formas infectantes del parásito, que al depositarse en la piel o mucosas de un mamífero pueden penetrar e iniciar la infección (Figura nº 1).

B) No vectorial: vía en la cual no es necesaria la presencia del vector. Puede ocurrir a través de transfusión sanguínea, vía transplacentaria, trasplante de órganos, ingestión o accidentes de laboratorio.

La transmisión no vectorial explica por qué existen casos de infección chagásica en personas que no residen en áreas endémicas, o no han sido picadas por triatominos; sin embargo, han recibido transfusión sanguínea o sus madres provienen de zonas endémicas (Manual INS-Perú, 2001).

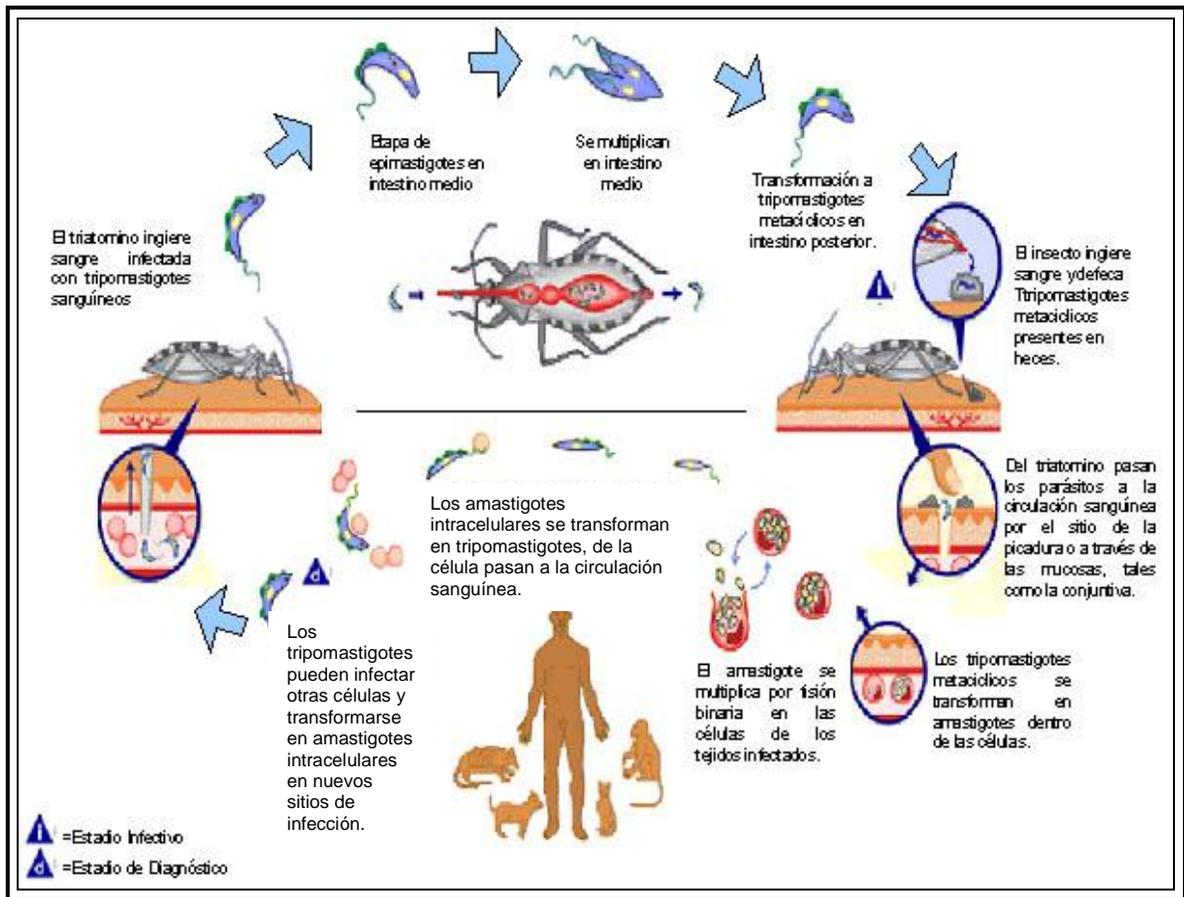


Fig. nº 1: Ciclo de vida del *Trypanosoma cruzi*.
Fuente: “Centers for Disease Control and Preventions”, 2007.

4. Métodos de diagnóstico de la infección

Para realizar el diagnóstico de laboratorio, existen distintos procedimientos técnicos. Los directos o parasitológicos se basan en la demostración del parásito en sangre circulante, entre estos destacan: gota gruesa en frotis, concentración de Strout, hemocultivo, xenodiagnóstico, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y excepcionalmente biopsias. En tanto, los procedimientos indirectos o inmunológicos, detectan la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*; los principales son: inmunofluorescencia indirecta (IFI), técnicas inmunoenzimáticas: ELISA, western blot (Wb) y reacción de hemoaglutinación indirecta (RHAI) (Manual ISP-Chile, 2005).

Las pruebas serológicas han cobrado mayor importancia en Bancos de Sangre para el tamizaje de donantes y así prevenir la transmisión no vectorial de *T. cruzi* (Manual ISP-Chile, 2005).

5. Situación nacional

El panorama epidemiológico de la enfermedad de Chagas se conoce a través de diversos estudios, en los cuales se ha demostrado un descenso de la prevalencia de la infección e interrupción de la transmisión vectorial que Chile alcanzó en 1999, en base al control realizado sobre *T. infestans* (MINSAL, 2007).

El área chagásica se ubica en la zona más poblada del país. Las viviendas positivas se encuentran principalmente en áreas rurales, determinando que la población expuesta sea alrededor de 500.000 habitantes (Parra, 2005).

En la actualidad la zona endémica se encuentra en fase de vigilancia epidemiológica, estableciéndose una **vigilancia activa** por parte de los distintos departamentos de salud y municipales de programas sobre el ambiente, y una **vigilancia pasiva** basada en la información que se recibe de la comunidad, la cual ha sido sensibilizada a través de actividades de educación permanente (Parra, 2005).

Según el Decreto N° 158 del Reglamento sobre Notificación de Enfermedades Transmisibles de Declaración Obligatoria, se vigilarán todos los casos de la enfermedad Chagas. Esta información es necesaria para conocer la magnitud, cortar la transmisión, realizar un tratamiento adecuado a los infectados y estudiar la existencia de casos en la familia del caso índice. Si bien debe notificarse tanto los casos crónicos como agudos, son éstos últimos los que dan cuenta de la efectiva interrupción de la transmisión vectorial de la enfermedad. Por ello, se informaran los casos de Chagas agudo notificados incluidos los connótales (Cuadro n° 1), datos que también serán enviados periódicamente a los países de MERCOSUR (MINSAL, 2007).

Cuadro n° 1: Número de casos agudos y tasa de incidencia (por cien mil habitantes), para enfermedad de Chagas en Chile, periodo 2005-2007.						
Enfermedades zoonóticas y transmitidas por vectores	2005		2006		2007 *	
	Casos	Tasa	Casos	Tasa	Casos	Tasa
Enfermedad de Chagas **	40	0,2	27	0,2	4	-

(*) Año 2007, Datos acumulados hasta la semana numero 21.

(* *) Incluye sólo casos de Chagas Agudo notificados (incluidos los connatales).

Fuente: Base de Datos, Departamento de Estadística e Información en Salud MINSAL.

6. Situación local

Durante los años 2001 y 2002, en las comunas de Calera de Tango y Til Til se desarrolló una investigación en grupos familiares de aquellas viviendas con denuncia positiva a *T. infestans*. Dichos hogares ingresaron al programa de control del *T. infestans* del antiguo Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente (SESMA). Se confirmó mediante PCR: 8 personas positivas a *T. cruzi* de un total de 140 personas. Además se analizaron 89 muestras sanguíneas de animales de compañía, informando como positivos: 1 perro y 3 gatos mediante ELISA (Leyton, 2003).

En sectores suburbanos de las comunas de Calera de Tango y Til-Til, de la Región Metropolitana, se realizó un muestreo para capturar triatomíneos silvestres entre noviembre de 2003 y marzo de 2004. Se capturó un total de 269 ejemplares, de los cuales 44 fueron de la especie *T. infestans*. Se calculó un índice trypano-triatomino sobre los resultados de PCR aplicada a los insectos capturados, el que demostró que 41% de *T. infestans*, eran positivos a *T. cruzi*. Dada la ubicación de los focos, se estimó que hay mayor riesgo de contacto entre los triatomíneos infectados y los habitantes de Til-Til, ya que allí las viviendas tienden a ser más precarias. En Calera de Tango, en tanto, la calidad de la infraestructura habitacional es mejor; sin embargo, existe la tendencia a ubicar las viviendas cada vez más cerca de los cerros que mantienen su vegetación y fauna autóctonas, y por lo tanto, se acercan hacia los focos silvestres de *T. infestans*. Aquí el riesgo mayor se debe a la llegada de ejemplares adultos a las casas, por medio del vuelo, y a la realización de excursiones (Acuña, 2002;

Segura, 2005; Bacigalupo *et al.*, 2006). Cabe destacar, de esta investigación, que el hallazgo de *T. infestans* fuera de los ambientes domiciliario y peridomiciliario, constituye el primer reporte de esta situación en Chile, lo que hace necesario un replanteamiento de los planes de control de este vector (Bacigalupo *et al.*, 2006).

El objetivo de esta memoria apuntó a contribuir al conocimiento de la situación en que se encontraban las comunidades asentadas en las cercanías de estos lugares, así como también, aportar información al programa de vigilancia epidemiológica que lleva a cabo la autoridad sanitaria.

OBJETIVO GENERAL

Pesquisar la infección por *T. cruzi* mediante técnicas serológicas en personas y perros que habitan viviendas que fueron positivas al vector *T. infestans*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar pesquisa serológica para infección chagásica, en integrantes de grupos familiares habitantes de casas positivas al vector *T. infestans*.
2. Confirmar la infección chagásica de las personas positivas.
3. Detectar infección por *T. cruzi*, en los perros de las familias en estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se realizó en grupos familiares de las comunas de Calera de Tango (40 familias) y Til-Til (20 familias) que correspondieron a unidades domiciliarias que, entre los años 2003 al 2005, participaron en el “Programa de Control de Zoonosis y Vectores” del SEREMI de Salud de la Región Metropolitana, positivas al vector *T. infestans*.

A. MATERIAL

1. Grupos en estudio:

El material de trabajo estuvo constituido por muestras de sangre de 269 personas de ambos sexos, de un año o más de edad y sueros sanguíneos de 67 animales de compañía (perros).

2. Materiales y reactivos empleados en inmunodiagnósticos: ver Anexo n° 1.

B. METODOLOGÍA

1. Consentimiento informado

Las muestras se obtuvieron previa firma de una carta de consentimiento informado de las personas que participaron en el estudio o de sus representantes en el caso de los niños. Este documento fue elaborado en el Instituto de Salud Pública de Chile (Anexo n° 2).

2. Toma de muestras

Fue organizada por el SEREMI de Salud Región Metropolitana en conjunto con personal del Laboratorio de Referencia de Parasitología, Instituto de Salud Pública de Chile. Se dividió en tres etapas:

- Primera etapa: información hacia las familias involucradas en el estudio. Mediante visitas en sus domicilios, se hizo entrega de material impreso y se abordaron aspectos diagnósticos y de control de la enfermedad de Chagas (Anexo n° 3).

- Segunda etapa: toma de muestras de los integrantes de la familia. Niños mayores a un año de edad.
- Tercera etapa: involucró la toma de muestras de los animales de compañía, perros.

Las muestras de sangre de personas se obtuvieron por punción del pulpejo del dedo utilizando lancetas estériles desechables. La sangre fue absorbida, en tiras individuales y rotuladas de papel filtro tipo Whatman N° 1 de 10 cm. de largo por 2 cm. de ancho, para su elusión, Figura n° 2. Posteriormente aquellas personas positivas a la prueba tamizaje, se les tomo una segunda muestra de sangre venosa, con jeringa desechable de 5 ml y aguja calibre 21 G, para el desarrollo de las pruebas confirmatorias.



Fig. n° 2: Toma de muestra de sangre con papel filtro tipo Whatman N° 1.

Las muestras de sangre de los animales fueron obtenidas mediante punción venosa (cefálica o safena), utilizando jeringas desechables de 5 ml y agujas calibre 21 G. Los sueros obtenidos por centrifugación fueron extraídos en alícuotas con pipetas desechables Pasteur y dispuestos en tubos Ependorff, identificados y mantenidos a - 20 °C, hasta su posterior utilización.

3. Análisis y procesamiento de las muestras

El análisis de las muestras se realizó según el protocolo diagnóstico establecido para la enfermedad de Chagas por Laboratorio de Referencia Nacional de Parasitología, Instituto de Salud Pública de Chile.

4. Pruebas de tamizaje y confirmación

Las muestras de sangre de personas fueron sometidas a un tamizaje o “screening” para detectar la presencia de anticuerpos específicos contra el parásito mediante la prueba inmunoenzimática “Enzyme Linked Immuno Adsorbent Assay” ELISA (Contreras *et al.*,1992); luego, utilizando una segunda muestra de suero sanguíneo de los casos sospechosos, se confirmó el diagnóstico utilizando las técnicas Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta (RIFI) y Western blot (Wb). Las muestras de suero canino se analizaron solo mediante Reacción de Hemoaglutinación Indirecta (RHAI).

4.1 Técnica ELISA

Su objetivo fue detectar anticuerpos circulantes contra los antígenos de *T. cruzi*. Su campo de aplicación y alcance son el diagnóstico serológico de muestras de pacientes o donantes de sangre. Permitió la detección de anticuerpos humanos de tipo IgG contra antígenos de *T. cruzi*. Con tal objetivo se utilizó, tiras de microplacas sensibilizadas mediante un lisado de epimastigotes de *T. cruzi* cepa Tulahuen, como antígenos del protozoo. Durante el primer paso de incubación, si los anticuerpos contra los antígenos de *T. cruzi* estaban presentes en la muestra, se unieron con los antígenos fijados en la microplaca. Después de haber eliminado mediante lavados los componentes séricos no reactivos, en el segundo paso de incubación los anticuerpos unidos reaccionaron con un anticuerpo anti IgG humano, conjugado con Fosfatasa Alcalina, formando así un complejo que se reveló por la incubación del sustrato P- Nitro Fenil Fosfato (pNPP). La intensidad de color desarrollado es proporcional a la concentración de anticuerpos contra los antígenos presentes en la muestra. La lectura se realizó mediante el uso de un lector de microplacas calibrado a 405 nanómetros. El reactivo de detención hidróxido de sodio frenó la reacción enzimática y conservó el color desarrollado.

Desarrollo de la técnica:

Se sacaron las tiras necesarias a utilizar y las muestras de refrigeración, dejando que alcanzaran temperatura ambiente (18 a 25 °C). Se cortó la muestra de papel filtro con sangre e introdujo en tubos Khan, agregando 600 µl de solución PBS- Tween Leche dejando en elusión por 24 horas. Se diluyeron los controles 1:100 en Buffer Leche (10 µl de controles + 990 µl Solución tamponada de Leche Tween 0,1% pH 7,2) depositando 100 µl de cada muestra eluída por pocillo en la placa. Se incubó en estufa a 37 °C durante 30 minutos para luego eliminar el contenido invirtiendo la placa. Posteriormente se lavó tres veces con 300 µl de solución de lavado cada vez. Se agregó 100 µl por pocillo de solución de trabajo conjugado 1:1.000, que contenía anti-Ig G humana marcada con fosfatasa alcalina. Incubose la placa durante 45 minutos en estufa a 37° C. Luego se lavaron cuatro veces con 300 µl de solución de lavado cada vez y agregó 100 µl de solución de sustrato (pNPP) por pocillo. Nuevamente se incubó 30 minutos en cámara oscura a temperatura ambiente (18 a 25° C). Se observó la coloración transcurridos 10 a 30 minutos y detuvo la reacción enzimática con 25 µl de NaOH 3N. Por último se dispuso la placa en lector de ELISA calibrada con filtro óptico de 405 nanómetros, para obtener la absorbancia de cada pocillo con muestra y controles.

Interpretación de lecturas:

El Valor de Corte (VC) para ELISA se determinó mediante la suma de los valores de los controles negativo 1 y 2 más el factor 0,098.

$$VC = CN \text{ n}^{\circ} 1 + CN \text{ n}^{\circ} 2 + 0.098$$

- Positivo:** Toda muestra cuya lectura fue mayor a v.c. más 10% del v.c.
Negativo: Toda muestra cuya lectura fue menor a v.c. menos 10% del v.c.
Indeterminado: Toda muestra con lectura dentro de v.c. +/- 10% del v.c.

4.2 Técnica RIFI

Su objetivo fue detectar anticuerpos circulantes contra los antígenos del *T. cruzi*. Su campo de aplicación y alcance son la confirmación de muestras de pacientes o donantes de sangre con técnicas serológicas de tamizaje positivas (Astorga, 1988).

La detección de anticuerpos circulantes contra *T. cruzi* se determinó por la unión de ellos al parásito completo que se encuentra fijado sobre la superficie de un portaobjeto. El complejo antígeno-anticuerpo se detecto mediante la adición de una anti IgG humana marcada con isotiocianato de fluoresceína. La lectura se realizó utilizando un microscopio de luz ultravioleta.

Desarrollo de la técnica:

Se utilizaron los sueros controles positivos y negativos como también las muestras a temperatura ambiente (22 a 28 °C). Se centrifugó las muestras por 5 minutos 190 x g. Luego, evitando mover el sedimento se trabajo con el sobrenadante. Se diluyeron las muestras y controles en PBS 1/20 (por ejemplo: 10 µl de muestra se agrego 190 µl de PBS). Se depositaron 25 µl de muestra diluida a cada pocillo de las láminas para IFI, sensibilizadas con antígeno e incubó a 37 °C durante 30 minutos en cámara húmeda. Luego lavando 2 veces con solución PBS pH 7,2 en vasos Koplín, durante 5 minutos cada vez en constante agitación se dejo secar las láminas a temperatura ambiente, colocándolas verticalmente sobre un papel filtro por unos 5 a 10 minutos y agrego 25 µl de solución de trabajo del conjugado por pocillo, el que contenía globulina anti- IgG humana marcada con fluoresceína. Se incubo a 37 °C por 30 minutos, en cámara húmeda y lavó 2 veces con PBS pH 7,2 en vasos Koplín durante 5 minutos cada vez en agitación constante. Se agregaron unas gotas de glicerina tamponada a pH 9,5 a cada pocillo cubriendo cada lámina con un cubre objeto. Inmediatamente terminado el ensayo se efectuó la lectura en microscopio de epifluorescencia con aumento 400 X.

El control de fluorescencia inespecífica estuvo dado por:

Pocillo N° 1 Lámina Control: en este pocillo se observó los parásitos de color rojo. Este permitió observar fluorescencia inespecífica del buffer PBS, debido a cualquier aspecto excluido de la muestra.

Pocillo N° 2 Control Negativo: en este pocillo se observó los parásitos de color rojo. Permitted determinar toda la fluorescencia inespecífica que genera la adición de un suero que no contenía anticuerpos contra *T. cruzi*.

Pocillo N° 3, 4 y 5 Controles Positivos: que correspondieron a sueros con anticuerpos contra *T. cruzi*. Los parásitos presentaban fluorescencia hasta el título del suero control, previamente conocido. Esto permitió observar un patrón de fluorescencia con una tasa de anticuerpos muy baja.

Interpretación lectura de resultados:

Negativo: La presencia de parásitos de color rojo, indicó una reacción negativa; es decir, la ausencia de anticuerpos anti *T. cruzi*.

Positivo: La presencia de parásitos teñidos de color fluorescente verde manzana, que fue particularmente intensa en la membrana y en el flagelo, indicó una reacción positiva; es decir la presencia de anticuerpos anti *T. cruzi*.

4.3 Técnica Wb

La técnica Western blot (Wb) para la detección de anticuerpos contra antígenos de *T. cruzi* utilizó un extracto soluble de antígeno a partir de epimastigotes de la cepa Tulahuén con el objeto de detectar inmunoglobulinas isotipos IgA, IgG, IgM mediante un conjugado polivalente desarrollado en cabra, por medio del cual, se pueden evidenciar alrededor de 19 bandas antigénicas específicas (Flores, 2002). Las bandas de valor diagnóstico corresponden a las de 45 y 44, kDa con una sensibilidad y especificidad de 100% cada una y la banda de 32 kDa con una sensibilidad de 100% y especificidad de 91,9%. El uso de la técnica ELISA en conjunto con Wb, mejora la eficiencia del diagnóstico serológico de la infección por *T. cruzi* en Chile (Flores, 2002).

Desarrollo del enzimoanálisis para Wb:

Posterior a las fases de electroforesis y electrotransferencia, se obtuvieron tiras verticales de 2 mm de ancho desde una membrana de nitrocelulosa. En canales individuales se agregó 1 ml de solución de bloqueo (PBS pH 7,2, leche descremada 4%, Tween 20 0,5%), incubando a temperatura ambiente por una hora en agitación constante. Las muestras de suero fueron diluidas 1/100 en PBS pH 7,2 -Leche -Tween 20, adicionando 1 ml a cada tira. Estas se incubaron a 37° C por una hora en agitación. Posteriormente, se lavó 4 veces con PBS pH 7,2- Tween 20 0,5% durante 5 minutos cada lavado. Se agregó 1 ml de conjugado anti-inmunoglobulina humana polivalente, ligada a fosfatasa alcalina, diluido 1/6.000 en PBS pH 7,2, leche descremada 4%, Tween 20 0,5%. Las tiras se incubaron por una hora a temperatura ambiente en constante agitación, y luego se lavó cuatro veces durante 5 minutos cada lavado con PBS pH 7,2 Tween 20 0,5%. Después se agregó la solución de sustrato BCIP/NBT y pasados 10 minutos se agregó la solución de detención (agua destilada). Finalmente, se realizaron 3 lavados de 5 minutos cada uno con PBS pH 7,2 -Tween 20 3%, y luego se secaron a temperatura ambiente.

Definición del patrón de bandas de diagnóstico:

Se estableció como positiva por WB una muestra que reaccionara exclusivamente con las bandas de 44 y 45 kDa. También se estableció como positiva una muestra con la presencia de la banda de 32 kDa, junto con una o más de las bandas específicas para *T. cruzi*.

4.4 Técnica RHAI

La reacción de Hemoaglutinación Indirecta se basa en una reacción antígeno-anticuerpo que emplea glóbulos rojos de carnero, previamente tratados con ácido tánico, como soporte de extractos solubles del parásito (lisado de epimastigotes como antígeno), (Contreras, 1984). Se realizó mediante diluciones de los sueros problema, controles positivo y negativo utilizando policubetas de poliestireno de 96 pocillos.

Desarrollo de la técnica:

Se obtuvieron 100 ml de sangre de carnero mediante punción yugular en un matraz con igual volumen de solución Alsever estéril. Luego se lavaron los glóbulos rojos 3 veces con suero fisiológico, centrifugando a 1.500 x g por 5 minutos y se preparó una suspensión de glóbulos rojos al 2,8 % en buffer fosfato pH 7,2. Posteriormente se efectuó la adsorción de anticuerpos heterófilos: a 0,1 ml de suspensión de glóbulos rojos, se adicionó 0,5 ml de los sueros problemas luego se incubaron por 30 min. a 37°C (baño termoregulado) para posteriormente mantener por 2 horas a 4°C las muestras. A continuación se centrifugó 10 min. 800 x g para separar el suero absorbido de los glóbulos rojos. Para la tanización de los glóbulos rojos: se mezcló 5 ml de suspensión de glóbulos rojos con 5 ml de ácido tánico diluido 1/40.000 e incubó por 10 min. a 37°C se centrifugó durante 7 min. a 800 x g y descarto el sobrenadante resuspendiendo el sedimento en 5 ml de solución salina. En la sensibilización al tubo n° 1: se agregó 5 ml de suspensión de antígeno, adicionando 5 ml de suspensión de glóbulos rojos tanados. Al tubo n° 2 (Control): Se agregó 5 ml de Buffer pH 6.4 y adicionó 5 ml de suspensión de glóbulos rojos tanados. Incubando los tubos durante 20 min. a 37° C luego se centrifugó por 7 min. 800 x g y eliminó el sobrenadante, lavando el sedimento con 10 ml de solución diluyente (suero negativo a enfermedad de Chagas al 1% en PBS pH 7,2). Finalmente se centrifugó por 7 min. 800 x g. descartando el sobrenadante y resuspendiendo el sedimento en 5 ml de solución diluyente.

Luego, se rotuló una placa de microtitulación con fondo U para realizar las diluciones de los sueros evaluados al doble, incluyendo los sueros controles positivo y negativo. Se inició en la dilución 1/4 hasta 1/512. Colocando en los pozos de la fila A 75 µl de la

solución diluyente y 50 µl en los pozos de las filas B, C, D, E, F, G y H. Se agregó a cada pozo de la fila A, 25 µl del suero evaluado y se homogenizó aspirando y expeliendo varias veces con la pipeta multicanal. Luego, se realizaron diluciones sucesivas al doble. Con la pipeta multicanal se tomó 50 µl desde la dilución 1/4 de cada suero a evaluar y vertió en los pozos de la fila siguiente, se homogenizó y repitió de la misma forma con las siguientes filas. Posteriormente se agregó 50 µl de la suspensión antigénica en cada pocillo. Se agitó con suaves golpes en los bordes de la placa, posteriormente se dejó en reposo y realizó una primera lectura después de 1 hora. La segunda lectura se efectuó transcurridas 24 hrs. La falta de reactividad se manifestó por la sedimentación del antígeno en forma de botón. La reactividad de los sueros positivos, se manifestó por la formación de una malla de bordes irregulares que cubrió entre el 50 y 100% del fondo del pocillo (Figura n° 3). Se consideró positiva aquella muestra que aglutino a partir de la dilución 1/4 informándose con el título anterior a la última dilución positiva como Reactiva, cuando se detectó la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* y como No Reactiva en ausencia de anticuerpos contra *T. cruzi*.

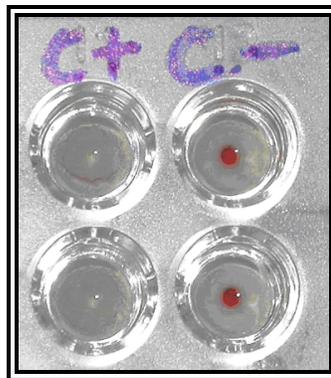


Fig. n° 3: Pocillos controles de la Técnica RHAI: positivo y negativo.

5. Análisis de resultados

La investigación correspondió a un estudio de tipo descriptivo. Con el objetivo de reunir mayor información y considerar otra vía de infección no vectorial, se elaboró una encuesta que fue aplicada en aquellos casos índices detectados (Anexo n° 4).

RESULTADOS

Resultados técnica ELISA-IgG en grupos familiares

Mediante la técnica ELISA para la detección de inmunoglobulinas G anti *T. cruzi* implementada en este trabajo se estudiaron un total de 269 muestras de personas de distintas edades, (cuadro n° 2). Detectándose 7 casos (2,59%) que fueron considerados como sospechosos a infección por *T. cruzi*.

Cuadro n° 2: Distribución de las personas examinadas por grupos de edad, género y positividad a *T. cruzi* mediante ELISA, en las comunas de Calera de Tango y Til Til, 2006.

Grupos de edad	Masculino		Femenino		Masculino + Femenino	
	Número de Examinados	Positivos	Número de Examinados	Positivos	Total	Positivos
1 – 9	27	0/27	27	0/27	54	0/54
10 – 19	19	0/19	21	0/21	40	0/40
20 – 29	11	0/11	21	0/21	32	0/32
30 – 39	19	1/19	24	0/24	43	1/43
40 – 49	22	3/22	29	0/29	51	3/51
50 – 59	12	0/12	16	0/16	28	0/28
≥ 60	10	2/10	11	1/11	21	3/21
Total	120	6/120	149	1/149	269	7/269

La procedencia de aquellos casos de personas consideradas como sospechosas, se muestran en los cuadros números 3 y 4.

Cuadro n° 3: Número de personas examinadas por localidades y casos positivos a *T. cruzi* mediante ELISA, en la comuna de Calera de Tango, 2006.

LOCALIDAD	Número de Examinados	Positivos a ELISA
Vista Hermosa	47	0
Cuesta Las Señoras	16	1
Roto Chileno	22	0
Las Curacas	17	1
El Cerrillo	6	1
Fundo Sto. Domingo	25	0
Lonquen Sur	9	0
El Sauce	17	0
Total comuna Calera de Tango	159	3

Cuadro n° 4: Número de personas examinadas por localidades y casos positivos a *T. cruzi* mediante ELISA, en la comuna de Til Til, 2006.

LOCALIDAD	Número de Examinados	Positivos a ELISA
Tapihue Norte	15	0
Jaime Labarca	11	0
El Atajo	14	2
Manuel Rodríguez	19	0
Rungue	20	1
Los Litres	11	0
Las Petacas	20	1
Total comuna Til Til	110	4

La distribución según el género de las personas que ingresaron al estudio se presenta en la Figura n° 4, donde el 55,39 % correspondió al femenino y el 44,60 % al masculino.

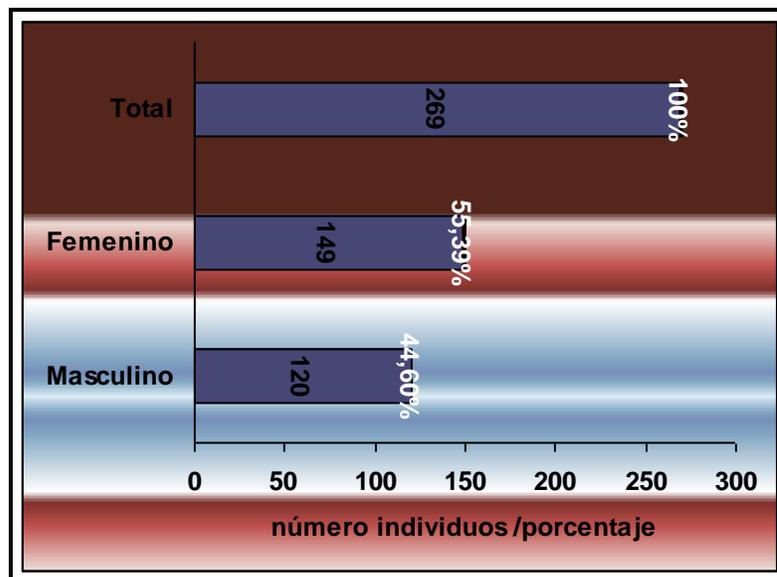


Figura n° 4: Distribución de las personas en estudio, según género.

Resultados técnica RIFI

Las muestras consideradas como casos sospechosos, mediante ELISA, fueron analizadas mediante la técnica de RIFI. A estos pacientes se les extrajo una muestra de sangre para obtener suero sanguíneo. Esta técnica fue realizada con diluciones de las muestras y de los controles positivos (desde 1 en 10 a 1 en 320). Las muestras cuyos títulos fueron iguales o superiores a 1 en 20 fueron consideradas reactivas. De siete muestras consideradas sospechosas a ELISA se obtuvo como resultado: dos muestras negativas y cuatro positivas a la técnica RIFI. Solo un caso fue inubicable para la realización de las pruebas confirmatorias.

Resultados técnica Wb.

Se utilizó la técnica de Wb, con el fin de confirmar los casos sospechosos inicialmente positivos a ELISA. Fueron identificadas dos muestras negativas en las cuales no se observó bandas y cuatro muestras positivas que identificaron claramente bandas que reaccionaron con distinta frecuencia e intensidad, cuyos pesos moleculares aproximados fluctuaron entre los 76 y 4 kDa. Los polipéptidos de 45, 44 y 32 kDa fueron reconocidos con una mayor intensidad en la reacción, mientras que los polipéptidos de PM 76, 53, 39, 38, 35, 30, 29, 25, 22, 18, 17, 15, 14, 10 y 4 kDa fueron detectados en forma variable y con diferentes intensidades, figura N° 5.

Standard P.M.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
MUESTRA	Blanco	Control Positivo	Control Negativo	H. B. A	S. J. S.	A.T.V.	C.H.D.	R.G.H.	J. H.C.
RESULTADO ELISA	/	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
RESULTADO IFI	/	/	/	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
NUMERO DE BANDAS	0	9	0	0	0	9	7	9	7
RESULTADO FINAL	o.k.	o.k.	o.k.	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

Fig. n° 5: Resultados de la técnica confirmatoria Western Blot para los casos sospechosos a infección por *T. cruzi* mediante ELISA.

En el cuadro n° 5 se presenta un resumen, de los resultados obtenidos mediante las diferentes técnicas inmunológicas, de aquellos casos sospechosos a la prueba tamizaje ELISA.

Cuadro n° 5: Resumen de resultados de técnicas inmunológicas para infección a *T. cruzi*.

COMUNA DE PROCEDENCIA	NOMBRE	GÉNERO	EDAD	ELISA / Cut off (Densidad óptica)	IFI	WESTERN BLOT	RESULTADO FINAL
CALERA DE TANGO	H. B. A.	MASCULINO	43 a	POSITIVO (0,425)	0,359	(-) 0 banda	NEGATIVO
CALERA DE TANGO	S. J. S.	FEMENINO	60 a	POSITIVO (0,407)	0,359	(-) 0 banda	NEGATIVO
CALERA DE TANGO	J. T. P.	MASCULINO	43 a	POSITIVO (0,619)	0,359	* *	*
TIL TIL	A. T. V.	MASCULINO	73 a	POSITIVO (1,426)	0,401	(+) 9 bandas	POSITIVO
TIL TIL	C. H. D.	MASCULINO	33 a	POSITIVO (0,496)	0,327	(+) 7 bandas	POSITIVO
TIL TIL	R. G. H.	MASCULINO	44 a	POSITIVO (0,803)	0,327	(+) 9 bandas	POSITIVO
TIL TIL	J. H. C.	MASCULINO	68 a	POSITIVO (0,803)	0,327	(+) 7 bandas	POSITIVO

* No hubo muestra para realizar pruebas confirmatorias.

De un total de 269 muestras de personas, 4 resultaron serológicamente positivas para *T. cruzi* y 264 personas resultaron negativas, lo que corresponde a un 1,49% y 98,51% respectivamente, la distribución se observa en el figura n° 6.

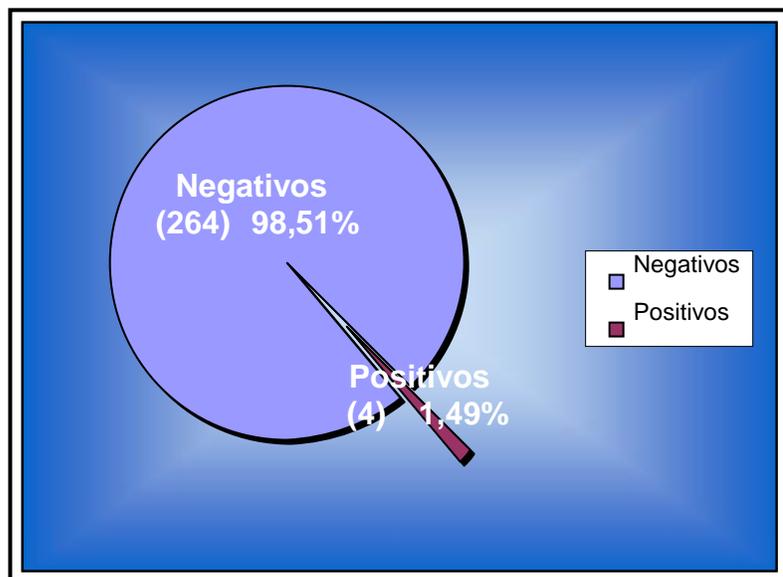


Figura n° 6: Distribución de resultados para infección por *T. cruzi*.

Resultados muestras de perros

Mediante el método Hemoaglutinación Indirecta para la enfermedad de Chagas se analizaron 67 muestras de sueros sanguíneos de perros; 40 de estos animales procedentes de la comuna de Calera de Tango y 27 de la comuna de Til Til, Cuadro n° 6. Se obtuvo como resultado 2 muestras positivas en la dilución 1/32, Figura n° 7. Las restantes 65 muestras resultaron negativas a la prueba.

Cuadro n° 6: Número de perros examinados según comuna de procedencia y resultados de la técnica de hemoaglutinación indirecta para la detección de *T. cruzi*. 2006.

Comuna	Número de perros examinados	Positivos a <i>T. cruzi</i>
Calera de Tango	40	0
Til Til	27	2
Total	67	2

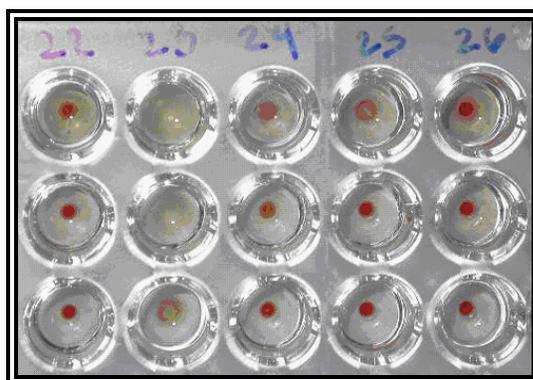


Fig. n° 7: Placa de fondo U para la técnica Hemoaglutinación Indirecta.
(Pocillos de la columna número 23 reactivos).

Respecto a los dos perros positivos a *T. cruzi* detectados mediante RHAI, pertenecían a viviendas ubicadas en la comuna de Til Til, sectores Jaime Labarca y Las Rosas Rungue, se trató de perros de raza mestiza y tamaño mediano, cuya edad y procedencia eran ignoradas por los propietarios de estas mascotas. Los individuos que integraban los grupos familiares de estos dos casos eran de cuatro y cinco personas quienes resultaron serológicamente negativos a infección por *T. cruzi*

Resultados encuesta epidemiológica

Este instrumento se aplicó solo a aquellos cuatro casos índices confirmados positivos a *T. cruzi* de la comuna de Til Til. La información obtenida se muestra en la Tabla n° 1.

Tabla N° 1: Resultados de encuesta aplicada a 4 casos índices de la comuna de Til Til, 2006.

Pregunta / Respuesta	Si	No	No sabe	Observaciones	Total encuestados
1.- ¿Conoce usted la enfermedad de Chagas?	1	3	0		4
2.- ¿Ha recibido transfusión de sangre?	1	3	0		4
3.- ¿Conoce usted a las vinchucas?	4	0	0		4
4.- ¿Ha sido picado por vinchucas?	1	0	3		4
5.- ¿Algún pariente cercano curso?				Grado de parentesco	4
a) Enfermedad de Chagas:	0	0	4		
b) Enfermedad cardíaca (marcapasos, arritmias):	1	0	0	Madre.	
c) Enfermedad digestiva (megavísceras):	1	0	0	Hermano.	
6.- ¿Ha vivido en alguna de las siguientes regiones?					4
I Región (Arica, Iquique)	0	0	-		
II Región (Antofagasta, <u>Calama</u>)	1	0	-		
III Región (<u>Copiapo</u> , Caldera)	1	0	-		
IV Región (La Serena, Ovalle)	0	0	-		
V Región (Valparaíso, Los Andes)	0	0	-		
VI Región (Rangua, San Fernando)	0	0	-		
Región Metropolitana (<u>Til Til</u> - Calera de Tango)	2	0	-		
7.- ¿En que tipo de vivienda residió allí?					4
Adobe	2	0	-		
Madera	2	0	-		
Ladrillo-Cemento	0	0	-		
Piedra	0	0	-		
8.- ¿Cuanto tiempo permaneció en ese lugar?					4
Menos de 1 año	0	0	-		
Más de 1 año	4	0	-		
9.- ¿De que tipo de construcción es su actual vivienda?					4
Adobe	0	0	-		
Madera	2	0	-		
Ladrillo-Cemento	2	0	-		
Piedra	0	0	-		

DISCUSIÓN

Esta memoria se planteó como objetivo principal el pesquisar la infección chagásica en grupos familiares y sus perros mascotas. La importancia de estos últimos como reservorio intradomiciliario del parásito, ha sido descrita en diversas publicaciones (Reyes *et al.*, 2002; Gürtler *et al.*, 1998).

La primera etapa del trabajo consistió en la entrega de información y sensibilización de las personas involucradas en la pesquisa. Al respecto, varios países latinoamericanos han implementado actividades de control y vigilancia de vectores triatomíneos con participación de la comunidad, planteando que la educación en salud es una herramienta óptima para el control de la infección por *T. cruzi*. (Salazar *et al.*, 2006).

En el tamizaje efectuado a través del método ELISA en total a 269 personas, fueron detectados dos casos falsos positivos. Estudios sobre el diagnóstico de la enfermedad de Chagas citan que frecuentemente son usados como antígenos extractos completos o fracciones semipurificadas de epimastigotes de *T. cruzi*, en concordancia a lo efectuado en esta investigación, y que, al ser mezclas antigénicas complejas, pueden generar falsos positivos, debido a reacciones cruzadas producto de enfermedades como: VIH/SIDA, tuberculosis, toxoplasmosis, leishmaniasis, y/o enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide o lupus eritematoso (Teixeira *et al.*, 1994; Vielma *et al.*, 2005). El rendimiento de la técnica ELISA, también puede verse afectado principalmente por la calidad de sus reactivos y la estandarización del procedimiento (Flores, 2002). Al respecto, de los casos falsos positivos detectados en este trabajo, una de estas personas de sexo femenino y de 60 años de edad, se encontraba afectada por el síndrome de Gilbert, enfermedad de carácter autoinmune, debido a esto no se descartó una posible reacción cruzada producto de esta enfermedad.

Por otra parte, diversas investigaciones han evaluado la utilidad de la técnica WB para la confirmación de resultados a la infección por *T. cruzi* obtenidos en las pruebas serológicas convencionales (Reiche *et al.*, 1998; Teixeira *et al.*, 1994; Flores, 2002), este método en conjunto con ELISA y RIFI corresponden a los implementados actualmente como rutina diagnóstica confirmatoria en el Laboratorio de Referencia Nacional de Parasitología del ISP.

Los grupos familiares de Calera de Tango que participaron en este estudio, en su mayoría habitan viviendas modernas de características sólidas. Allí las denuncias se generaron principalmente por la llegada de ejemplares adultos de *T. infestans* desde los cerros hasta las casas (Bacigalupo *et al.*, 2006). Probablemente, la calidad de las viviendas dificulta la colonización de triatominos. Actualmente, se continúa urbanizando el área, con la venta de terrenos, casas condominio y parcelas de agrado. La migración de personas desde los centros urbanos hacia esta zona, ha sido un factor importante durante los últimos años (Segura *com pers* 2005). Estas familias en general poseen un adecuado nivel educacional, además existe mayor grado de conocimiento de la afección y su vector y un manejo apropiado de información de control de este. Cabe destacar que en Chile, en contraste con la situación observada en esta comuna, comúnmente se ha asociado la afección con personas originarias de zonas rurales que migran a áreas urbanas con el fin de mejorar sus condiciones socio económicas (Salazar *et al.*, 2006).

En contraste, en la comuna de Til Til, algunas de las viviendas se encontraban ubicadas en zonas periurbanas, en campamentos que durante inicios del presente año fueron erradicados y trasladados a viviendas básicas, y cuyas condiciones precarias de construcción con materiales ligeros, asociadas a instalaciones para crianza y cuidado de animales domésticos como; gallineros, pesebreras o establos (Bacigalupo *et al.*, 2006), facilitaban la colonización de triatominos. Sus moradores residieron en aquellos lugares durante años, por lo que existió gran probabilidad de contacto con vinchucas. Algunos de los grupos familiares de Til Til estaban relacionados a condiciones sociales menos favorables, como un menor nivel educacional y carencia de gratificaciones profesionales. Por último los casos confirmados en este estudio correspondieron solo a habitantes de esta comuna, los que coinciden con el patrón socio cultural descrito en áreas endémicas chagásicas del país. Los cuatro casos provenientes de Til Til fueron confirmados serológicamente positivos a *T. cruzi*, de un total de 110 personas examinadas de esa localidad. En comparación a un estudio anterior (Leyton, 2003) quien detectó seis casos positivos a la infección por *T. cruzi*, de un total de 94 personas examinadas en esa comuna. A nivel nacional los indicadores oficiales de morbilidad se han mantenido estables en los últimos años, y representan la infección adquirida décadas atrás (MINSAL 2006).

En este estudio, los resultados obtenidos en el grupo etario de 1 a 9 años, en el cual no se detectaron casos positivos, ratifica que en los últimos años se ha interrumpido la

transmisión vectorial del parásito en la zona endémica chagásica, en concordancia a estudios realizados por (Lorca *et al.*, 2006).

En nuestro país, según grupos de edad, la tasa más alta de mortalidad corresponde a los mayores de 65 años y, desde 1980, cabe destacar que no han existido muertes en menores de 15 años (MINSAL, 2007). Estudios desarrollados entre los años 1982 y 1990 mostraban frecuencias de infección de 20,6% para el grupo de edad 40 a 49 años y 23,8% para el grupo de más de 49 años (Schenone *et al.*, 2000).

En el presente trabajo los casos confirmados positivos a enfermedad de Chagas correspondieron a personas adultas del género masculino, cuyas edades fluctuaron entre los 33 y los 73 años, probablemente correspondientes a estados crónicos de la enfermedad. Coincidente a lo que sucede a nivel nacional, la tasa en las mujeres se mantiene muy por debajo de la de los hombres, correspondiendo a un tercio de éstos (MINSAL, 2007). Esta situación, aunque no tiene una explicación clara, podría deberse a la mayor exposición laboral de los hombres, que han trabajado ya sea como pirquineros, campesinos o arrieros, pasando mucho tiempo en lugares rurales o apartados.

En relación a la pesquisa del agente en los animales muestreados, solo fueron detectados dos perros positivos mediante la técnica Reacción de Hemoaglutinación Indirecta. Sin embargo, sus propietarios no resultaron positivos a la infección. En un estudio anterior Leyton (2003), describió un perro procedente de esta misma comuna infectado, el cual vivía con personas que también resultaron positivas a la infección. La eficacia de los perros como centinelas del riesgo de infección doméstica y peridoméstica por *T. cruzi*, a diferencia de los gatos, radica en que son animales susceptibles a la enfermedad y presentan una respuesta medible al agente infeccioso; habitan en general un territorio definido; son accesibles, fáciles de enumerar y capturar; y su población permite muestreos representativos. Además, se ha establecido que suelen infectarse por *T. cruzi* antes que los niños que cohabitan con ellos (Lauricella *et al.*, 2006).

En la información obtenida a partir del cuestionario, se considera como factor de riesgo de infección no vectorial, haber recibido transfusión sanguínea previa, como lo señalado por Vásquez *et al.*, (1999), en este estudio sólo uno de los cuatro casos positivos había recibido transfusión sanguínea. Actualmente, la transfusión sanguínea es la segunda causa de transmisión de infección por *T. cruzi* después de la transmisión vectorial en diversas

regiones de América (MINSAL, 2006). En Chile el tamizaje en Bancos de Sangre es obligatorio entre la I y VI Región, lo que no asegura que en el resto del país no existan donantes chagásicos dado la migración rural urbana y de norte a sur dentro del país. La prevalencia de donantes confirmados por el Laboratorio de Referencia del Instituto de Salud Pública de Chile entre los años 2000 -2005 osciló entre 0,5-1,6 %. (MINSAL 2006).

Todos los casos índices encuestados manifestaron conocer las vinchucas. Una de las personas señaló haber sido picado por vinchucas en su infancia en reiteradas oportunidades, el resto desconocía esta información. Sin embargo, sólo uno conocía la enfermedad de Chagas, esto es discordante con estudios realizados en comunidades endémicas de Brasil, en que la mayoría de la población tiene un alto grado de conocimiento de la enfermedad de Chagas y su vector, debido a la eficacia de algunos componentes educativos en los programas de control implementados (Salazar *et al.*, 2006).

Solo dos de las personas encuestadas, señalaron que familiares directos manifestaron sintomatología que pudiese ser compatible con la enfermedad de Chagas; uno declaró que su madre falleció de afección cardíaca crónica, en tanto que el otro caso señaló que un hermano padeció de megacolon. A nivel nacional el diagnóstico predominante de los casos determinados por clínica más serología, aproximadamente el 15% corresponde a cardiopatía hipertrófica u otra visceromegalia (MINSAL, 2007).

Todas las personas positivas informaron haber vivido por periodos mayores a un año en regiones del área endémica del país y en viviendas de materiales ligeros como madera y adobe. Al momento de realizado el estudio dos personas residían en viviendas de materiales sólidos como ladrillo y cemento y dos en viviendas construidas de madera. Los trabajos de investigación sobre enfermedad de Chagas que se realizan en zonas de endemia chagásica, sensibilizan pasivamente a los habitantes y generan decisiones personales, especialmente de mejoramiento de la vivienda (Salazar *et al.*, 2006).

Por último, el control de la enfermedad de Chagas esta relacionado con la epidemiología y el ciclo presente de la infección en las zonas geográficas. Las medidas principales están dirigidas a la eliminación del insecto vector a través del mejoramiento y fumigación de las viviendas (Aguilera *et al.*, 1994; Apt y Reyes, 1990; Schenone *et al.*, 2000). Debiendo existir una educación sanitaria principalmente dirigida a la población de las zonas afectadas (Apt y Reyes, 1990; Atías, 1999; Parra, 2005).

CONCLUSIONES

1. Se logró efectuar una pesquisa serológica para *T. cruzi* en 269 personas, habitantes de viviendas que fueron positivas al vector *T. infestans*, tanto de las comunas de Til Til como de Calera de Tango. Así como a 67 perros pertenecientes a estos grupos familiares.
2. Solo en la comuna de Til Til, fueron confirmados cuatro casos de personas positivas a infección chagásica.
3. Así también, solo fue detectada infección por *T. cruzi* en dos perros de la comuna de Til Til de las familias estudiadas. Sin embargo, los habitantes de estas unidades domiciliarias no presentaron infección chagásica.
4. Lo anterior indica que los habitantes de algunas localidades de la comuna de Til Til, comparado con los de Calera de Tango, tienen un mayor riesgo de infección a esta parasitosis. Sobre todo para aquellas personas cuyas viviendas son de menor calidad y donde sus perros son positivos, ya que estos animales se consideran centinelas para esta enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

ACUÑA, M. 2002. La vinchuca silvestre: ¿una amenaza latente?. Tecnovet. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile; 8(2): 14-18.

AGUILERA, X.; APT, W.; RODRIGUEZ, J.; CORREA, V.; ZULANTAY, I. 1994. Eficacia del control del vector de la enfermedad de Chagas demostrado a través de la infección humana. Revista médica de Chile. 122: 259-264.

ALCAÍNO, H.; GORMAN T. 1999. Parásitos de los animales domésticos en Chile. Parasitología al día. 23(1-2): 33-41 p.

APT, W.; REYES H. 1990. Algunos aspectos de la enfermedad de Chagas en Latinoamérica. Parasitología al día. 14: 23-40 p.

ASTORGA, B.; LORCA, M.; THIERMANN, E. 1988. Determinación del título diagnóstico de la reacción de Inmunofluorescencia indirecta para Enfermedad de Chagas en Chile. Parasitología al día. 12: 132-135 p.

ATÍAS, A. 1999. Parasitología médica. Editorial Mediterráneo. Santiago Chile. 251-253 p.

BACIGALUPO, A.; SEGURA, J. A.; GARCÍA, A.; HIDALGO, J.; GALUPPO, S.; CATTAN, P. E. 2006. Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile. Revista médica de Chile. [en línea].<http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003498872006001000003&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0034-9887. [Consulta: 30 Marzo 2007].

BARR S.; SCHMIDT S.; SIMPSON R.; BUNGE M. 1989. Chronic dilatative myocarditis caused by *Trypanosoma cruzi* in two dogs. Journal american veterinary medical association. 1989 (1): 1237- 1241 p.

BOTERO D.; RESTREPO M. 1998. Parasitosis Humanas. 3ª ed. Corporación para investigaciones biológicas. Medellín, Colombia. 216-218 p.

CANALS, M.; EHRENFELD, M.; CATTAN, P. 2000. Situación de *Mepraia spinolai*, Vector silvestre de la enfermedad de Chagas en Chile, en relación con otros vectores desde la perspectiva de sus fuentes de alimentación. Revista médica de Chile. 128 (10): 1108-1112 p.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTIONS, 2007. Chagas Disease <http://www.cdc.gov/NCIDOD/DPD/PARASITES/chagasdisease/factsht_chagas_disease.htm>. Atlanta, Estados Unidos [en línea]. [Consulta: 08 de Agosto 2007].

CONTRERAS, M. 1984. Comparación de sensibilidad de reacción de hemoaglutinación indirecta para la enfermedad de Chagas en muestras de sangre obtenidas por punción venosa y capilar (papel filtro) en pacientes con xenodiagnóstico positivo. Boletín chileno de parasitología; 39 (3-4): 60-61.

CONTRERAS, M.; SALINAS P.; SANDOVAL L.; SOLÍS F.; ROJAS A. 1992. Utilidad de la ELISA IgG en muestras de sueros y eluidos de sangre en papel filtro en el inmunodiagnóstico de la enfermedad de Chagas. Boletín chileno de parasitología; 47: 76-81.

FLORES, R. 2002. Desarrollo y evaluación de las técnicas de Western blot y Elisa para el diagnóstico serológico de la infección por *Trypanosoma cruzi* en Chile. Tesis Tecnólogo Médico. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad de Medicina. 80 p.

FORNICIARI, G.; CASTAGNA, M.; VIACAVA, P; TOGNETTI, A; BEVILAQUA, G; SEGURA, E. 1992. Chagas disease in peruvian inca mummy. In: Congreso latinoamericano de parasitología. [Libro de Resúmenes]; 128-129.

GÜRTLER, R.; CECERE, M.; RUBEL, D. 1998. Influence of humans and domestic animals on the household prevalence of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma infestans* populations in northwest Argentina. American journal of tropical medicine and hygiene. (6); 748-758 p.

LAURICELLA, M.; CECERE M.; CEBALLOS L.; VASQUEZ G. 2006. Vigilancia de la infección de *Trypanosoma cruzi* en perros y gatos en una zona rural del noroeste de Argentina. Revista Panamericana de Salud Publica. 20(5):348 p.

LEYTON, J. 2003. Infección por *Trypanosoma cruzi* en el hombre y mamíferos domésticos en áreas endémicas de la región metropolitana. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología, Facultad de Medicina Veterinaria. 58 p.

LORCA, M.; SOTO, P.; RUIZ, M. 2006. Estudio serológico para enfermedad de Chagas en menores de diez años en Valparaíso y San Antonio, Chile. Revista Médica de Chile, vol. 134 (10), 345-1346 p.

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS. 2005. Instituto de Salud Pública de Chile. Laboratorios de salud. Laboratorio de referencia nacional, sección parasitología. Ministerio de Salud Chile. 200 p.

MANUAL TÉCNICO ENFERMEDAD DE CHAGAS. 2001. Instituto Nacional de Salud del Perú. Oficina general de epidemiología OGE, Ministerio de Salud. Lima-Perú. 43p.

MINISTERIO DE SALUD DE CHILE. 2007. Departamento de epidemiología. Boletín electrónico mensual de vigilancia epidemiológica, boletín N° 54. [en línea]. <<http://epi.minsal.cl/evigant/Numero54/BEM%2054.pdf>>. Santiago, Chile. [Consulta: 10 de Agosto 2007].

MINISTERIO DE SALUD DE CHILE. 2006. Departamento de enfermedades transmisibles. Unidad de enfermedades emergentes y reemergentes. Guías clínicas de la enfermedad de Chagas. [en línea]. <http://webhosting.redsalud.gov.cl/minsal/archivos/CHAGAS.pdf>. Santiago, Chile. [Consulta: 01 de Septiembre 2007].

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 2007. The control strategy for the elimination of Chagas disease over the period 1996-2010. Centro de prensa. [en línea]. <www.who.int/ctd/chagas/index.htm>. Ginebra, Suiza. [Consulta: 14 mayo 2007].

PARRA, A. 2005. Situación del Programa de Eliminación de la infestación domiciliar de *Triatoma infestans* en Chile. In: Encuentro Regional Proyecto CDIA-EC Chagas Disease Intervention Activities. Santiago de Chile. 6, 7 y 8 Octubre. Gobierno de Chile Ministerio de Salud, Universidad de Chile, Organización Panamericana de la Salud.

REICHE, E.; CAVAZZANA, M.; OKAMURA, H.; TAGATA, E.; JANKEVICIUS, S.; 1998. Evaluation of the Western blot in the confirmatory serologic diagnosis of Chagas's disease. American journal of tropical medicine and hygiene. (59); 750-756 p.

REYES, L.; SILESKY, E.; CERDAS, C.; CHINCHILLA, M.; GUERRERO, O. 2002. Presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en perros de Costa Rica. Parasitología Latinoamericana. 57: 66-68 p.

SALAZAR, J.; OLGUIN, F.; OLIVERA, E.; 2006. Enfermedad de Chagas crónica en Chile. Experiencia de intervención educativa. Parasitología Latinoamericana. 61: 1-2, 94-97 p.

SCHENONE, H.; LORCA, M.; MELENDEZ, F.; BACHLER, L.; 2000. Comparison of *Trypanosoma cruzi* infection in less than 10 year old children from the V región, Chile. 1982-1995. Boletín chileno de parasitología. 55: 1-2, 27-30 p.

SCHMUNIS, G. 1994. La Tripanosomiasis Americana como problema de salud pública. **In:** Organización Panamericana de la Salud, publicación científica n° 547. Washington, D.C. 3-31p.

SEGURA, J. 2005. Presencia de *Triatoma infestans* en áreas silvestres de la Región Metropolitana. In: Encuentro Regional Proyecto CDIA-EC Chagas Disease Intervention Activities. Santiago de Chile. 6, 7 y 8 Octubre. Gobierno de Chile Ministerio de Salud, Universidad de Chile, Organización Panamericana de la Salud.

TEIXEIRA, M.; PERALTA J. 1994. Development and evaluation of an enzyme linked immunotransfer blot technique for serodiagnosis of Chagas`s disease. *Tropical medicine and parasitology*. 45: 308-312 p.

VASQUEZ, M.; VIDAL, S.; ESPINOZA, C. 1999. Utilidad de una encuesta para identificar donantes de sangre de zonas no endémicas, potencialmente infectados con *Trypanosoma cruzi*. *Parasitología al día*, vol.23, no.3-4, p.125-129.

VIELMA, J. 2005. Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas utilizando como antígeno la proteína recombinante de 24 kDa (Pgr24). Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación. Gobierno de Venezuela. [en línea]. <http://www.cdc.fonacit.gob.ve/cgiwin/be_alex.exe?Conicit>.[Consulta:9de Agosto 2007]

ANEXOS

ANEXO N° 1

Materiales Empleados en Inmunodiagnósticos

Técnica de enzimoimmunoanálisis (ELISA)

Microplacas de poliestireno sensibilizadas (tiras de 12 pocillos separados), agitador orbital Boeco® modelo OS-20, cronómetro, estufa Memmert® 37 °C ± 1 °C, gradillas, lavador de microplacas automático Bio-Teck Instruments®, lector de microplacas Bio-Teck Instruments® con filtro 405 nm, material volumétrico de vidrio para preparar soluciones, micropipetas automáticas, papel Alusa, parafilm, pipeta de repetición o multicanal, piseta, puntas para micropipeta de 10 µl y 200 µl, recipiente de cloro al 0,5 % para la eliminación de material contaminado, soporte para tiras de microplacas, tubos Khan y vasos precipitados.

Técnica Reacción de InmunoFluorescencia Indirecta (RIFI)

Agitador orbital Boeco® modelo OS-20, bandeja protectora (fornada en papel de aluminio) para láminas de Inmunofluorescencia, cámara húmeda con tapa, cubreobjetos de 75 x 25 mm, gradillas, microscopio de epifluorescencia con luz ultravioleta, papel filtro, parafilm, micropipetas automáticas de volumen variable, piseta, puntas para micropipetas de 10 ul y 200 ul, recipiente con cloro al 0,5% para la eliminación de material contaminado, tubos Khan, vaso de precipitado, vasos Koplín.

Técnica Inmunoelctrotransferencia, Western Blot (WB)

Bomba de vacío, placas de 12 cubetas acanaladas, pinzas plásticas, matraz Erlenmayer, pipetas volumétricas de 10 ml, propipeta, micropipetas de 1000, 200, 20 y 10 µl, puntas plásticas para micropipetas, vasos precipitados de 30 y 50 ml.

Técnica Reacción de Hemoaglutinación Indirecta (RHAI)

Centrífuga International Equipment Company® , agitador orbital Boeco® modelo OS-20, baño termoregulado Precision®, estufa Memmert® (37 °C ± 1 °C), placas de poliestireno con fondo U, matraz Erlenmayer, pipetas volumétricas, micropipetas de 1000, 200, 20 y 10 µl, micropipeta multicanal, puntas plásticas para micropipetas, balanza de precisión Scaltec®.

Reactivos empleados para inmunodiagnósticos

Técnica de Enzimoimmunoanálisis ELISA

Buffer PBS pH 7,2

- KH₂PO₄ 0,15M 28 ml
- Na₂HPO₄ 0,15M 72 ml
- NaCl 8,4 gr
- Agua destilada c.s.p. 1000 ml

Solución tamponada leche 3 %- Tween pH 7,2

- Leche descremada en polvo 3 gr
- Solución tamponada pH 7,2 csp 100 ml
- Tween 20 0,1 ml

Conjugado 1/1000:

- Conjugado anti IgG Fosfatasa alcalina 5 µl
- Buffer PBS pH 7,2 4995 µl

Sustarto p-nitrofenilfosfato (preparado 10 minutos antes de usar en frasco ámbar)

- p-nitrofenilfosfato 1 pastilla
- Buffer TRIS 1 pastilla
- H₂O destilada c.s.p. 5 ml

Solución stop NaOH 3N

- NaOH 12 gr
- H₂O destilada c.s.p. 100 ml

Solución de lavado

- NaCl 25,5 gr
- Tween 20 1,5 ml
- H₂O destilada c.s.p. 3000 ml

Técnica de InmunoFluorescencia Indirecta

Reactivos:

Láminas para inmunofluorescencia con antígeno de *T. cruzi*.

Buffer fosfato pH 7,2 (PBS)

- KH₂PO₄ 0,15 M 28 ml
- Na₂HPO₄ 0,15 M 72 ml
- NaCl 8,4 gr
- H₂O destilada c.s.p. 1000 ml

Buffer carbonato- bicarbonato 0,5 M pH 9,5

a) Bicarbonato de sodio 0,5 M

- NaHCO₃ 4,2 gr
- H₂O destilada c.s.p. 100 ml

b) Carbonato de sodio 0,5 M

- Na₂CO₃ anhidro 5,3 gr
- H₂O destilada c.s.p. 100 ml

c) Buffer carbonato- bicarbonato 0,5 M pH 9,5 (mezcla de solución a y b)

- Carbonato de sodio 10 ml
- Bicarbonato de sodio 13 ml

Solución de azul de Evans 1/1000

- Azul de Evans 100 mg
- Buffer fosfato pH 7,2 100 ml

Glicerina tamponada (Merck cat. # 4095)

- Glicerina para microscopia de inmunofluorescencia 9 partes
- Buffer pH 9,5 1 parte

Conjugado fluorescente anti-IgG humana con Isotiocianato de fluoresceína FITC (Fluoline G, Bio Merieux Cat. # 75692).

Solución de trabajo conjugado, título de trabajo 1/100:

Conjugado FITC 0,010 ml

Azul de Evans 1/1000 0,100 ml

Buffer pH 7,2 0,890 ml

Água destilada.

Técnica Western blot (Enzimoinmunoanálisis):

Reactivos:

Solución tamponada fosfato (PBS) pH 7,2

- KH_2PO_4 0,15 M 28 ml

- Na_2HPO_4 0,15 M 72 ml

- NaCl 8,4 gr

- H_2O destilada c.s.p. 1000 ml

PBS- Tween 20- 0,5% pH 7,2

 Tween 20 5 ml

 PBS pH 7,2 c.s.p. 1000 ml

PBS- Tween 20- 3% pH 7,2

 Tween 20 30 ml

 PBS pH 7,2 c.s.p. 1000 ml

PBS- Tween 20 0,5%- Leche descremada 4%

 Leche descremada 4 g

PBS- Tween 20 0,5% 100 ml

Conjugado anti-inmunoglobulina humana polivalente (cadenas α , γ y μ)- Fosfatasa alcalina SIGMA[®] (n° CAT. A- 5034) diluida en PBS- tween 20 0,5%- Leche descremada 4%.

Solución sustrato GIBCO BRL[®]

 BCPI: 5-bromo-4-Cloro-3-hidrolylphosfate p-Toluidine SALT. 33 μl

 NBT: Nitroblue Tetrazolium chloride 44 μl

 Tampón Tris-HCl 0,1 M (pH 9,5), NaCl 50 mM, MgCl_2 c.s.p. 10 ml

Solución de detención: agua destilada o tampón Tris 20 mM, 0,1 M EDTA

Técnica Reacción de Hemoaglutinación Indirecta:

Reactivos:

Buffer fosfato pH 7,2 (PBS)

- KH_2PO_4	0,15 M	28 ml
- Na_2HPO_4	0,15 M	72 ml
- NaCl		8,4 gr
- H_2O destilada c.s.p.		1000 ml

Buffer fosfato pH 6,4 (PBS)

- KH_2PO_4	0,15 M	18,4 ml
- Na_2HPO_4	0,15 M	6,7 ml
- NaCl		2,1 gr
- H_2O destilada c.s.p.		250 ml

Suero fisiológico.

Ácido tánico solución stock al 1%

ácido tánico	10 mg
Buffer fosfato pH 7,2 (PBS)	1 ml

Solución de trabajo 1 / 20000

Ácido tánico solución stock	100 μl
Buffer fosfato pH 7,2 (PBS)	20 ml

Solución diluyente

Suero negativo a Chagas al 1% en PBS pH 7,2

Solución Alsever

Glucosa anhidra	18,66 g
Cloruro de sodio	4,18 g
Citrato de sodio	8,00 g
Ácido cítrico	0,55 g
Agua destilada	1000 ml

ANEXO N° 2



CARTA DE CONSENTIMIENTO

He tenido la oportunidad de leer este formulario de consentimiento y de hacer preguntas sobre el estudio, me han respondido de manera satisfactoria. Comprendo que mi participación en el estudio es completamente voluntaria. Me han informado la naturaleza del estudio de investigación y de sus procedimientos, y me han explicado con claridad sus posibles riesgos, peligros y beneficios. Entiendo que si me niego a participar del estudio, no recibiré ninguna sanción ni perderé ningún beneficio, que de otra manera tendría en este estudio. Que cualquier información y muestra (sangre) obtenida durante el transcurso del estudio podrá ser utilizada en otras investigaciones. He leído y comprendido la información proporcionada. Acepto participar, en tanto no decida dejar de hacerlo.

NOMBRE DEL PACIENTE

FECHA

FIRMA DEL PACIENTE O DEL REPRESENTANTE

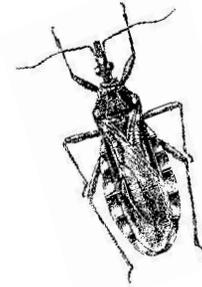
FECHA

ANEXO N° 3



¿SABÍA USTED QUE LAS ZONAS RURALES SON EL LUGAR PREFERIDO POR LAS VINCHUCAS?

En el sector donde usted vive se han encontrado vinchucas y algunas de estas positivas a *Tripanosoma cruzi*, parásito causante de la Enfermedad de Chagas.



En los próximos días la Secretaría Regional Ministerial (SEREMI) de Salud, en conjunto con el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) realizarán un estudio serológico a moradores de viviendas con presencia de vinchucas.

Este estudio permitirá:

- Detectar aquellos reservorios del parásito (animales domésticos y/o personas)
- Aplicar un tratamiento oportuno a personas positivas a la enfermedad.



Lo invitamos a cooperar con la realización de los exámenes que involucren a todo el grupo familiar y sus mascotas.

El examen es muy sencillo:

- Basta con un pinchazo en el dedo para obtener la muestra de sangre necesaria.
- No es necesario ningún tipo de preparación (ayuno) o dieta especial previa.
- Todos los exámenes serán gratuitos para los que resulten seleccionados
- Cada individuo tendrá asignado su propio set de materiales de uso exclusivo y desechable.
- Se pide el máximo de colaboración en la extracción de sangre de las mascotas.

Agradecemos su colaboración

ANEXO N° 4



ENCUESTA CASO INDICE ENFERMEDAD DE CHAGAS

NOMBRE PACIENTE: _____ FECHA: _____

FECHA DE NACIMIENTO: _____ COMUNA: _____

- 1.- Conoce Ud. la enfermedad de Chagas? **SI**____ **NO**____
- 2.- Ha recibido transfusión de sangre? **SI**____ **NO**____
- 3.- Conoce Ud. a las vinchucas? **SI**____ **NO**____
- 4.- Ha sido picado por vinchucas? **SI**____ **NO**____ **No sabe**____
- 5.- Algún pariente cercano ha tenido:
- a) Enfermedad de Chagas: **SI**____ **NO**____ **No sabe**____
- b) Enfermedades del corazón (marcapasos, arritmias): **SI**____ **NO**____ **No sabe**____
- c) Enfermedad digestiva (megacolon, megaesofago): **SI**____ **NO**____ **No sabe**____

En caso de respuestas afirmativas establecer grado de parentesco

- a) _____ c) _____
- b) _____ d) _____

6.- Ha vivido en alguna de las siguientes regiones:

- I Región (Arica, Iquique) ____ V Región (Valparaíso, Los Andes) ____
- II Región (Antofagasta, Calama) ____ VI Región (Rangua, San Fdo.) ____
- III Región (Copiapo, Caldera) ____ R. Metropolitana (Til Til - Calera de T.) ____
- IV Región (La Serena, Ovalle) ____

7.- En que tipo de casa vivió allí?

Adobe ____ Madera ____ Ladrillo-Cemento ____ Piedra ____

8.- Cuanto tiempo estuvo en ese lugar: Menos de 1 año ____ Más de 1 año ____

9.- Su actual vivienda que tipo de construcción es?

Adobe ____ Madera ____ Ladrillo-Cemento ____ Piedra ____

10.- OBSERVACIONES _____