

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE SALUD PÚBLICA**



**“TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD
DE CHAGAS CRÓNICA: EFICACIA
DE NIFURTIMOX SOBRE *Trypanosoma cruzi*
CIRCULANTE Y LA EVOLUCIÓN
ELECTROCARDIOGRÁFICA”**

MIGUEL ANGEL SAAVEDRA MESA

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN SALUD PÚBLICA

PROFESORA GUÍA DE TESIS: INÉS ZULANTAY ALFARO

PROFESOR ASESOR ESTADÍSTICO: JORGE RODRÍGUEZ TOBAR

Santiago, Abril 2016

INDICE

I. Resumen.....	3
II. Introducción.....	4
III. Marco Teórico.....	7
1. Epidemiología y distribución geográfica.....	7
2. <i>Trypanosoma cruzi</i> , ciclo de vida y mecanismos de transmisión.....	7
3. Aspectos clínicos y diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas	9
3.1. Diagnóstico serológico.....	10
3.2. Diagnóstico parasitológico directo.....	10
3.3. Diagnóstico parasitológico molecular mediante Reacción de la polimerasa en cadena.....	10
4. Tratamiento de la enfermedad de Chagas.....	11
5. PCR en Tiempo Real y su aplicación en la enfermedad de Chagas crónica.....	11
IV. Objetivos	13
V. Hipótesis.....	13
VI. Material y Métodos.....	14
1. Tipo de estudio y población.....	14
2. Manejo de las muestras.....	15
2.1. Obtención y purificación de ADN de muestra de sangre para qPCR.....	15
2.2. PCR Tiempo Real.....	15
2.2.1. Curva estándar y sistema de detección SYBR® Green.....	15
2.3. Electrocardiografía.....	17
3. Variables y su operacionalización.....	17
3.1. Definiciones.....	17
4. Análisis estadístico.....	19
VII. Resultados.....	20
VIII. Discusión.....	24
IX. Conclusiones.....	29
X. Agradecimientos.....	30
XI. Bibliografía	31
XII. Anexos.....	40

I. Resumen

La enfermedad de Chagas (ECh) es una zoonosis parasitaria causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). En Chile, la ECh constituye una infección prevalente, y se estima que existen aproximadamente 160.000 personas infectadas. En su etapa crónica entre un 30 a 40% de los individuos con ECh desarrollará cardiopatía, megasíndromes digestivos o ambos. Siendo Nifurtimox (NFX) y Benznidazol los fármacos autorizados para el tratamiento etiológico de la ECh, encontrándose disponibles en la red de salud pública de nuestro país.

El objetivo de esta tesis fue evaluar la eficacia quimioterapéutica de NFX en el tratamiento de la ECh crónica en seguimiento prolongado (4 años), a través de la carga parasitaria de *T. cruzi* en sangre y la condición electrocardiográfica. La población en estudio estuvo constituida por 62 individuos con ECh crónica que recibieron tratamiento con NFX en el año 2009. El promedio de parasitemia en condiciones de pre y post-terapia fue de 10,5 y 0,91 parásitos equivalentes/ml, respectivamente, determinándose que existen diferencias significativas entre ambas parasitemias ($p < 0,0001$) y por otro lado, al comparar las cargas parasitarias dependiendo de la condición electrocardiográfica después del tratamiento, se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,26$).

En Chile, las publicaciones relacionadas con el tratamiento con NFX en individuos con ECh son escasas y en la actualidad se desconoce la eficacia del tratamiento durante la fase crónica de la infección. Los resultados de esta tesis son auspicios puesto que se determinó que existen diferencias entre las cargas parasitarias antes y después del tratamiento, además en el 51.7% de los casos, la parasitemia desaparece totalmente y en el 20% disminuye, lo que indicaría cura parasitológica, y a pesar que no se evidenció diferencias entre los grupos según la evolución electrocardiográfica, un 63,4% de los individuos no progresan a la cardiopatía chagásica crónica.

II. Introducción

La enfermedad de Chagas (ECh) es una zoonosis parasitaria producida por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), perteneciente a la familia *Trypanosomatidae*. La enfermedad es transmitida al ser humano por insectos hematófagos de la familia *Triatominae*, conocidos comúnmente como “vinchucas” (1), siendo *Triatoma infestans* (*T. infestans*) el principal vector desde la línea ecuatorial hacia el sur (2). Otras vías de transmisión la constituyen las vías transplacentaria, transfusional, alimentaria, lactancia materna y accidentes de laboratorio (3).

La enfermedad es endémica desde la Patagonia a la frontera norte de México (1, 4). Se estima que 28 millones de personas de la región están expuestos a la infección y que la ECh mata a 14.000 personas cada año, mucho más que cualquier otra parasitosis en la región, incluida malaria (5). Además, causa discapacidad prematura, con un costo anual de 667.000 años de vida ajustados por discapacidad (6).

En Chile, la ECh constituye una infección prevalente, distribuida a lo largo del país, desde la XV región de Arica y Parinacota a la VI región del Libertador General Bernardo O’Higgins, estimándose aproximadamente en 160.000 los habitantes infectados (7). En el año 1999, Chile logra certificar la interrupción de la transmisión vectorial de *T. cruzi* en base al control realizado sobre *T. infestans* en la Iniciativa del Cono Sur (8).

Actualmente, es considerada una de las “enfermedades desatendidas” más importantes del mundo (9) y debido a sus implicancias médicas, sociales y económicas constituye uno de los principales problemas de salud pública de Latinoamérica (10, 11), sin embargo, hay que considerar que ha habido un cambio en los patrones epidemiológicos de la enfermedad, debido a que se ha incrementado el número de individuos con ECh en las áreas no endémicas debido

a la migración de personas infectadas desde Latinoamérica a otras partes del mundo, lo cual ha determinado que adquieran mayor importancia otros mecanismos de infección distintos al vectorial, como el transfusional y vertical (12, 13).

La ECh cursa con dos etapas clínicas, la etapa aguda, donde solo un bajo porcentaje de los infectados presentan signos clínicos y parasitemia evidente, y la etapa crónica, donde un 30 a 40% individuos desarrollan cardiopatía, megasíndromes digestivos o ambos (14), siendo la cardiopatía chagásica la principal causa de muerte en estos individuos (1, 15). El diagnóstico de la infección en la etapa aguda se realiza mediante técnicas directas de identificación del parásito o su material genético, tales como el xenodiagnóstico (XD) y la Reacción de la Polimerasa en Cadena (PCR) (16), mientras que, en la etapa crónica los métodos indirectos de diagnóstico, basados en la detección serológica de anticuerpos específicos para *T. cruzi*, tales como Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA son los más recomendados por su alta sensibilidad y especificidad (15).

El principal mecanismo de daño tisular de la ECh es la reacción inflamatoria y fibrosis progresiva inducida por *T. cruzi* después de la ruptura de los “pseudoquistes” presentes en los órganos parasitados, existiendo consenso que estos mecanismos siempre son el resultado de la presencia de *T. cruzi* y sus antígenos (1).

La quimioterapia etiológica en la ECh suprime la parasitemia, eliminando al parásito de la sangre periférica y tejidos pudiendo revertir la fibrosis (17, 18). Nifurtimox (NFX) y Benznidazol (BNZ) son los fármacos autorizados, según consideraciones éticas, para el tratamiento etiológico de la ECh y se encuentran disponibles en la red de salud pública de nuestro país (3). No obstante, especialmente con BZN, existe escasa experiencia en su administración. En Latinoamérica, millones de individuos siguen sin tratamiento adecuado y aunque

no existen cifras oficiales, se estima que no más del 1% de los infectados ha recibido algún tipo de tratamiento (19). Para el control de la enfermedad no existen vacunas disponibles (13).

Actualmente, no existe consenso sobre un criterio de cura para evaluar el tratamiento de la ECh crónica, porque la verificación de la cura parasitológica en esta fase es más compleja y lenta que en la fase aguda. Las bajas parasitemias y el prolongado período de seguimiento necesario para la negativización de las pruebas serológicas en los casos curados, pueden tardar incluso más de 10 años (17).

Durante las últimas décadas, los métodos basados en la metodología de PCR han sido aplicados en numerosos estudios de seguimientos de individuos con ECh tratados con diferentes drogas tripanocidas (16, 20, 21), sin embargo, estas técnicas son cualitativas y no representan la carga real de *T. cruzi* circulante, porque sólo detectan, caracterizan y amplifican cientos de veces una secuencia de interés. Con la aplicación reciente de la técnica de PCR Tiempo Real (qPCR) en la ECh, ha sido posible obtener información cuantitativa sobre las cargas parasitarias circulantes en diversos hospederos, incluido el hombre (22, 23). Estas evidencias han permitido formular que qPCR puede ser una herramienta útil para evaluar el tratamiento etiológico de esta parasitosis (24, 25).

El objetivo de esta tesis, fue evaluar la eficacia del NFX en el tratamiento de la ECh crónica, determinando la cantidad de *T. cruzi* circulante, describir la evolución electrocardiográfica en los individuos tratados y, evaluar si dicha evolución se relaciona con la carga parasitaria después de 4 años post-terapia.

III. Marco Teórico

1. Epidemiología y distribución geográfica

La ECh representa un importante desafío para la salud pública en Latinoamérica, donde se estima que entre 8 y 10 millones de personas están infectadas con *T. cruzi* (14), comprendiendo el territorio desde el sur de Estados Unidos hasta la Patagonia, aunque las migraciones han llevado a individuos infectados fuera de Latinoamérica, lo que ha determinado que la ECh sea en la actualidad, un problema de salud pública global. Entre 10.000 y 14.000 muertes ocurren al año a causa de la ECh (5). No obstante, estas estimaciones han disminuido notablemente debido a la implementación de programas exitosos de control del vector, monitoreo en bancos de sangre y acciones educativas dirigidas a la población en riesgo. A finales de la década del 90', Chile y Uruguay fueron declarados libres de la transmisión vectorial intra-domiciliaria por *T. infestans* y en la actualidad, el control a nivel de bancos de sangre se aproxima al 100% en la mayoría de los países endémicos de la enfermedad. Las prevalencias en estos países fluctúan entre el 1 al 6,8%, siendo Brasil, México y Argentina los responsables de 60% de individuos infectados en Latinoamérica (1).

En el área endémica de ECh en nuestro país existen alrededor de 160.000 personas infectadas (7), distribuidas en áreas rurales y periurbanas de las ocho primeras regiones, incluida la Región Metropolitana, siendo consideradas hiperendémicas, las regiones de Atacama y Coquimbo (26).

2. *Trypanosoma cruzi*, ciclo de vida y mecanismos de transmisión

T. cruzi pertenece al Reino Protista, Subreino Protozoa, Phylum Sarcomastigophora, Subphylum Matisgophora, Clase Zoomastigophorea, Orden Kinetoplastida (1). Se caracteriza por la existencia de una única mitocondria, llamada kinotoplasto. El material genómico de *T. cruzi* está situado en el núcleo y el kinetoplasto, constituyendo el ADN kinetoplastídico (kADN) cerca del 20% del ADN total del parásito.

En condiciones naturales, *T. cruzi* puede infectar alrededor de 150 especies de mamíferos de diferentes órdenes, incluyendo animales silvestres y domésticos. La transmisión natural del parásito se realiza principalmente por medio de los vectores biológicos, hemípteros hematófagos, comúnmente conocidos como “vinchucas” (1).

Existen más de 150 especies de triatominos identificadas, siendo 70 consideradas como vectores biológicos para *T. cruzi* (27). Los principales vectores en países del Cono Sur son *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis* y *Panstrongylus megistus* (2).

En Chile, se describen 4 vectores biológicos de la ECh: *T. infestans* de hábitos domésticos, *Mepraia spinolai*, *Mepraia gajardoi* y *Mepraia parapatrica* de hábitos silvestres. *T. infestans* representa la especie de mayor importancia epidemiológica para la ECh ya que mantiene el ciclo doméstico de la enfermedad. Otra vía de infección para el hombre es a través de transfusiones sanguíneas, mecanismo controlado a través de tamizaje en los bancos de sangre chilenos, y en los cuales no se describen casos de transmisión por esta vía desde el año 1985. La transmisión congénita también ha sido reportada como otra forma de infección, ocurriendo entre el 2 al 11% de los embarazos de mujeres crónicamente infectadas en algunas regiones de Bolivia, Chile y Paraguay (28, 29). Otras vías de menor significación epidemiológica para la transmisión de ECh, son el trasplante de órganos o médula (1), y raramente infecciones accidentales de laboratorio. La ingesta de alimentos y líquidos contaminados con deyecciones de triatominos también se considera como una forma de transmisión, constituyendo en algunos casos, brotes de transmisión con numerosos casos agudos (1, 30).

Los triatominos se infectan al ingerir sangre de mamíferos infectados, acción generalmente indolora y que ocurre normalmente en la oscuridad. En el intestino medio y posterior de los insectos, los tripomastigotes ingeridos se diferencian a epimastigotes, los que se multiplican activamente por división binaria. En el

intestino posterior, al cabo de 20 a 30 días, se desarrollan los tripomastigotes metacíclicos, forma infectante para los mamíferos. Mientras el insecto infectado pica al mamífero, emite deyecciones y las formas infectantes atraviesan la piel por el sitio de la picadura, las mucosas o bien heridas pre-existentes (1). Las formas infectantes penetran las células del hospedero vertebrado susceptible, para completar su ciclo de vida. Pueden invadir inmediatamente las células reticuloendoteliales y conectivas, o pueden ser transportados en la sangre a otros sitios antes de invadir las células del hospedero. Dentro de estas células, los tripomastigotes se diferencian a amastigotes, los cuales se multiplican activamente mediante fisión binaria, al cabo de las cuales, la célula hospedera se destruye infectando nuevas células o invadiendo sangre periférica. Las formas tripomastigotes circulantes en la sangre y en la linfa diseminan la infección y el resultado es un incremento exponencial de parásitos intracelulares y sanguíneos. La diseminación es mayoritariamente hacia células musculares cardíacas, lisas y esqueléticas (1). El parasitismo eventualmente decae por la respuesta inmune del hospedero y la parasitemia patente de la fase aguda evoluciona gradualmente a una parasitemia subpatente, característica de la fase crónica. El ciclo biológico se completa cuando los tripomastigotes son ingeridos por los triatomas hematófagos (1).

3. Aspectos clínicos y diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas

En la ECh se pueden distinguir dos fases: aguda y crónica (1). La mayoría de las personas infectadas ignora que han adquirido la parasitosis, debido a que en el período agudo los síntomas son infrecuentes y cuando existen corresponden a síntomas inespecíficos, como fiebre e inflamación de ganglios linfáticos. El período crónico puede ser dividido en inicial indeterminado y tardío determinado, que se caracteriza por parasitemia subpatente y miocardiopatía dilatada, compromiso del sistema digestivo o sistema nervioso central. En personas con depresión del sistema inmunológico como consecuencia de VIH/SIDA o quimioterapia, la ECh puede reactivarse con una gran cantidad de parásitos en la sangre periférica y otros tejidos del cuerpo (31).

En Chile, aproximadamente el 30% de los individuos con ECh tienen cardiopatías (14) y de ellos, un tercio necesita marcapasos para sobrevivir (26).

3.1. Diagnóstico serológico

El diagnóstico serológico de la ECh se realiza rutinariamente mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA (32). Es importante señalar que si bien las técnicas de serología convencional presentan una buena sensibilidad (95-100%), no permiten determinar la etapa de la infección ni la evolución clínica, así como tampoco permiten realizar estudios de evaluación de eficacia quimioterapéutica debido a que permanecen persistentemente positivas en el tiempo, aun cuando las pruebas parasitológicas resulten negativas (15, 17).

3.2. Diagnóstico parasitológico directo

El diagnóstico parasitológico de la ECh está basado en la demostración de la presencia de *T. cruzi* mediante pruebas directas, aplicadas fundamentalmente en el período agudo de la infección. Los métodos de elección son: examen microscópico de sangre fresca, Strout, microhematocrito, hemocultivo y xenodiagnóstico (16). En el período crónico de la enfermedad, la parasitemia disminuye a niveles subpatentes y la utilidad de las pruebas directas se ve limitada, siendo los métodos de elección en esta etapa, aquellos que detectan anticuerpos específicos contra el parásito, especialmente de tipo IgG (15).

3.3. Diagnóstico parasitológico molecular mediante Reacción de la polimerasa en cadena

En la última década, la técnica de la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) ha sido introducida como método diagnóstico parasitológico de elección en las diferentes etapas de la ECh, permitiendo no solamente reconocer la presencia de *T. cruzi* en sangre, casos congénitos o evaluación de la eficiencia quimioterapéutica, sino también caracterizar las cepas circulantes de *T. cruzi* en vectores y mamíferos (20, 33).

4. Tratamiento de la enfermedad de Chagas

La ECh debe ser tratada siempre, independiente del período o fase de ésta, con excepción de aquellos individuos con ECh cardiopatas con *Core bovis* o insuficiencia cardíaca. Constituyen también contraindicación el embarazo, lactancia, alcoholismo crónico, hepatopatías, nefropatías y hemopatías graves. Los únicos fármacos que se utilizan en la ECh humana según consideraciones éticas, son NFX y BNZ, ambos utilizados desde la década de 1970 (34). Estos actúan sobre el genoma de *T. cruzi*, inhibiendo la síntesis de ADN, ARN y de proteínas, degradando estas moléculas, reduciendo la parasitemia (34) y demostrando sensibilidad selectiva sobre las diferentes cepas de *T. cruzi*.

Aunque éstos son los únicos fármacos autorizados internacionalmente para el tratamiento de la ECh, originan efectos colaterales (35) y su eficacia es variable (19). En la actualidad, no existe tratamiento etiológico eficaz sin efectos colaterales y de fácil adquisición. Se ha estimado que el porcentaje de cura en tratamiento de la ECh durante el período crónico alcanza el 30%. Pese a esto, es de suma importancia tratar a los individuos con ECh crónica que cursan el período indeterminado, puesto que al hacerlo, se evita el desarrollo de cardiopatía, que es evolutiva y por lo general de mal pronóstico (36, 37).

5. PCR en Tiempo Real y su aplicación en la enfermedad de Chagas crónica

La técnica de PCR convencional ha mejorado notablemente la eficiencia diagnóstica en la detección de *T. cruzi* circulante en sangre humana (38). Sin embargo, el ADN amplificado no tiene relación con la concentración inicial presente en la muestra, debido a que PCR es una reacción exponencial, por lo que pequeñas oscilaciones en la eficiencia de la amplificación en cada muestra originan variaciones importantes en la cantidad del ADN obtenido al final del proceso. Por el contrario, en la reacción de PCR cuantitativa o en Tiempo Real (qPCR), los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea en el mismo sitio de reacción. Ambas estrategias, PCR y qPCR, han sido exitosamente aplicadas en la evaluación de tratamiento en casos pediátricos

tratados con NFX (25) y BNZ (23, 39). Debido a que la serología no es útil para evaluar el éxito o fracaso de la terapia (22), qPCR aparece como una herramienta eficaz para dicho propósito (23).

Por otra parte, en algunos estudios se ha demostrado que el tratamiento etiológico para la ECh crónica puede revertir, curar o evitar el progreso de las alteraciones electrocardiográficas encontradas antes de la terapia (21, 26).

Conociendo la relevancia que tiene la ECh tanto en Latinoamérica como en el mundo y sabiendo que el tratamiento puede ayudar en mantener la calidad de vida de los individuos infectados en etapa crónica se intentará responder las siguientes preguntas:

- ¿Cuál es la eficacia parasitológica de Nifurtimox en el tratamiento de la enfermedad de Chagas crónica?
- ¿Nifurtimox, evita la progresión a la cardiopatía chagásica crónica en personas tratadas y evaluadas en seguimiento prolongado?

IV. Objetivos

Objetivo General

Evaluar la eficacia de Nifurtimox en el tratamiento de la enfermedad de Chagas crónica en seguimiento prolongado.

Objetivos Específicos

1. Establecer si existen diferencias en la carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* en condiciones de pre y post-terapia prolongada.
2. Determinar la condición electrocardiográfica de los individuos tratados en seguimiento prolongado.
3. Determinar si existen diferencias entre la carga parasitaria de los individuos tratados según la evolución electrocardiográfica.

V. Hipótesis

El tratamiento con Nifurtimox disminuye la carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* y evita la progresión a la cardiopatía chagásica crónica.

VI. Material y Métodos

1. Tipo de estudio y población

Estudio descriptivo, cuasi-experimental. La población en estudio correspondió a 62 individuos con ECh crónica, condición confirmada mediante las técnicas serológicas convencionales de IFI y ELISA IgG (32), que recibieron tratamiento con NFX de 8-10 mg/kg/día durante 60 días, en el año 2009. Todos ellos proceden de zonas urbanas y rurales de la IV Región de Coquimbo, Provincias de Choapa (Comunas de Illapel, Salamanca, Los Vilos y Canela) y Limarí (Combarbalá), que aceptaron participar del estudio bajo firma de Consentimiento informado (Anexo 1), aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Resolución 049-2009 (Anexo 2).

Como criterios de inclusión, se consideró los antecedentes epidemiológicos y disponibilidad de muestras biológicas, es decir, muestras de sangre y trazado electrocardiográfico, antes de la terapia (año 2009) y último seguimiento (diciembre 2013), lo que corresponde a un promedio de 4 años de seguimiento prolongado después de la administración de NFX.

Estos individuos fueron elegidos por conveniencia, debido a que fueron sujetos que aceptaron voluntariamente participar y a quienes se les pudo tomar muestra de sangre y trazado electrocardiográfico antes y después de realizado el tratamiento, según las especificaciones antes mencionadas. El análisis de los resultados fue de tipo comparativo entre las mediciones antes y después de la terapia con NFX.

2. Manejo de las muestras

2.1. Obtención y purificación de ADN de muestra de sangre para qPCR

Se utilizaron muestras de sangre periférica obtenidas antes del tratamiento en el año 2009 y al último seguimiento realizado en diciembre 2013. Se obtuvo la muestra de sangre mediante punción venosa, las cuales fueron recibidas en tubos Venoject en volumen 1:1 de solución de Guanidina HCl-EDTA (2 ml de sangre en 2 ml solución preservante-anticoagulante). Todas las muestras fueron incubadas a 98°C por 15 min para favorecer el desencadenamiento de la red de micirculos de *T. cruzi* y conservadas a 4°C para su posterior extracción de ADN.

La purificación de ADN se realizó a partir de un volumen de 200 µl muestra, utilizando el kit QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen), para un volumen final de elución de 100 µl. Las muestras se transfirieron a través de columnas de sílica, utilizando los reactivos según especificaciones del kit. El ADN purificado se mantuvo a -20°C hasta su amplificación.

2.2. PCR Tiempo Real

2.2.1. Curva estándar y sistema de detección SYBR® Green

Para obtener ADN parasitario y generar la curva estándar para la cuantificación mediante qPCR, se utilizó un “stock” de formas epimastigotas de *T. cruzi* cepa Tulahuén y cepa DM28c obtenidas de cultivo axénico. La curva estándar se originó a partir de una concentración conocida de ADN de *T. cruzi*, realizando diluciones seriadas (1/10) en sangre de individuo sin ECh, con un rango dinámico de 8 puntos, que fluctuaron entre 10^6 a 10^{-1} parásitos equivalentes/ml (par. eq./ml), posteriormente, se extrajo ADN de las diluciones. Todos los cálculos se estimaron considerando que cada célula de *T. cruzi* posee 200 fg de material genético (23, 40). Paralelamente, se utilizó como control interno (CI) de qPCR, parte de una secuencia del cromosoma 12 (X12). El CI fue diseñado para descartar casos de falsos negativos debido a ausencia de ADN en la muestra evaluada, ya sea por problemas en la extracción o inhibición en la reacción de qPCR. De este modo, CI

es útil como control de extracción de ADN y como control de reacción de qPCR (41).

La carga parasitaria fue analizada a través de la cuantificación en qPCR aplicando el sistema de detección SYBR® Green, en un termociclador Mx3000P™ Stratagene (AgilentTechnologies, U.S.A.) en condiciones sugeridas por el fabricante. Los primers que se utilizaron en la reacción corresponden a los partidores de ADN satelital cruzi 1 (5'-ASTCGGCTGATCGTTTTTCGA-3') y cruzi 2 (5'-AATTCCTCCAAGCAGCGGATA-3'), cada uno a una concentración de 0,3 µM (22, 42). La mezcla de reacción se realizó en una campana de flujo laminar y estuvo compuesta por 2 µl de muestra de ADN, 10 µl de 2x Brilliant III Ultra-Fast SYBR® Green QPCR Master Mix, 0,5 µl de una solución 1:500 de Reference Dye (Stratagene) y agua libre de nucleasas (30nM), 0,6 µl de cada uno de los oligonucleótidos satelitales cruzi 1 y cruzi 2, y 6,3 µl de Molecular Biology Grade Water (Mo Bio) para un volumen final de reacción de 20 µl. El perfil térmico consistió en 3 minutos de pre-incubación a 95°C y 40 ciclos de amplificación (95°C por 5 segundos, 60°C por 20 segundos). El registro de la fluorescencia emitida se realizó a 72°C al final de cada ciclo. Al término de los ciclos de amplificación, se realizó un ciclo para generar la curva de fusión, consistente en una etapa de denaturación inicial a 95°C durante 5 segundos, luego disminución hasta los 25°C, aumento hasta los 70°C durante 15 segundos y finalmente se aumentó la temperatura progresivamente hasta los 95°C, trayecto en el cual se hizo lectura de fluorescencia emitida. Los resultados fueron obtenidos automáticamente por el equipo, y fueron analizados con el software MxPro v4.10 (Stratagene). Se debe señalar que todo resultado negativo (ausencia de detección de *T. cruzi*) corresponde al valor cero y se representa como No Ct (donde no se obtuvo reacción de fluorescencia), todo valor positivo fue informado en par. eq./ml, para que cada individuo tratado tenga claridad sobre su condición parasitológica.

2.3. Electrocardiografía

A cada individuo en estudio se le tomó un electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones, cuyo trazado electrocardiográfico fue interpretado por médico cardiólogo especialista en cardiopatía chagásica crónica (CCC) a doble ciego, según los criterios internacionales establecidos (43, 44). Se descartaron otras causas posibles de cardiopatía, según los antecedentes epidemiológicos y clínicos. Los resultados fueron agrupados en ECG normales y alterados especificando cada alteración detectada.

3. Variables y su operacionalización

La variable de exposición es el tratamiento con NFX de 8-10 mg/kg/día durante 60 días.

Las variables resultado consideradas para este estudio fueron las siguientes:

- Parasitemia de *Trypanosoma cruzi*
- Electrocardiografía

3.1. Definiciones:

Parasitemia de *T. cruzi*: se define como la cantidad de parásitos presentes en la sangre periférica del individuo, medidos mediante qPCR aplicando el sistema SYBR® Green y los primers cruzi1/cruzi2, cuyo resultado es informado en par. eq./ml, siendo estos obtenidos a través de la extrapolación de los valores de la fluorescencia obtenida de las muestras v/s la fluorescencia de la curva estándar. En este caso, existen rangos donde de los valores obtenidos corresponden a las mismas diluciones de la curva estándar:

- 1.000.000 par. eq./ml a 100.000 par. eq./ml
- 100.000 par. eq./ml a 10.000 par. eq./ml
- 10.000 par. eq./ml a 1.000 par. eq./ml
- 1.000 par. eq./ml a 100 par. eq./ml
- 100 par. eq./ml a 10 par. eq./ml
- 10 par. eq./ml a 1 par. eq./ml
- 1 par. eq./ml a 0,1 par. eq./ml
- No Ct (muestra negativa para *T. cruzi*)

Todo cambio del nivel de parasitemia entre un rango y otro se consideró como aumento o disminución de la parasitemia según corresponda.

Electrocardiografía: Medición de la actividad eléctrica del corazón, utilizando electrocardiógrafo de 12 derivaciones que genera un trazado electrocardiográfico. En cuanto a la evolución electrocardiográfica, se generaron 4 categorías dependiendo de los resultados antes y después del tratamiento:

- Categoría **A:** Se mantiene el ECG normal.
- Categoría **B:** Existen alteraciones menores pre-terapia que en algunos casos desaparecen post-terapia.
- Categoría **C:** No mejora, con presencia de una o más alteraciones pre-terapia, como QTc prolongado, bloqueos de rama o arritmias.
- Categoría **D:** Progresión de normal en pre-terapia a alterado en post-terapia, aparecen bloqueos, QTc prolongados o arritmias.

La operacionalización de las variables se resume en la siguiente tabla:

Variable	Definición	Operacionalización	Tipo de variable y Unidad de Medida	Fuente de información
Parasitemia de <i>T. cruzi</i>	Cantidad de parásitos equivalentes por ml presentes en la sangre del individuo	Resultado qPCR Negativa: 0 Positiva: >0 Expresado en par. eq./ml	Tipo Cuantitativa (continua)	Mediciones realizadas en el Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Chile
Electrocardiografía	Medición de la actividad eléctrica del corazón	Normal: sin alteraciones Alterado: tipo de alteraciones	Tipo Cualitativa (Nominal)	Mediciones realizadas en terreno y analizadas por médico cardiólogo, experto en CCC

4. Análisis estadístico

La normalidad de los datos fue determinada a través de la prueba de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad a través de la prueba de Bartlett's, determinándose que los datos no distribuían normal ($p < 0,0001$) y que al menos una de las varianzas era distinta ($p < 0,0001$), por lo cual para comparar las parasitemias entre dos grupos se utilizó la prueba de Mann-Whitney:

- Pre v/s post-terapia.
- Disminuye v/s aumenta o mantiene parasitemia.

Por otro lado para comparar las parasitemias entre 4 grupos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis: categorías A-D de la evolución electrocardiográfica.

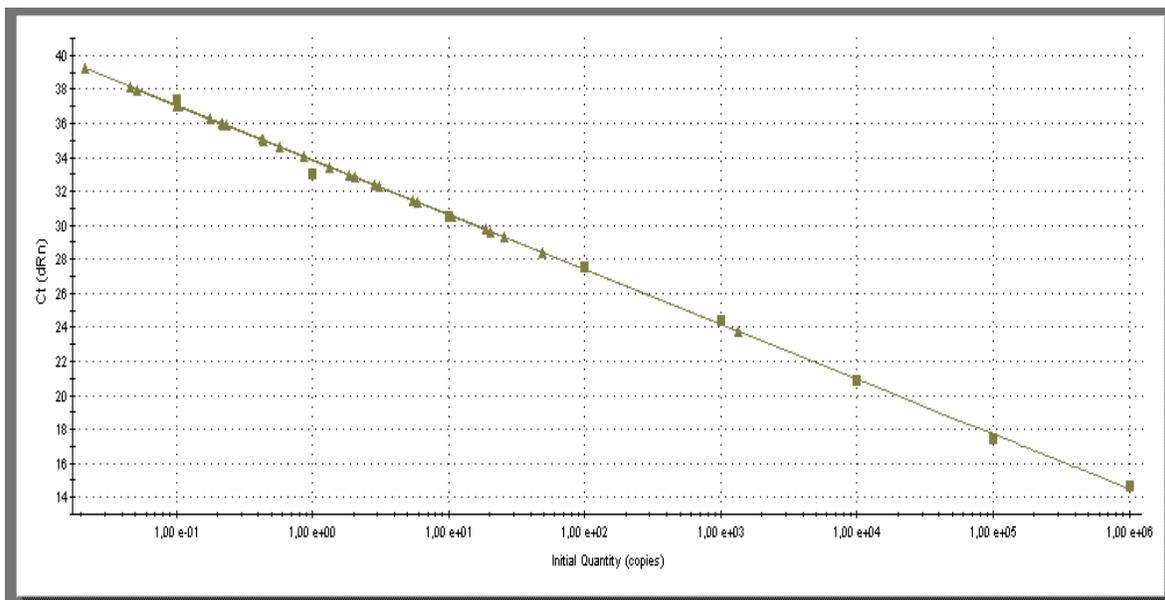
Finalmente para comparar las positividades antes y después del tratamiento se utilizó la prueba de McNemar. Para todas las pruebas se estimó un error Tipo I máximo de 0,05 utilizando el programa STATA v.12.0. El análisis descriptivo se hizo a través de tablas y porcentajes, adicionalmente, se utilizaron los programas Word y Excel.

VII. Resultados

Todas las muestras evaluadas mostraron amplificación para el CI, por lo que se consideró que no hubo pérdida de material genético durante el proceso de extracción de las muestras sanguíneas e inhibición de la reacción de qPCR, descartándose falsos negativos en las muestras que no amplificaron para *T. cruzi*.

En la Figura 1 se puede observar la curva estándar de *T. cruzi* con los valores de R^2 (Coeficiente de determinación), Y (Pendiente), Eff (Eficiencia) y algunas muestras intersectadas en la curva.

Figura 1. Curva estándar de PCR Tiempo real SYBR[®] Green (■) para *T. cruzi* en muestras de sangre periférica de individuos con enfermedad de Chagas crónica. Rango dinámico 10^6 a 10^{-1} parásitos equivalentes/ml. Valores de la curva estándar: $Rsq = 0.998$, $Y = -3.225 \cdot \log(x) + 33.99$, $Eff = 104.3\%$. Muestras problema intersectadas en la curva (▲).



De los 62 individuos, las parasitemias más altas correspondieron a 1.355 y 947.000 par. eq./ml, valores atípicos los cuales no fueron consideradas en este estudio.

En condiciones de pre-terapia, 8 muestras no amplificaron, 11 tuvieron carga menor a 1 par. eq./ml, 23 presentaron parasitemias entre 1-10 par. eq./ml y 18 entre 10-100 par. eq./ml, Tabla 1. En la condición post-terapia, 34 muestras resultaron negativas, 20 presentaron parasitemias menores a 1 par. eq./ml, 5 entre 1-10 par. eq./ml y solo 1 entre 10-100 par. eq./ml, Tabla 1.

Tabla 1. Rangos de parasitemia por *Trypanosoma cruzi* en pre y post-terapia de 60 individuos tratados con Nifurtimox en el año 2009 y seguimiento de 4 años.

RANGOS PARASITEMIA	PRE-TERAPIA	POST-TERAPIA
10 ⁶ -10 ⁵ par. eq./ml	0	0
10 ⁵ -10 ⁴ par. eq./ml	0	0
10 ⁴ -10 ³ par. eq./ml	0	0
10 ³ -10 ² par. eq./ml	0	0
10 ² -10 ¹ par. eq./ml	18 (30%)	1 (1,7%)
10 ¹ -10 ⁰ par. eq./ml	23 (38,4%)	5 (8,3%)
10 ⁰ -10 ⁻¹ par. eq./ml	11 (18,3%)	20 (33,3%)
No Ct*	8 (13,3%)	34 (56,7%)

* **No threshold cycle**, que corresponde a un resultado negativo (ausencia de detección de *T. cruzi* con valor cero).

El análisis estadístico determinó que los 60 individuos tratados con NFX entre los años 2009-2010 con un seguimiento promedio de 4 años:

1. La positividad de qPCR (cualitativamente) en condiciones de pre-terapia fue 86,7% (52 individuos) y en la post-terapia 43,3% (26 individuos), Tabla 1. En la post-terapia 40,3% (21 individuos) mantuvieron la positividad y 37,5% (3 individuos) se mantuvieron negativos. Al comparar mediante la prueba de McNemar los cambios de positividad (de positivo a negativo y viceversa, 59,7% y 62,5% respectivamente) se determinó que no existen diferencias significativas en

estos porcentajes ($p=0,24$), lo que indicaría que cualitativamente no existen cambios al medir la presencia de *T. cruzi* en sangre.

2. En 43 individuos (71,7%) hubo una disminución evidente de la parasitemia medida a través de qPCR. En 31 de ellos, la parasitemia desaparece totalmente (51,7%) y en 12 individuos disminuye (20%). Por otro lado, el grupo de 14 individuos (23,3%) en que la parasitemia se mantiene o aumenta después del tratamiento, se caracteriza de la siguiente manera: 5 casos (8,3%) con parasitemia negativa pre-terapia y que se positiviza durante el seguimiento; en 4 casos (6,7%), la parasitemia se mantiene a niveles menores a 1 par. eq./ml; en 3 casos (5%) la parasitemia se mantiene a niveles mayores a 1 par. eq./ml y, en 2 casos (3,3%), la parasitemia aumentó. Finalmente, 3 individuos nunca presentaron parasitemia positiva (5%), Tabla 2.

Tabla 2. Distribución de los individuos, número y porcentajes según la variación de la parasitemia después de realizada la terapia con Nifurtimox en el año 2009.

PARASITEMIA	SUBCATEGORÍA	n (%)	TOTAL	PROMEDIO PARASITEMIA
Disminución	Desaparece	31 (51,7%)	43 (71,7%)	0,1 par. eq./ml
	Disminuye	12 (20%)		
Mantiene o aumenta	Aparece	5 (8,3%)	14 (23,3%)	3,63 par. eq./ml
	Mantiene baja	4 (6,7%)		
	Mantiene alta	3 (5%)		
	Sube	2 (3,3%)		
Sin parasitemia	Nunca	3 (5%)	3 (5%)	-

3. El promedio de parasitemia en condiciones de pre-terapia en los 60 individuos fue de 10,5 par. eq./ml y en condiciones de post-terapia, el promedio fue de 0,91 par. eq./ml. Mediante la prueba de Mann-Whitney se determinó que existen diferencias significativas entre los promedios de parasitemia ($p<0,0001$), por lo tanto es posible inducir que NFX tiene efecto tripanocida importante sobre la carga parasitaria de *T. cruzi* presente en sangre periférica en esos individuos.

4. A todos los individuos en estudio se les aplicó ECG de 12 derivaciones antes y después de la terapia, para determinar cuál era su estado de compromiso cardíaco y determinar si el tratamiento tenía influencia en la evolución electrocardiográfica. Los resultados, de acuerdo a las 4 categorías anteriormente descritas, son los siguientes: en la categoría **A** 25 individuos (41,7%) con un promedio de carga parasitaria de 0,41 par. eq./ml., en la **B** 13 individuos (21,7%) con un promedio de parasitemia de 0,25 par. eq./ml, en la **C** 15 individuos (25%) con un promedio de parasitemia de 2,7 par. eq./ml y en la **D** 7 individuos (11,6%) con un promedio de parasitemia de 0,17 par. eq./ml, Tabla 3.

Mediante la prueba de Kruskal-Wallis se determinó que no existen diferencias significativas entre las cargas parasitarias entre los 4 grupos ($p=0,26$), siendo las alteraciones electrocardiográficas más frecuentes en la post-terapia: la bradicardia sinusal (17 casos), bloqueo completo de rama derecha (8 casos) y QTc prolongado (6 casos).

Tabla 3. Categorías según la evolución del electrocardiograma, número de individuos, porcentajes y promedio de parasitemia después del tratamiento con Nifurtimox en el año 2009 y seguimiento de 4 años.

CATEGORIAS	n (%)	PROMEDIO PARASITEMIA
A	25 (41,7%)	0,41 par. eq./ml
B	13 (21,7%)	0,25 par. eq./ml
C	15 (25%)	2,7 par. eq./ml
D	7 (11,6%)	0,17 par. eq./ml

5. Al comprar a través de la prueba de Mann-Whitney el grupo en que disminuyó la parasitemia (43 individuos, promedio 0,1 par. eq./ml), con el grupo en que la parasitemia se mantuvo o aumentó (14 individuos, promedio 3,63 par. eq./ml), Tabla 2, se determinó que existen diferencias significativas entre las cargas parasitarias ($p<0,0001$).

VIII. Discusión

Si bien numerosos fármacos han demostrado actividad contra *T. cruzi* (45-48), en la actualidad no existen fármacos para uso clínico que sean enteramente satisfactorios en cuanto a eficacia y seguridad en el tratamiento de la ECh (17, 18, 21). Los únicos que actualmente son administrados a humanos sobre la base de consideraciones éticas y clínicas, son NFX y BNZ (3). Su uso ha sido restringido por su limitada disponibilidad y los efectos adversos que causan en individuos adultos que cursan la fase crónica de la infección (7, 10, 21, 49) , pudiendo presentarse hasta en el 40% de individuos tratados con BNZ y 61% de tratados con NFX (35, 50).

A fines de los años 60, un ensayo clínico internacional evaluó la eficacia de NFX y BNZ (17), a partir de lo cual, muchos investigadores recomendaron la administración del tratamiento en la fase aguda y crónica de la ECh (51) no obstante, la indicación de tratamiento tripanocida en la fase crónica, permaneció como un tema controversial durante muchos años (52). En la actualidad existe consenso que todos los individuos con ECh pueden ser tratados con excepción de aquellos que están en la etapa crónica tardía o hayan desarrollado una falla cardíaca crónica descompensada (21) .

Durante los años 80 en Argentina se administró en forma persistente más BNZ que NFX en pacientes en fase crónica (17). Durante los años 90, estudios de seguimiento prolongado fueron llevados a cabo a través de estudios observacionales (53-57). Sumado a ello, dos ensayos clínicos randomizados fueron llevados a cabo en niños (58, 59). En Brasil mientras tanto, desde 1997 existen recomendaciones para el tratamiento de casos agudos con NFX y BNZ (60) en niños de hasta 12 años y casos de infección reciente en adultos (2). Recientemente, se ha propuesto el tratamiento de casos crónicos en Grado II de la New York Association (61) y casos con Grado III según criterio clínico (18) .

En Chile, no ha existido una política pública para el tratamiento de los individuos con ECh crónica, es así que las publicaciones relacionadas son escasas (11, 35, 62, 63), no obstante, en la actualidad existe disponibilidad de NFX y BNZ en la red de atención pública (3). En relación a otros fármacos que han demostrado eficacia con *T. cruzi*, en nuestro país se han realizado ensayos clínicos con Alopurinol (26), Itraconazol (21) con eficacia quimioterapéutica variable. Actualmente, se encuentran vigentes protocolos gubernamentales desarrollados en conjunto con expertos externos para el tratamiento de la ECh aguda y crónica (3), no obstante, no existe el tratamiento de grandes grupos de infectados, fundamentalmente por falta de experiencia de los equipos médicos regionales, razón por la cual, se ha unido la academia y las autoridades de salud para realizar durante los últimos 5 años, diversas actividades académicas con participación de expertos en el tratamiento de la ECh de nivel nacional e internacional (64, 65).

En la actualidad se desconoce la eficacia del tratamiento durante la fase crónica de la infección y más aún, los criterios de cura son controvertidos. Uno de los criterios propuestos es la negativización de las pruebas serológicas, sin embargo, la negativización de los títulos de anticuerpos en los pacientes crónicos no ocurre antes de 8 o 10 años después del tratamiento (17) y en una proporción de individuos no superior al 15% (53). Por tanto, es necesario el estudio de nuevos marcadores que permitan determinar la disminución o eliminación completa de la carga parasitaria después del tratamiento (66). El establecimiento de un criterio de cura de consenso constituye uno de los más grandes desafíos en la evaluación de la eficacia quimioterapéutica en la ECh crónica (16, 34). El consenso actual es tratar la ECh con NFX o BNZ (según disponga cada país) a toda persona infectada con *T. cruzi* hasta los 18 años de edad. El tratamiento debe ofrecerse a los adultos de 19-50 años que no presenten cardiopatía chagásica avanzada y es opcional en los individuos mayores de 50 años, debido a que el beneficio del tratamiento no ha sido demostrado en este grupo etario (67) y, a pesar de los efectos adversos reportados con NFX y BNZ (35), existe consenso que la mayoría de los individuos con ECh deben ser tratados, a fin de controlar *T. cruzi* circulante y prevenir nuevos

focos de inflamación y extensión de lesiones en los tejidos; promover la regeneración tisular previniendo de esta forma fibrosis; revertir la fibrosis existente; prevenir la cardiomiopatía, megaesófago y megacolon y finalmente, para reducir bloqueos cardíacos y arritmias (18).

En el presente estudio, se evaluó en 60 individuos con ECh crónica la eficacia quimioterapéutica de NFX a través de dos variables: la carga parasitaria de *T. cruzi* en sangre y la condición electrocardiográfica antes y después del tratamiento (punto inicial y punto final de seguimiento post-terapia promedio de 48 meses). En condiciones de pre-terapia, el promedio de carga parasitaria en el grupo de estudio determinada mediante qPCR, fue 10,5 par. eq./ml, lo que confirma los bajos niveles de parasitemia que caracterizan a esta etapa de la infección (68). Trabajos recientes en individuos con ECh crónica en que se determina la carga parasitaria de *T. cruzi* aplicando la misma técnica (39), permite confirmar el mismo hecho, que la carga parasitaria en la ECh crónica es baja. No obstante, en este estudio fue posible determinar que en 18 individuos, la parasitemia fue mayor a 10 par. eq./ml, lo que permite inferir que el individuo estaba cursando con alta parasitemia, pues, en estos casos, las herramientas parasitológicas complementarias aplicadas a este estudio (XD y PCR-S), fueron positivas. Esta observación también ha sido descrita por Britto *et al.* (69), Fernandes *et al.*(70) y Gilber *et al.* (71).

En cuanto a la carga parasitaria post-terapia, fue posible evidenciar ausencia de parásitos circulantes en el 51,7% de los casos y en el 20% restante, los niveles de parasitemia disminuyeron en promedio desde 0,1 par. eq./ml a 0.74 par. eq./ml en un seguimiento promedio post-terapia de 48 meses. No existen trabajos semejantes en la literatura, no obstante, en numerosas investigaciones se reporta la utilidad de la técnica de PCR convencional cualitativa para evaluar la eficacia de diversos fármacos tripanocidas administrados a individuos con ECh crónica (72, 73). La comparación entre los casos que disminuyen su carga parasitaria v/s los

casos que la mantienen o aumentan, permitió determinar que existen diferencias significativas entre ambos grupos ($p < 0,0001$).

Los resultados de esta tesis son auspiciosos, puesto que en el 71,7% de los individuos, la parasitemia desaparece o disminuye, lo que evidencia la acción tripanocida de NFX, siendo esta superior a la reportada en el tratamiento de la ECh crónica en estudios anteriores (57, 62, 63). La determinación de los niveles circulantes de parasitemia mediante qPCR, entrega información cuantitativa fundamental para el individuo con ECh. Hasta la fecha, existe acceso restringido a las técnicas de biología molecular, fundamentalmente por falta de profesionales entrenados y disponibilidad de infraestructura. En trabajos relacionados, sólo se ha informado de la aplicación de PCR convencional cualitativa (62, 74-76).

Finalmente, esta tesis permitió determinar que no existen diferencias entre la evolución electrocardiográfica de los individuos tratados y el promedio de par. eq./ml de las cuatro categorías. No obstante, el número de individuos que mejoraron y/o mantuvieron ECG normal o con alteraciones menores fueron considerablemente mayores a los que empeoraron, 38 (63,4%) y 7 (11,6%) respectivamente, contrario a lo informado recientemente en el estudio BENEFIT, que evaluó el efecto tripanocida de BNZ en sobre la CCC y sobre lo cual, no hubo hallazgos significativos (72).

En 9 casos (15%) la carga parasitaria se mantuvo o aumentó en la condición post-terapia, lo que indica fracaso terapéutico. En estos casos, sería de interés evaluar los DTUs de *T. cruzi* circulante, puesto que otros estudios han evidenciado que ciertas cepas de *T. cruzi* son resistentes a NFX y/o a BNZ (77-79) y, por otro lado se ha demostrado que individuos con ECh tratados con Itraconazol o Allopurinol y que no responden al tratamiento específico se encontraban infectados con DTU TcI (80).

En este estudio, 31 individuos con ECh crónica, tratados con NFX y con seguimiento prolongado, no tienen parásitos circulantes y su ECG es normal o presenta alteraciones menores. Este especial grupo, podría considerarse curado y con pronóstico auspicioso, debido al postulado que indica que *T. cruzi* es causante del daño directo en los tejidos (1, 60).

Todos los casos evaluados mantienen la serología convencional positiva al término del período de seguimiento y, no constituye como bien es aceptado por la comunidad científica (17, 60) un parámetro fidedigno de curación. Por el contrario, qPCR representaría una herramienta fidedigna en la evaluación de eficacia quimioterapéutica en la ECh crónica y por tanto en la prevención y control de la ECh.

IX. Conclusiones

La aplicación de qPCR en la evaluación de eficacia quimioterapéutica en el tratamiento de la ECh crónica para cuantificar los niveles de parasitemia, podría constituir un indicador fidedigno de la condición parasitológica de los individuos tratados y, pese a su difícil estandarización y costo, permitiría de manera efectiva, evaluar el tratamiento con fármacos tripanocidas.

En esta tesis, a los 4 años de seguimiento se pudo evidenciar la desaparición de la parasitemia en al menos la mitad de los individuos tratados y un número menor de individuos que evolucionaron a la cardiopatía chagásica crónica, lo cual es un buen antecedente de la acción tripanocida de NFX, siempre teniendo en cuenta que una adecuada intervención terapéutica antiparasitaria y posterior control de seguimiento con herramientas cuali y cuantitativas como qPCR, permitirán disminuir los costos socioeconómicos de la ECh, aumentando la calidad de vida de cientos de individuos infectados y su entorno familiar.

X. Agradecimientos

A Conicyt por permitir desarrollar el período lectivo del Magister en Salud Pública, a través de su programa de becas de Magister nacional (convenio nº 22132003).

A los proyectos FONDECYT 1100768 y 1120382 por su financiamiento para la realización de esta tesis.

A mis jefes y compañeros del Laboratorio de Parasitología Básico Clínico.

A mi familia y amigos por su amor y apoyo incondicional.

XI. Bibliografía

1. Rassi Jr A, Rassi A, Marcondes de Rezende J. American trypanosomiasis (Chagas disease). 2012.
2. Coura JR, Dias JC. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease: 100 years after its discovery. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2009;104 Suppl 1:31-40.
3. MINSAL. Norma general técnica: control y prevención nacional de la enfermedad de Chagas. Santiago, Chile. 2014:e98.
4. Lescure F, Le Loup G, Freilij Hea. Chagas disease: changes in knowledge and management. *Lancet Infect Dis*. 2010;10:556-70.
5. Hotez PJ, Bottazzi ME, Franco-Paredes C, Ault SK, Periago MR. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(9):e300.
6. Mathers CD, Ezzati M, Lopez AD. Measuring the burden of neglected tropical diseases: the global burden of disease framework. *PLoS Negl Trop Dis*. 2007;1(2):e114.
7. Benítez R, Renzo I, Catalán P, Avilés C. Profilaxis de enfermedad de Chagas en niños y adultos sometidos a trasplante de órganos sólidos y de precursores hematopoyéticos. *Rev Chil Infect*. 2012;29:41-3.
8. Dias JC. Southern Cone Initiative for the elimination of domestic populations of *Triatoma infestans* and the interruption of transfusional Chagas disease. Historical aspects, present situation, and perspectives. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2007;102 Suppl 1:11-8.
9. Hotez PJ, Dumonteil E, Woc-Colburn L, Serpa Ja, Bezek S, Edwards MS, et al. Chagas disease: "the new HIV/AIDS of the Americas". *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(5):e1498-e.
10. Guhl F. Chagas disease in Andean countries. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2007;102 Suppl 1:29-38.

11. Fuentes R, Maturana M, De la Cruz R. Eficacia de nifurtimox para el tratamiento de pacientes con enfermedad de Chagas crónica. *Rev Chil Infectol.* 2012;29(1):82-6.
12. Gascon J, Bern C, Pinazo MJ. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Trop.* 2010;115(1-2):22-7.
13. Barrett MP, Croft SL. Management of trypanosomiasis and leishmaniasis. *British medical bulletin.* 2012;104:175-96.
14. Zingales B, Miles MA, Moraes CB, Luquetti A, Guhl F, Schijman AG, et al. Drug discovery for Chagas disease should consider *Trypanosoma cruzi* strain diversity. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2014;0:0.
15. Rassi Jr A, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet.* 2010;375(9723):1388-402.
16. Britto CC. Usefulness of PCR-based assays to assess drug efficacy in Chagas disease chemotherapy: value and limitations. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2009;104 Suppl 1:122-35.
17. Sosa-Estani S, Viotti R, Segura EL. Therapy, diagnosis and prognosis of chronic Chagas disease: insight gained in Argentina. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2009;104 Suppl 1:167-80.
18. Coura JR, Borges-Pereira J. Chronic phase of Chagas disease: why should it be treated? A comprehensive review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2011;106(6):641-5.
19. Ribeiro I, Sevcsik AM, Alves F, Diap G, Don R, Harhay MO, et al. New, improved treatments for Chagas disease: from the R&D pipeline to the patients. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009;3(7):e484.
20. Zulantay I, Apt W, Valencia C, Torres A, Saavedra M, Rodriguez J, et al. Detection of *Trypanosoma cruzi* in untreated chronic chagasic patients is improved by using three parasitological methods simultaneously. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(10):2224-6.
21. Apt W, Arribada A, Zulantay I, Rodriguez J, Saavedra M, Munoz A. Treatment of Chagas' disease with itraconazole: electrocardiographic and

- parasitological conditions after 20 years of follow-up. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(9):2164-9.
22. Piron M, Fisa R, Casamitjana N, López-Chejade P, Puig L, Vergés M, et al. Development of a real-time PCR assay for *Trypanosoma cruzi* detection in blood samples. *Acta Trop.* 2007;103(3):195-200.
23. Duffy T, Bisio M, Altchek J, Burgos JM, Diez M, Levin MJ, et al. Accurate real-time PCR strategy for monitoring bloodstream parasitic loads in chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009;3(4):e419-e.
24. Marin-Neto JA, Rassi A, Jr., Morillo CA, Avezum A, Connolly SJ, Sosa-Estani S, et al. Rationale and design of a randomized placebo-controlled trial assessing the effects of etiologic treatment in Chagas' cardiomyopathy: the Benznidazole Evaluation For Interrupting Trypanosomiasis (BENEFIT). *American heart journal.* 2008;156(1):37-43.
25. Jackson Y, Chatelain E, Mauris A, Holst M, Miao Q, Chappuis F, et al. Serological and parasitological response in chronic Chagas patients 3 years after nifurtimox treatment. *BMC infectious diseases.* 2013;13:85.
26. Apt W, Arribada A, Zulantay I, Solari A, Sanchez G, Mundaca K, et al. Itraconazole or allopurinol in the treatment of chronic American trypanosomiasis: the results of clinical and parasitological examinations 11 years post-treatment. *Annals of tropical medicine and parasitology.* 2005;99(8):733-41.
27. Grijalva MJ, Teran D, Dangles O. Dynamics of sylvatic chagas disease vectors in coastal Ecuador is driven by changes in land cover. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(6):e2960.
28. Apt W, Zulantay I, Solari A, Ortiz S, Oddo D, Corral G, et al. Vertical transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Province of Choapa, IV Region, Chile: Preliminary Report (2005-2008). *Biological research.* 2010;43(3):269-74.
29. de Rissio AM, Scollo K, Cardoni RL. [Maternal-fetal transmission of *Trypanosoma cruzi* in Argentina]. *Medicina.* 2009;69(5):529-35.
30. Cortez C, Yoshida N, Bahia D, Sobreira TJ. Structural basis of the interaction of a *Trypanosoma cruzi* surface molecule implicated in oral infection with host cells and gastric mucin. *PLoS One.* 2012;7(7):e42153.

31. Tarleton RL. Immune system recognition of *Trypanosoma cruzi*. Current opinion in immunology. 2007;19(4):430-4.
32. Zulantay I, Apt W, Gil LC, Rocha C, Mundaca K, Solari A, et al. The PCR-based detection of *Trypanosoma cruzi* in the faeces of *Triatoma infestans* fed on patients with chronic American trypanosomiasis gives higher sensitivity and a quicker result than routine xenodiagnosis. Annals of tropical medicine and parasitology. 2007;101(8):673-9.
33. Schijman AG, Bisio M, Orellana L, Sued M, Duffy T, Mejia Jaramillo AM, et al. International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. PLoS Negl Trop Dis. 2011;5(1):e931.
34. Apt W. Treatment of Chagas Disease. Jenny Telleria MT, editor. Amsterdam: Elsevier Science; 2011.
35. Valencia CN, Mancilla M, Ramos D, Zulantay I, Molina M, Torres A. Tratamiento de la enfermedad de Chagas crónica en Chile . Efectos adversos de nifurtimox. Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología. 2012;71:97-108.
36. Apt W, Zulantay I. [Update on the treatment of Chagas' disease]. Revista medica de Chile. 2011;139(2):247-57.
37. Rassi A, Jr., Dias JC, Marin-Neto JA, Rassi A. Challenges and opportunities for primary, secondary, and tertiary prevention of Chagas' disease. Heart. 2009;95(7):524-34.
38. Burgos JM, Altcheh J, Petrucelli N, Bisio M, Levin MJ, Freilij H, et al. Molecular diagnosis and treatment monitoring of congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* to twins of a triplet delivery. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2009;65(1):58-61.
39. Moreira OC, Ramirez JD, Velazquez E, Melo MF, Lima-Ferreira C, Guhl F, et al. Towards the establishment of a consensus real-time qPCR to monitor *Trypanosoma cruzi* parasitemia in patients with chronic Chagas disease cardiomyopathy: a substudy from the BENEFIT trial. Acta Trop. 2013;125(1):23-31.
40. Kooy RF, Ashall F, Van der Ploeg M, Overdulve JP. On the DNA content of *Trypanosoma cruzi*. Mol Biochem Parasitol. 1989;36(1):73-6.

41. Bravo N, Muñoz C, Nazal N, Saavedra M, Martínez G, Araya E, et al. Real-Time PCR in faecal samples of *Triatoma infestans* obtained by xenodiagnosis: proposal for an exogenous internal control. *Parasites & vectors*. 2012;5:59-.
42. Schijman AG, Bisio M, Orellana L, Sued M, Duffy T, Mejia Jaramillo AM, et al. International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5(1):e931-e.
43. Maguire JH, Mott KE, Souza JA, Almeida EC, Ramos NB, Guimaraes AC. Electrocardiographic classification and abbreviated lead system for population-based studies of Chagas' disease. *Bulletin of the Pan American Health Organization*. 1982;16(1):47-58.
44. Lamas GA, Dawley D, Splaine K, Folland ED, Friedman PL, Antman EM. Documented symptomatic bradycardia and symptom relief in patients receiving permanent pacemakers: an evaluation of the joint ACC/AHA pacing guidelines. *Pacing and clinical electrophysiology : PACE*. 1988;11(7):1098-104.
45. Khare S, Liu X, Stinson M, Rivera I, Groessl T, Tuntland T, et al. Antitrypanosomal Treatment with Benznidazole Is Superior to Posaconazole Regimens in Mouse Models of Chagas Disease. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(10):6385-94.
46. Gobbi P, Lo Presti MS, Fernandez AR, Enders JE, Fretes R, Gea S, et al. Allopurinol is effective to modify the evolution of *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *Parasitol Res*. 2007;101(5):1459-62.
47. Andrade SG, Magalhaes JB, Pontes AL. Therapy of the chronic phase of the experimental infection by *Trypanosoma cruzi* with benzonidazole and nifurtimox. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 1989;22(3):113-8.
48. Moreira AA, de Souza HB, Amato Neto V, Matsubara L, Pinto PL, Tolezano JE, et al. [Evaluation of the therapeutic activity of itraconazole in chronic infections, experimental and human, by *Trypanosoma cruzi*]. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 1992;34(2):177-80.
49. Drug discovery for the treatment of leishmaniasis, African sleeping sickness and Chagas disease. *Future medicinal chemistry*. 2013;5(15):1709-18.

50. Murcia L, Carrilero B, Albajar Vinas P, Segovia M. Nifurtimox chemotherapy: collateral effects in treated *Trypanosoma cruzi* infected patients. Revista espanola de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia. 2012;25(1):74-5.
51. Cerisola JA, Neves da Silva N, Prata A, Schenone H, Rohwedder R. [Evaluation of the efficacy of nifurtimox in chronic human chagasic infection by using xenodiagnosis]. Boletin chileno de parasitologia. 1977;32(3-4):51-62.
52. Ferreira Hde O. [Treatment of the undetermined form of Chagas disease with nifurtimox and benznidazole]. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1990;23(4):209-11.
53. Viotti R, Vigliano C, Lococo B, Bertocchi G, Petti M, Alvarez MG, et al. Long-term cardiac outcomes of treating chronic Chagas disease with benznidazole versus no treatment: a nonrandomized trial. Annals of internal medicine. 2006;144(10):724-34.
54. Viotti R, Vigliano C, Armenti H, Segura E. Treatment of chronic Chagas' disease with benznidazole: clinical and serologic evolution of patients with long-term follow-up. American heart journal. 1994;127(1):151-62.
55. Moretti E, Cervetta L, Basso B, Castro I, Santamarina N. [Chronic Chagas' disease: effects of treatment on the levels of antibodies to crude and partially purified *Trypanosoma cruzi* antigens]. Boletin chileno de parasitologia. 1998;53(1-2):3-9.
56. Gallerano RR, Sosa RR. [Interventional study in the natural evolution of Chagas disease. Evaluation of specific antiparasitic treatment. Retrospective-prospective study of antiparasitic therapy]. Revista de la Facultad de Ciencias Medicas. 2000;57(2):135-62.
57. Fabbro DL, Streiger ML, Arias ED, Bizai ML, del Barco M, Amicone NA. Trypanocide treatment among adults with chronic Chagas disease living in Santa Fe city (Argentina), over a mean follow-up of 21 years: parasitological, serological and clinical evolution. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2007;40(1):1-10.

58. de Andrade AL, Zicker F, de Oliveira RM, Almeida Silva S, Luquetti A, Travassos LR, et al. Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *Lancet*. 1996;348(9039):1407-13.
59. Sosa-Estani S, Segura EL, Ruiz AM, Velazquez E, Porcel BM, Yampotis C. Efficacy of chemotherapy with benznidazole in children in the indeterminate phase of Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg*. 1998;59(4):526-9.
60. Coura JR, Borges-Pereira J. Chagas disease. What is known and what should be improved: a systemic review. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2012;45(3):286-96.
61. New York Heart Association., Harvey RjM. Nomenclature and criteria for diagnosis of diseases of the heart and great vessels. 7th ed. Boston,,: Little; 1973. xi, 347 p. p.
62. Abramson R, Figueroa P. [Therapeutic experience in a Chagas disease center]. *Revista medica de Chile*. 2013;141(11):1427-33.
63. Munoz C, Zulantay I, Apt W, Ortiz S, Schijman AG, Bisio M, et al. Evaluation of nifurtimox treatment of chronic Chagas disease by means of several parasitological methods. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013;57(9):4518-23.
64. Sosa-Estani S. Tratamiento de la enfermedad de Chagas. Experiencia en Argentina. V Reunión Nacional Integrada Prevención y Control de la enfermedad de Chagas - VI Simposio Internacional sobre la enfermedad de Chagas; 2015; Santiago. Chile.
65. Coura JR. Tratamiento de la enfermedad de Chagas. Experiencia en Brasil. V Reunión Nacional Integrada Prevención y Control de la enfermedad de Chagas - VI Simposio Internacional sobre la enfermedad de Chagas; 2015; Santiago. Chile.
66. Pinazo MJ, Thomas MC, Bustamante J, Almeida IC, Lopez MC, Gascon J. Biomarkers of therapeutic responses in chronic Chagas disease: state of the art and future perspectives. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2015;110(3):422-32.
67. Murcia L, Carrilero B, Saura D, Iborra MA, Segovia M. [Diagnosis and treatment of Chagas disease]. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*. 2013;31 Suppl 1:26-34.

68. Brener Z, Andrade ZA, Barral-Netto M. *Trypanosoma Cruzi* e Doença de Chagas. Rio de Janeiro, Brazil.2000. 405 p.
69. Britto C, Silveira C, Cardoso MA, Marques P, Luquetti A, Macedo V, et al. Parasite persistence in treated chagasic patients revealed by xenodiagnosis and polymerase chain reaction. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2001;96(6):823-6.
70. Fernandes CD, Tiecher FM, Balbinot MM, Liarte DB, Scholl D, Steindel M, et al. Efficacy of benznidazol treatment for asymptomatic chagasic patients from state of Rio Grande do Sul evaluated during a three years follow-up. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2009;104(1):27-32.
71. Gilber SR, Alban SM, Gobor L, Bescrovaine Jde O, Myiazaki MI, Thomaz-Soccol V. Comparison of conventional serology and PCR methods for the routine diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2013;46(3):310-5.
72. Morillo CA, Marin-Neto JA, Avezum A, Sosa-Estani S, Rassi A, Jr., Rosas F, et al. Randomized Trial of Benznidazole for Chronic Chagas' Cardiomyopathy. The New England journal of medicine. 2015;373(14):1295-306.
73. Sabino EC, Ribeiro AL, Lee TH, Oliveira CL, Carneiro-Proietti AB, Antunes AP, et al. Detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood by PCR is associated with Chagas cardiomyopathy and disease severity. European journal of heart failure. 2015;17(4):416-23.
74. Aguiar C, Batista AM, Pavan TB, Almeida EA, Guariento ME, Wanderley JS, et al. Serological profiles and evaluation of parasitaemia by PCR and blood culture in individuals chronically infected by *Trypanosoma cruzi* treated with benzonidazole. Tropical medicine & international health : TM & IH. 2012;17(3):368-73.
75. Britto C, Cardoso A, Silveira C, Macedo V, Fernandes O. Polymerase chain reaction (PCR) as a laboratory tool for the evaluation of the parasitological cure in Chagas disease after specific treatment. Medicina. 1999;59 Suppl 2:176-8.

76. Solari A, Ortiz S, Soto A, Arancibia C, Campillay R, Contreras M, et al. Treatment of *Trypanosoma cruzi*-infected children with nifurtimox: a 3 year follow-up by PCR. *J Antimicrob Chemother.* 2001;48(4):515-9.
77. Filardi LS, Brener Z. Susceptibility and natural resistance of *Trypanosoma cruzi* strains to drugs used clinically in Chagas disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 1987;81(5):755-9.
78. Tshako MH, Alves MJ, Colli W, Filardi LS, Brener Z, Augusto O. Comparative studies of nifurtimox uptake and metabolism by drug-resistant and susceptible strains of *Trypanosoma cruzi*. *Comparative biochemistry and physiology C, Comparative pharmacology and toxicology.* 1991;99(3):317-21.
79. Veloso VM, Carneiro CM, Toledo MJ, Lana M, Chiari E, Tafuri WL, et al. Variation in susceptibility to benznidazole in isolates derived from *Trypanosoma cruzi* parental strains. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2001;96(7):1005-11.
80. Apt W. Current and developing therapeutic agents in the treatment of Chagas disease. *Drug design, development and therapy.* 2010;4:243-53.

XII. Anexos

Anexo 1. Consentimiento informado proyecto Fondecyt 1100768.



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

1/2



ACTA DE APROBACIÓN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN SERES HUMANOS

Con fecha 03 de agosto de 2009, el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile, integrado por los siguientes miembros:

Dr. Manuel Oyarzún G., Médico Neumólogo, Presidente
Sra. Marianne Gaudlitz H., Enfermera, Mg. Humanidades, Vicepresidente
Dr. Hugo Amigo C., Ph. D., Especialista en Salud Pública
Dr. Leandro Biagini A., Médico Internista
Dra. Lucía Cifuentes, Médico Genetista
Sra. Nina Horwitz, Sociólogo, Mg. Bioética
Dr. Miguel O’Ryan, Médico Pediatra Infectólogo
Dr. Julio Pallavicini, Médico Psiquiatra

Ha revisado el Proyecto de Investigación titulado: **“Parasitemia cuantitativa y genotipificación clonal de cepas de Trypanosoma cruzi como estrategias de evaluación de eficacia en el tratamiento de la enfermedad de Chagas crónica (Quantitative parasitemia and clonal genotyping of Trypanosoma cruzi strains as evaluation strategies of the efficacy evaluation in the treatment of chronic Chagas disease)”** y cuyo investigador responsable es la **Dra. Inés Zulantay**, quien desempeña funciones en el **Laboratorio de Parasitología Básico-Clinico, Programa de Biología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.**

El Comité revisó los siguientes documentos del estudio:

- *Proyecto de investigación in extenso*
- *Consentimiento informado*
- *CV del investigador responsable y de los Co-investigadores*
- *Carta compromiso del investigador para comunicar los resultados del estudio una vez finalizado éste.*

El proyecto y los documentos señalados en el párrafo precedente han sido analizados a la luz de los postulados de la Declaración de Helsinki, de las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos CIOMS 2002, y de las Guías de Buena Práctica Clínica de ICH 1996.



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

2/2



Sobre la base de esta información el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile se ha pronunciado de la siguiente manera sobre los aspectos del proyecto que a continuación se señalan:

- a) Carácter de la población estudiada: Investigación terapéutica. 200 enfermos con Enfermedad de Chagas diagnosticada y no tratada.
- b) Utilidad del Proyecto: Proyecto de utilidad, estudiará cuantificación de la parasitosis pre y post tratamiento y sensibilidad del *Tripanosoma cruzi* al nifurtimox.
- c) Riesgos y Beneficios: Beneficios para los enrolados. Los investigadores señalan que todo sujeto participante recibirá tratamiento. Riesgos: molestias propias del tratamiento.
- d) Protección de los participantes: Asegurada en el Consentimiento Informado en su versión original del 18 de junio de 2009.
- e) Notificación oportuna de reacciones adversas: si ocurriesen, serán tratadas en el Servicio Público de Salud Coquimbo.
- f) El investigador responsable se ha comprometido a entregar los resultados del estudio a este Comité al finalizar el proyecto.

Por lo tanto, el comité estima que el estudio propuesto está bien justificado y que no significa para los sujetos involucrados riesgos físicos, psíquicos o sociales mayores que mínimos.

Este comité también analizó y aprobó el correspondiente documento de Consentimiento Informado en su versión original del 18 de junio de 2009, que se adjunta firmado, fechado y timbrado por el CEISH.

En virtud de las consideraciones anteriores el Comité otorga la aprobación ética para la realización del estudio propuesto, dentro de las especificaciones del protocolo.



Sra. Marianne Gaudlitz H.
Vicepresidenta
Comité de Ética en Investigación
en Seres Humanos

MGH/mva.
c.c.: Proy. 046-2009
Santiago, 06 de agosto de 2009.

Teléfono: 9786923 Fax: 9786189 Email: ceiha@med.uchile.cl

Anexo 2. Acta de aprobación proyecto de investigación en seres humanos Fondecyt 1100768.



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE LA
INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS



07 AGO. 2009

Anexo 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO
GRUPO DE ESTUDIO

PARASITEMIA CUANTITATIVA Y GENOTIPIFICACION CLONAL
DE CEPAS DE *Trypanosoma cruzi* COMO ESTRATEGIAS
DE EVALUACION DE EFICACIA EN EL TRATAMIENTO
DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS CRONICA

Nombre del Investigador Responsable: **DRA. INES ZULANTAY**
Institución: **UNIVERSIDAD DE CHILE**
Teléfonos: **9786753**

Nombre del Médico Responsable del Tratamiento: **DR. WERNER APT**
Institución: **UNIVERSIDAD DE CHILE**
Teléfonos: **9786122**

Estimado paciente.....

En la pesquisa de la infección chagásica en adultos procedentes de diversas localidades la IV Región efectuada por nosotros en los últimos años, hemos confirmado, a través de los exámenes de sangre, que usted tiene la enfermedad de Chagas, resultado que ya le hemos entregado a usted en un informe escrito.

Por este motivo, siempre y cuando usted acepte y cumpla con los requisitos señalados a continuación, la invitamos a participar en un estudio para recibir tratamiento con Nifurtimox, medicamento aceptado universalmente para este fin y que está disponible en su región a través del Servicio de Salud Coquimbo. Le explicaremos también los riesgos y los beneficios que tiene recibir este fármaco.

El objetivo de este estudio es tratar a adultos menores de 50 años con enfermedad de Chagas crónica procedentes de la Provincia de Choapa, que no tengan antecedentes de alcoholismo, insuficiencia cardíaca congestiva, insuficiencia hepática o renal importante y que en caso de ser mujeres, no estén embarazadas.



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE LA
INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS



07 AGO. 2009

Si Ud. acepta participar será sometido (a) a los siguientes **procedimientos**:

Por única vez antes del tratamiento

1. Se le extraerán 10 cc de sangre periférica para realizar: estudio serológico, parasitológico, pruebas hepáticas y hemograma.
2. Se le aplicará xenodiagnóstico, el cual consiste en aplicar en su antebrazo dos cajitas con vinchucas libres de infección durante 15 minutos.
3. Se le efectuará un electrocardiograma.
4. Se aplicará una encuesta.
5. Será atendida por médico parasitólogo.

De acuerdo a los resultados de los exámenes de laboratorio y a las condiciones físicas observadas en su evaluación médica, usted:

1. Será tratado con Nifurtimox (8-10 mg/Kg/día por 60 días), según protocolo aprobado por Comité de Etica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
2. La dosis diaria, será repartida en 2 tomas junto con los alimentos.
3. El fármaco se administrará, en lo posible, mediante Terapia Directamente Observada (en cada hospital y/o posta rural, un paramédico o un familiar responsable, supervisará la ingesta del medicamento).

Durante el tratamiento y al terminar el tratamiento:

1. Será citado por el médico encargado del tratamiento en el hospital correspondiente para realizar:
 - evaluación clínica
 - estudio de tolerancia
 - examen de pruebas hepáticas y hemograma mediante la extracción de 5 cc de sangre periférica, que no representa riesgo alguno para su salud.

Después del tratamiento, se le efectuarán 6 controles:

A los 3, 6, 9, 12, 18 y 24 meses, y en cada uno de ellos:

1. Se le extraerán 10 cc de sangre periférica para realizar: estudio serológico y parasitológico.
2. Se le aplicará xenodiagnóstico.
3. Se le tomará un electrocardiograma
4. Se aplicará una encuesta clínica, realizada por médico especialista.



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE LA
INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS



07 AGO. 2009

Riesgos que puede tener la administración de Nifurtimox: Puede producir ocasionalmente algunos de los siguientes efectos indeseados: náuseas, rash cutáneo (urticaria, eczema), baja de peso, malestar abdominal. En casos excepcionales, puede producir alteraciones hematológicas o de la función hepática y alteraciones neurológicas. Cualquier otro efecto o síntoma, usted deberá comunicarlo al médico tratante de su hospital o consultorio de origen o al Dr. Werner Apt en el teléfono 9786122 (Facultad de Medicina-Universidad de Chile, Santiago).

Costos del tratamiento: El Nifurtimox, fármaco con el que usted será tratado, será financiado por el Servicio de Salud Coquimbo, sin costo alguno para Ud. Todos los exámenes anteriormente mencionados tampoco tienen costo para usted.

Beneficios que puede tener la administración de Nifurtimox: Su participación en este trabajo le permitirá curar o mejorar de su afección, además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento y el mejor tratamiento de futuros pacientes chagásicos crónicos. Es importante señalar que en la etapa crónica de la enfermedad de Chagas, en que usted se encuentra, el porcentaje de curación es de alrededor de un tercio.

Compensación por participar en este estudio: Ud. no recibirá ninguna compensación económica por su participación en el estudio.

Confidencialidad de la información derivada de este estudio: Toda la información derivada de su participación en este estudio será confidencial. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será anónima.

Información adicional entregada a usted o a su médico tratante: ambos serán informados si durante el desarrollo de este estudio surgen nuevos conocimientos o complicaciones que puedan afectar su voluntad de continuar participando en este estudio.

Voluntariedad: Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria y se puede retirar en cualquier momento comunicándolo al investigador y a su médico tratante, sin que ello signifique modificaciones en el estudio y tratamiento habitual de su enfermedad. De igual manera su médico tratante o el investigador podrán determinar su retiro del estudio si consideran que esa decisión va en su beneficio.



UNIVERSIDAD DE CHILE
 FACULTAD DE MEDICINA
 COMITÉ DE ÉTICA DE LA
INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS



07 AGO. 2009

Complicaciones directamente relacionadas con la administración de

Nifurtimox: En el caso de que usted presente complicaciones derivadas del tratamiento con Nifurtimox, recibirá el tratamiento médico completo de dicha complicación, financiado por su centro de salud, y sin costo alguno para Ud. o su sistema previsional. Esto no incluye las complicaciones propias de su enfermedad y de su curso natural.

Derechos del participante: Si Ud. requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio puede llamar a:

Investigador Responsable de la Administración del Medicamento

DR. WERNER APT

Teléfonos: 56-2-9786122

Conclusión:

Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo mi consentimiento para que se realicen los procedimientos previos a la terapia, y si cumplo con los requisitos, recibir tratamiento con Nifurtimox y presentarme a los controles posteriores descritos en este documento.

 Nombre de la participante

 Firma

 Fecha

 Nombre de informante

 Firma

 Fecha

DRA. INES ZULANTAY

Nombre del investigador

 Firma

 Fecha

DR. WERNER APT

Nombre del investigador

 Firma

 Fecha

Si se trata de una paciente incompetente, registrar nombre del paciente y de su apoderado.