



Estudio epidemiológico, serológico y molecular de la enfermedad de chagas en la amazonía boliviana

Epidemiological, serological and molecular study of the chagas disease in the bolivian amazon

CALLAPA, JORGIA^{1*}

LINARES, MARCELO²

PAUCARA, MARIA¹

CERRUTO, YASHIRA¹

ROMERO, NARDA¹

SUXO, YAJAIRA¹

SOLETO, MARIO²

NINA, JUAN JOSÉ²

COAGUILA, GERMAN²

MATIJASEVIC, MAYELA²

MAIDA, VANIA²

ROBLES, MARITA²

BEJARANO, WILLI²

CAMPOS, ANA²

REVOLLO, SUSANA¹

FECHA DE RECEPCIÓN: 20 ABRIL DE 2018

FECHA DE ACEPTACIÓN: 16 DE MAYO DE 2018

Resumen

El presente estudio es parte del proyecto PIA-ACC.UMSA.01 "Búsqueda de Nuevas Zonas Endémicas de la Enfermedad de Chagas en la Amazonía Boliviana como efecto del Cambio Climático", el cual nos ha permitido realizar el estudio epidemiológico - serológico y molecular de la enfermedad de Chagas en personas asintomáticas habitantes de seis regiones de la Amazonía Boliviana: Riberalta; Guayaramerín; Cobija; Trinidad; San Joaquín y San Borja, quienes en su mayoría pertenecían a los diversos pueblos indígenas, afectados por la pobreza. La exploración clínica y las pruebas de diagnóstico serológico y molecular de la enfermedad de Chagas se realizaron a la población de cada región sin costo. La participación de la gente fue coordinada con la Central de Pueblos Indígenas del Beni y mediante la firma del consentimiento informado se sometieron al estudio

Abstract

The present study is part of the project PIA-ACC.UMSA.01 "Search for New Endemic Areas of Chagas Disease in the Bolivian Amazon as an effect of Climate Change", which has allowed us to carry out the epidemiological - serological and molecular study of Chagas disease in asymptomatic people living in six regions of the Bolivian Amazon: Riberalta; Guayaramerín; Cobija; Trinidad; San Joaquín and San Borja, who in their majority belonged to the diverse indigenous towns, affected by the poverty. Clinical exploration and serological and molecular diagnostic tests of Chagas disease were performed on the population of each region at no cost. The participation of the people was coordinated with the Central de Pueblos Indígenas del Beni (Central de Pueblos Indígenas del Beni) and by signing the informed consent all the volunteer participants were submitted to the study. A total of 338

1. Laboratorio de Genética Molecular, Instituto SELADIS, Universidad Mayor de San Andrés - La Paz-Bolivia

2. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Beni José Ballivián - Beni-Bolivia

* Correspondencia: jorgia76@gmail.com

todos los participantes voluntarios. Un total de 338 muestras fueron procesadas con las pruebas serológicas de ELISA; HAI e IFI y la prueba molecular de la PCR en punto final. La seropositividad fue del 6,2% (21 casos) y la PCR fue positiva en 3,8% (13 casos). Del total de casos Chagas positivo, el 42% fueron casos de migrantes de regiones endémicas como Cochabamba, Santa Cruz, Chuquisaca y Yungas de La Paz, Asimismo, se identificaron a los principales factores de riesgo asociados a la enfermedad constatando entre otros aspectos que los habitantes de estas regiones tienen escaso conocimiento sobre la enfermedad de Chagas; sin embargo están conscientes sobre la aparición de enfermedades extrañas en estas regiones debido a las variaciones climatológicas detectadas en los últimos años y evidencian su preocupación sobre los efectos negativos del cambio climático.

PALABRAS CLAVE

Enfermedad de Chagas,
Amazonía Boliviana,
Diagnóstico, Epidemiología

samples were processed with the ELISA serological tests; HAI and IFI and the molecular test of the PCR at the end point. The seropositivity was 6.2% (21 cases) and the PCR was positive in 3.8% (13 cases). Of the total positive Chagas cases, 42% were cases of migrants from endemic regions such as Cochabamba, Santa Cruz, Chuquisaca and Yungas de La Paz. Likewise, the main risk factors associated with the disease were identified, noting among other aspects that inhabitants of these regions have little knowledge about Chagas disease; however, they are aware of the appearance of strange diseases in these regions due to the climatic variations detected in recent years and evidence their concern about the negative effects of climate change

KEY WORDS

Chagas Disease, Bolivian
Amazon, Diagnosis,
Epidemiology

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es potencialmente mortal; su agente causal es el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, (OMS, 2017). Se transmite a los seres humanos principalmente por contacto con las heces infectadas por *T. cruzi* de insectos Triatomíneos de la familia Reduviidae, orden Hemiptera, subfamilia Triatominae, conocidos por varios nombres comunes según la zona geográfica (vinchucas, chinches, entre otros). Existen otras formas de transmisión de importancia epidemiológica como la transfusión de sangre o de sus componentes; los trasplantes de órganos y otros tejidos; verticalmente de la madre al feto; por ingestión de alimentos contaminados y por accidentes de laboratorio (Moya, M., y col. 2014)

Actualmente la enfermedad de Chagas ocupa el cuarto lugar en importancia a nivel mundial como causa de discapacidad, siendo Bolivia el país más afectado. El área de dispersión del vector de la Enfermedad de Chagas cubre aproximadamente el 60% del territorio boliviano principalmente en eco-regiones de los valles secos interandinos y en las regiones secas de las tierras bajas de los departamentos de Tarija, Chuquisaca y parcialmente Cochabamba, Santa Cruz, Potosí y La Paz (Lopez, M., Toledo, R., 2015). La prevalencia de la enfermedad de Chagas oscila alrededor del 20%, siendo más baja en los departamentos de La Paz y Potosí y más alta en los departamentos de Chuquisaca y Tarija (Ministerio de Salud, 2015).

Los estudios de exploración de la presencia de la enfermedad de Chagas en otros países amazónicos de Sud América datan desde hace muchos años y en los cuales se dan a conocer casos de Chagas positivos en muchos de ellos (Amunarriz, M., y col., 2010). La enfermedad de Chagas no es muy conocida en la Amazonía Boliviana y aún no ha sido considerada como región endémica de la enfermedad porque se presume que no existe transmisión local en la región; sin embargo las migraciones humanas, la antropización del medio ambiente y las variaciones climáticas detectadas principalmente en los últimos 10 años, pudieron provocar el desplazamiento de triatominos silvestres capaces de transmitir la enfermedad dando presuntamente lugar al origen del ciclo de transmisión humana. Es importante señalar también que ya en el año 2010 se reportó un brote de Chagas agudo en el Municipio de Guayaramerín del Departamento del Beni (Santalla, J. y col., 2011).

El presente trabajo contribuye al conocimiento del porcentaje de personas portadoras del parásito *T. cruzi* con métodos de diagnóstico serológico y molecular en seis regiones de la Amazonía Boliviana: Cobija; Riberalta; Guayaramerín; Trinidad; San Joaquín y San Borja y los factores de riesgo asociados a la enfermedad lo cual orientará a establecer una línea de base epidemiológica en la Amazonía Boliviana.

MATERIAL Y METODOS

Área de estudio

Las muestras fueron obtenidas de personas asintomáticas habitantes de 6 regiones de la Amazonía de Bolivia: Cobija. Riberalta, Guayaramerín, Trinidad, San Joaquín y San Borja. Las características propias de estas regiones son las siguientes: Cobija, cuya temperatura promedio es de 27 °C con una precipitación pluvial anual de 1.800 mm, altura de 235 m.s.n.m., su clima es tropical y lluvioso y su terreno está cubierto en gran parte por selva; Riberalta, que tiene una temperatura promedio de 26 °C, con una precipitación pluvial anual de 1.750 mm, altura de 172 m.s.n.m.; Guayaramerín, con una temperatura promedio de 28 °C, una precipitación pluvial anual de 1.754 mm y una altura de 172 m.s.n.m; Trinidad, con una temperatura promedio de 26 °C, una precipitación pluvial de 1.800 mm y una altura de 160 m.s.n.m.; San Joaquín, con una temperatura promedio de 26 °C, una precipitación pluvial de 1.700 mm y una altura de 179 m.s.n.m. y San Borja, con una temperatura promedio de 25 °C, una precipitación pluvial de 1.500 mm y una altura de 200 m.s.n.m.

Instrumentos de recolección de datos y muestras

El estudio utilizó una encuesta participativa en las visitas realizadas entre los meses de julio y agosto de 2016 a las regiones de Cobija, Riberalta y Guayaramerín; en el mes de julio de 2017 a las regiones de Trinidad, San Joaquín y San Borja. Con la ayuda de las encuestas como instrumento para la recolección de datos, se logró abordar el dialogo de saberes para la transferencia de conocimientos sobre la enfermedad de Chagas, las percepciones sobre el cambio climático y como confrontarlo. Dada la naturaleza y peculiaridad de

cada población, el número de participantes estuvo basado en la asistencia voluntaria de la gente a los centros de salud, en coordinación con los representantes de los Pueblos Indígenas Amazónicos.

En las encuestas se plantearon preguntas con el objetivo de evaluar las condiciones físicas de las viviendas, su cercanía a las palmeras, la presencia de animales intradomiciliarios y peridomiciliarios, consumo de jugos de fruto de palmeras entre otros. Los datos obtenidos, fueron procesados mediante el programa estadístico Epi-Info y así se ha logrado establecer los factores de riesgo asociados a la enfermedad de Chagas.

El muestreo para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas incluyó a personas asintomáticas de ambos sexos con edades entre 18 y 70 años. Las muestras biológicas obtenidas se han mantenido refrigeradas hasta su procesamiento, siguiendo protocolos estándar.

Pruebas de laboratorio

Las pruebas serológicas: HAI (Hemoaglutinación indirecta), ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), IFI (Inmunofluorescencia indirecta) y la prueba molecular de la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) en punto final, fueron realizadas en el laboratorio de Genética Molecular del Instituto SELADIS de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor de San Andrés.

Pruebas serológicas

En las pruebas serológicas, sobre cada muestra se realizaron dos, una de hemoaglutinación indirecta HAI (POLYCHACO) y una de enzoinmunoensayo ELISA - Chagatest (NOVATEC); para la confirmación, se hizo una tercera IFI (inmunofluorescencia indirecta). Se consideraron positivas aquellas muestras con las que se obtuvo un resultado positivo en dos pruebas.

En la prueba de ELISA, se utilizó el kit de Chagatest NovaTec inmunodiagnóstica GmbH y se siguieron sus instrucciones. La lectura se hizo en un espectrofotómetro a una densidad óptica de 450 nm, se consideró como muestra reactiva aquella superior al punto de corte (Cut-off),

La técnica HAI se realizó con el kit HAI CHAGAS POLYCHACO, siguiendo sus instrucciones. Se trata de un ensayo de hemoaglutinación indirecta mediante el cual los eritrocitos son sedimentados de acuerdo a la unión del antígeno de *T. cruzi* a la superficie del eritrocito.

La técnica de IFI, inmunofluorescencia indirecta, se realizó empleando como antígeno cepas nativas de *T. cruzi*, los resultados fueron elaborados tomando en cuenta aquellas muestras de sueros con títulos mayores o iguales que la dilución 1/32.

Prueba Molecular

La prueba molecular estuvo basada en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR en punto final), donde a partir de 1 mililitro de la muestra de

sangre, se realizó la extracción de ADN con proteinasa K en una concentración de 20 mg/ml, extracción orgánica fenol-cloroformo y posterior precipitación del material genético obtenido con etanol absoluto y acetato de sodio 3 Molar. Posteriormente se realizó la amplificación del ADN obtenido basado en el protocolo de Eva Harris (1998) utilizando los primers S35: 5'-AAA TAA TGT ACG GKG GAG ATG CAT GA-3' (K = G/T) y S36: 5'-GGG TTC GAT TGG GGT TGG TGT-3', utilizando un protocolo de amplificación de 30 ciclos: 1 minuto a 94 °C de desnaturalización, 1 minuto a 60 °C de hibridación y 1 minuto a 72 °C de polimerización, en un termociclador Veriti de Applied Biosystems con un producto de amplificación de 330 pares de bases que fue visualizado por electroforesis vertical en geles de agarosa al 1.5%.

RESULTADOS

Participación de los pobladores de la Amazonía Boliviana

En la Tabla 1, se aprecian los datos de la estimación en porcentaje de participación de la gente en el estudio epidemiológico de la enfermedad de Chagas en las regiones de Cobija, Riberalta, Guayaramerín, Trinidad, San Joaquín y San Borja tanto de varones como de mujeres siendo mayor el porcentaje de mujeres participantes (73%) en comparación con la participación de los varones (27%). Todas las personas fueron asintomáticas con edades entre 18 y 70 años y su participación fue voluntaria.

Tabla 1. Número y porcentaje de varones y mujeres participantes en el estudio epidemiológico de la enfermedad de Chagas en 6 regiones de la Amazonia Boliviana

LUGAR	NUMERO Y PORCENTAJE DE PARTICIPANTES		
	VARONES	MUJERES	TOTAL
COBIJA	5 (10,2%)	44 (89,8%)	49
RIBERALTA	18 (30%)	42 (70%)	60
GUAYARAMERIN	26 (31,3%)	57 (68,7%)	83
TRINIDAD	12 (21%)	45 (79%)	57
SAN JOAQUIN	13 (27%)	35 (73%)	48
SAN BORJA	17 (39,5%)	26 (60,5%)	43
TOTAL	91 (27%)	249 (73%)	340

Resultados de las encuestas participativas

En la muestra poblacional estudiada (n=340) los resultados generales de las entrevistas y encuestas respecto a las condiciones de las viviendas en las regiones de la Amazonía de Bolivia, reflejaron lo siguiente: El 68% de las viviendas cuenta con luz eléctrica; el 40% de las viviendas tienen cercanía a las palmeras; en el 76% hay presencia de animales domésticos; el 16% de las viviendas tienen techos construi-

dos con ramas de palmeras; el 35% tienen paredes de tablas de madera. Respecto al conocimiento sobre la enfermedad de Chagas, el 53% de la gente entrevistada la desconocía y una mayoría (> 90%) no tiene noción sobre algún tratamiento alternativo para la enfermedad de Chagas, solamente 2 personas dieron detalles de cómo podría tratarse la enfermedad de Chagas utilizando yerbas medicinales, una persona es representante de los pueblos indígenas del Beni en Trinidad y la otra persona es perteneciente al pueblo indígena Tsiman, Puerto Codo en San Borja. Esas personas afirmaron que conocen a las yerbas para tratar la enfermedad pero no dieron los nombres de tales plantas. Otro dato importante es que un porcentaje importante (68%) de la gente entrevistada, no sabe sobre los efectos del cambio climático ni como confrontarlo.

En total, se colectaron 338 muestras de sangre de los 340 participantes en las 6 regiones estudiadas, algunas muestras no se consideraron para el estudio debido a factores como roturas durante el transporte, poca muestra o extravío de muestra.

En la Fig. 1, se muestran los trabajos realizados con la gente en las regiones, en las cuales se contó con la participación del equipo de investigadores de la Universidad Mayor de San Andrés, junto con la participación del equipo de investigadores de la Universidad Autónoma del Beni José Ballivián.

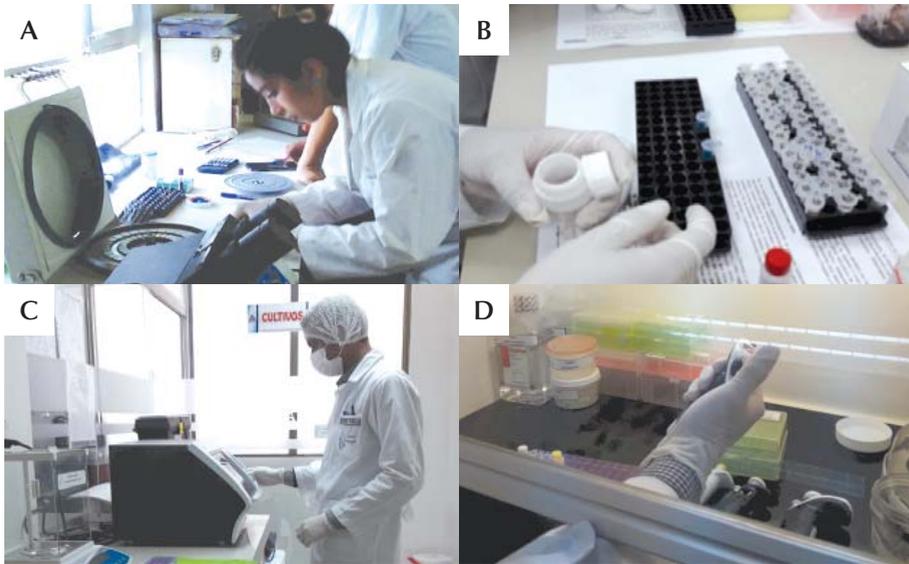
Fig. 1 Imágenes de las actividades del proyecto: A) Coordinación para el inicio de la campaña; B) Dialogo de saberes, transferencia de conocimientos; C) y D) Toma de muestra



Resultados de las pruebas de diagnóstico serológico y molecular

Las pruebas serológicas (ELISA, HAI, IFI) y la prueba molecular de la PCR en punto final fueron realizadas en el Laboratorio de Genética Molecular del Instituto SELADIS (Fig. 2).

Fig. 2 Proceso de las muestras para el diagnóstico serológico (A, B) y molecular (C, D) en el laboratorio de Genética Molecular del Instituto SELADIS (pruebas serológicas y PCR)



En la Tabla 2 se muestran los resultados del diagnóstico serológico y molecular de la enfermedad de Chagas en personas de 6 regiones de la Amazonía Boliviana: Cobija, Riberalta, Guayaramerín, Trinidad, San Joaquín y San Borja. Se tomaron en cuenta los criterios de la OMS y fueron consideradas muestras positivas de infección por *T. cruzi*, cuando al menos dos pruebas serológicas dan el mismo resultado de positividad. En la Fig. 3 y 4 se muestran las imágenes de los resultados de las pruebas serológicas. En la Fig. 5 se muestra la imagen del gel de agarosa representativo de la amplificación por PCR de la región variable del kADN del *T. cruzi* en muestras de sangre de algunos participantes del estudio en la Amazonía.

Fig. 3 A) Placa ELISA con resultados de muestras de pacientes de Riberalta con sus respectivos controles, B) Placa HAI con resultados de muestras de pacientes de Riberalta con sus respectivos controles

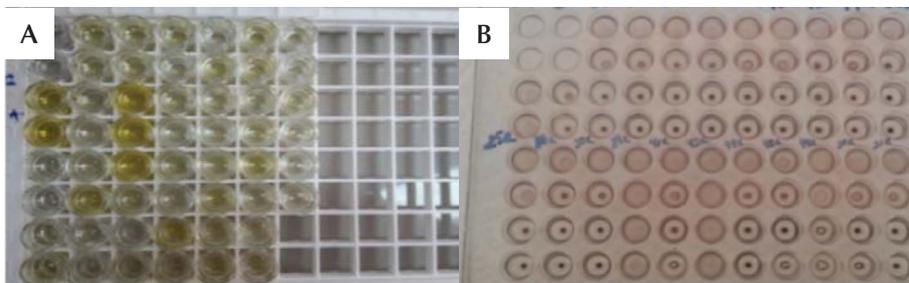


Fig.4 IFI aplicada a suero de paciente utilizando antígenos de epimastigotes de *T. cruzi* observado en microscopio de fluorescencia a 1000X: A) IFI positivo; B) IFI negativo 330 PB

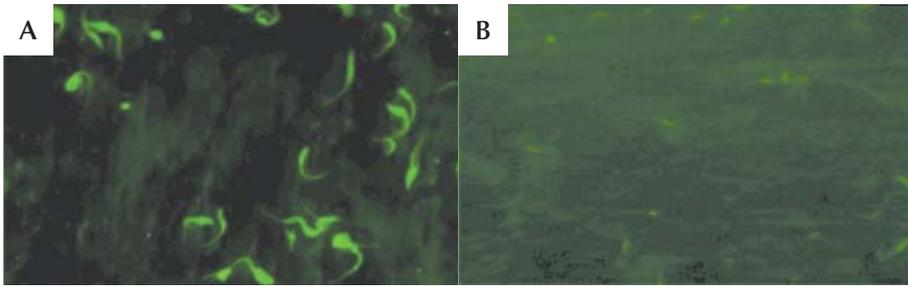


Fig. 5 Gel de agarosa representativo de la amplificación por PCR de la región variable del kADN del *T. cruzi* en muestras de sangre de pacientes de la Amazonía Boliviana (Trinidad: M2, M12, M17, M19, M23, M25, M44, M50. San Borja: M4, M6, M8, M11. San Joaquín: M19) C+: control positivo, C-: control negativo, L: marcador de peso molecular

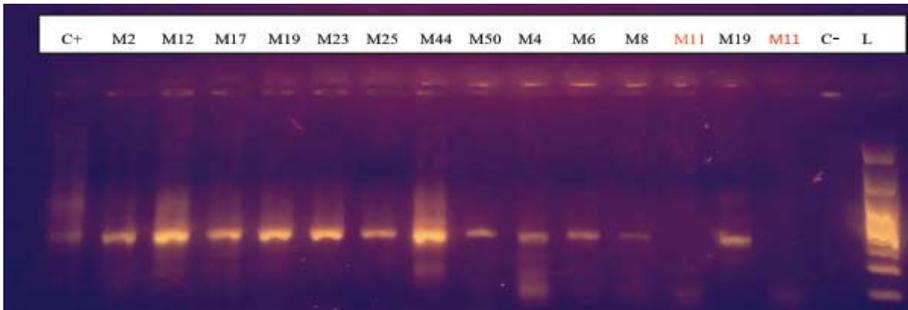


Tabla 2. Resultados del diagnóstico serológico y molecular de la enfermedad de Chagas en pacientes de 6 regiones de la Amazonía Boliviana (datos estimados en porcentaje)

PACIENTES	LUGARES						TOTAL
	COBIJA	RIBER-ALTA	GUAYARA-MERIN	TRINIDAD	SAN JOAQUIN	SAN BORJA	
Nº de Pacientes	49	60	83	55	48	43	338
Positivos ELISA	6 (12,2%)	7 (11,7%)	13 (15,7%)	5 (9,1%)	2 (4,2%)	8 (18,6%)	41 (12,1%)
Positivos HAI	3 (6,1%)	7 (11,7%)	10 (12%)	4 (7,2%)	2 (4,2%)	7 (16,3%)	33 (9,7%)
Positivos HAI-ELISA	2 (4,1%)	4 (6,7%)	5 (6%)	3 (5,45%)	1 (2,1%)	5 (11,6%)	21 (6,2%)
Positivos PCR	0	1 (1,7%)	0	8 (14,5%)	1 (2,1%)	3 (6,9%)	13 (3,8%)

Como se puede ver en la Tabla 2, los datos exhibidos constatan de las 49 muestras de los pacientes de Cobija, 2 muestras dieron resultado seropositivo

para las pruebas ELISA y HAI, siendo por lo tanto el porcentaje de infección equivalente al 4,1%. Las 2 muestras corresponden a personas de ambos sexos, una (1) mujer de 42 años de edad y un (1) varón de 41 años de edad. Todas las muestras de sangre de los pacientes de Cobija fueron analizadas por la técnica PCR en punto final y resultaron negativas.

Los resultados de las muestras de pacientes de Riberalta revelaron de las 60 muestras analizadas, 4 muestras dieron resultado seropositivo para las pruebas ELISA y HAI; de las 4 muestras, 1 muestra resultó positiva para IFI, siendo el porcentaje de infección del 6,7%. Las 4 muestras corresponden a tres (3) mujeres menores de 40 años de edad y una (1) mujer de 63 años de edad. Todas las muestras de sangre de los pacientes de Riberalta fueron analizadas por la PCR en punto final y solo una muestra resultó positiva.

Los resultados de las muestras de pacientes de Guayaramerín dejaron ver 83 muestras analizadas, 5 muestras dieron resultado seropositivo para las pruebas de ELISA y HAI, confirmándose 1 muestra con IFI, siendo el porcentaje de infección del 6%. Las 5 muestras corresponden a 3 mujeres con edades entre 28 a 60 años de edad y a 2 varones de 42 y 19 años de edad, respectivamente. Todas las muestras de sangre de los pacientes de Guayaramerín fueron analizadas por la técnica PCR en punto final y resultaron negativas.

Los resultados de las muestras de pacientes de Trinidad evidencian de 55 muestras analizadas, 3 muestras dieron resultado seropositivo para las pruebas ELISA y HAI, siendo el porcentaje de infección del 5,45%. Las muestras corresponden a 1 mujer de 49 años de edad natural de Santa Ana de Yacuma, a 1 mujer de 55 años de edad, natural de Trinidad y a 1 varón de 20 años de edad natural de Trinidad. Todas las muestras de sangre de Trinidad fueron analizadas por la técnica PCR en punto final y 8 muestras resultaron positivas (14,5%).

Los resultados de las muestras de pacientes de San Joaquín evidencian de las 48 muestras analizadas, solo 1 muestra presentó resultado seropositivo para las pruebas de ELISA y HAI, confirmando el mismo con la prueba IFI, siendo el porcentaje de infección del 2,1%. La muestra corresponde un varón de 66 años de edad natural de Sud Yungas del departamento de La Paz. Todas las muestras de sangre de los pacientes de San Joaquín fueron analizadas por la técnica PCR en punto final y 1 muestra resultó positiva.

Los resultados de las muestras de pacientes de San Borja revelan de 43 muestras analizadas, 5 muestras dieron resultado seropositivo para las pruebas de ELISA y HAI, siendo el porcentaje de infección del 11,6%. Las 2 muestras corresponden a mujeres con edades de 49 años natural de Santa Cruz, de 70 años natural de Sucre. Las restantes 3 muestras corresponden a 1 varón de 47 años natural de Irupana, a un varón de 38 años natural de la población de Cuevo del departamento de Santa Cruz y a un varón de 57 años natural de Sucre. Todas las muestras de sangre de los pacientes de San Borja fueron analizadas por la técnica PCR en punto final y 3 muestras resultaron positivas (6,9%).

Factores de riesgo y su relación con los casos positivos

En la Tabla 3 se muestran los datos en porcentaje de importantes factores de riesgo asociados a la enfermedad de Chagas en personas con Chagas positivo.

Tabla 3. Importantes factores de riesgo asociados a la enfermedad de Chagas incluidos en la encuesta de las personas Chagas positivo

REGIÓN	SEXO		ACTIVIDAD				CONDICIONES DE VIVIENDA								CONSUMO DE JUGO DE FRUTO DE PALMERA			
	Varones	Mujeres	Agrucultor	Lab. de casa	Empleado	Otros	PARED			TECHO			PALMERAS		ANIMALES		SI	NO
							Madera	Ladrillo sin revoque	Adobe	Tejas	Calamina	palma de motacti	SI	NO	SI	NO		
Guayara merín	2	3	0%	66%	17%	17%	50%	0%	17%	83%	0%	40%	60%	33%	67%	100%	0%	
Riberalta	0	4	0%	50%	25%	25%	75%	0	25%	50%	25%	100%	0%	100%	0%	50%	50%	
Cobija	1	1	50%	50%	0%	0%	0%	0%	100%	0	0	100%	0%	100%	0%	100%	0%	
Trinidad	4	6	10%	10%	30%	50%	40%	10%	20%	70%	10%	30%	70%	30%	70%	20%	80%	
San Joaquín	1	1	0%	0%	100%	0%	50%	0%	50%	0%	50%	50%	50%	50%	50%	0%	100%	
San Borja	3	3	17%	17%	17%	50%	50%	10%	17%	83%	0%	67%	33%	67%	33%	17%	83%	

De los casos Chagas positivo en Guayaramerín (n=5), 2 son varones y 3 son mujeres; el 66% tiene actividad de labores de casa; el 50% tiene la pared de su vivienda de madera; 83% tiene el techo de calamina; solo el 33% tiene palmeras en su peridomicilio; el 33% tiene animales domésticos y el 100% consume jugo de fruto de palmera. De los casos Chagas positivo en Riberalta (n=4) las 4 son mujeres; son agricultoras y amas de casa; el 25% tiene la pared de su vivienda de madera; 25% tiene el techo con palmas de motacú; el 100% tiene palmeras en su peridomicilio; el 100% tiene animales domésticos y el 50% consume jugo de fruto de palmera. De los casos Chagas positivo en Cobija (n=2), 1 varon agricultor y 1 mujer ama de casa; tienen la pared de su vivienda de madera y ladrillo; techo de calamina; tienen palmeras y animales domésticos en su peridomicilio; ambos consumen jugo de fruto de palmera. De los casos Chagas positivo en Trinidad (n=10), 4 son varones y 6 son mujeres; el 10% tiene actividad de labores de casa y agricultor; el 50% tiene la pared de su vivienda de madera; 70% tiene el techo de calamina, 10% techo con palmas de motacú; solo el 30% tiene palmeras y animales domésticos en su peridomicilio y el 20% consume jugo de fruto de palmera. De los casos Chagas positivo en San Joaquín (n=2), 1 varon y 1 mujer; ambos son empleados; tienen la pared de su vivienda de madera y ladrillo; tienen el techo de calamina y palma de motacú; 1 de ellos tiene palmeras y animales en su peridomicilio y no consumen jugo de fruto de palmera. De los casos Chagas positivo en Guayaramerín (n=5), 2 son varones y 3 son mujeres; el 66% tiene actividad de labores de casa; el 50% tiene la pared de su vivienda de madera; 83% tiene el techo de calamina; solo el 33% tiene palmeras en su peridomicilio; el 33% tiene animales domésticos y el 100% consume jugo de fruto de palmera. De los casos Chagas positivo en San Borja (n=6), 2 son varones y 3 son mujeres; el 17% tiene actividad de labores de casa, 17% son agricultores; el 40% tiene la pared de su vivienda de madera; 83% tiene el techo de calamina; el 67% tiene palmeras y animales domésticos en su peridomicilio y solo el 17% consume jugo de fruto de palmera.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio dan cuenta de la presencia de la enfermedad de Chagas en 6 regiones de la Amazonía Boliviana: Riberalta; Cobija; Guayaramerín; Trinidad; San Joaquín y San Borja en personas asintomáticas habitantes de estas regiones. Si bien, se ha determinado con diagnóstico serológico y molecular el porcentaje positividad para la enfermedad de Chagas, se debe aclarar que los ensayos de laboratorio para el diagnóstico adecuado de la enfermedad de Chagas dependen de la etapa clínica del paciente. En nuestro estudio, el diagnóstico de la enfermedad de Chagas se basó en la determinación de anticuerpos contra el parásito en muestras de suero de pacientes mediante pruebas (ELISA, HAI, IFI) y la reacción en cadena de la polimerasa PCR en punto final para la detección del kADN del parásito en las muestras de sangre. Asimismo, debemos tomar en cuenta que luego de la infección con *T. cruzi*, éste resulta extraño al cuerpo humano y el sistema inmunológico forma anticuerpos específicos contra el parásito, los cuales se encuentran en el suero de la persona demorando aproximadamente dos se-

manas para ser detectables, por lo que un examen puede salir negativo aunque aconteciera una infección reciente. Asimismo, se debe considerar que los anticuerpos pueden permanecer más tiempo en la sangre que el parásito y un examen puede salir positivo aunque el parásito haya sido eliminado por terapia o si la infección fue eliminada por reacción propia del organismo humano.

La técnica de la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) es una forma sensible para detectar la presencia directa del parásito en la sangre; este método de biología molecular, multiplica el genoma (ADN) del parásito y lo hace visible a través de un colorante fluorescente. Detecta al menos 1 parásito/ml de sangre; sin embargo, en una infección crónica ello no se puede descartar con seguridad (por la posible ausencia de parásitos en la sangre periférica). Un resultado positivo por otro lado, comprueba la detección de *T. cruzi* en una etapa aguda de la enfermedad de Chagas (Chipman T., 2006). Un estudio realizado por Bettina y colaboradores en Argentina, con 17 pacientes diagnosticados con Chagas por técnicas serológicas, 13 en estado agudo y 4 en estado crónico, mostró que la PCR detectó la presencia de *T. cruzi* en el 50% de los pacientes con infección crónica y en el 80% de los pacientes en estado agudo que no recibieron ningún tipo de tratamiento (Bettina, B., y col., 2001). La concordancia de la prueba de PCR con la serología varía, dependiendo particularmente de la presencia del parásito en la sangre en el momento de tomar la muestra (Martínez, I. y col. 2013).

Para determinar si la infección detectada es presuntamente importada o es autóctona, se analizaron los lugares de nacimiento de los pacientes: Los pacientes Chagas positivo de Guayaramerín y Riberalta son todos del lugar; los 2 pacientes de Cobija, son de Santa Cruz; de los pacientes Chagas positivo de Trinidad, 1 es de Cochabamba; el paciente con Chagas positivo de San Joaquín, es de La Paz; en San Borja los 5 pacientes con Chagas positivo son de diferentes lugares (Sucre, Santa Cruz, Yungas - La Paz y Chuquisaca). Del total de casos Chagas positivo, el 42% fueron casos de personas naturales de regiones endémicas.

Si bien, la región Amazónica de Bolivia aún no es considerada como endémica para la enfermedad de Chagas; ya en el año 2010 se dio a conocer el primer brote de Chagas agudo en Beni, cuando se detectó infección en 14 pacientes de la comunidad de San Miguel en la región de Guayaramerín, siendo la causa de dicha infección el consumo de jugo de fruto de majo que se recolecta de las palmeras que abundan en la región (Santalla, J. y col., 2011). Además se han reportado varios estudios sobre la presencia del vector de la enfermedad de Chagas en regiones amazónicas como del norte del Departamento de La Paz, uno de ellos es la identificación de especies de triatominos del Género *Rhodnius* en una región de la provincia Iturrealde (Buitrago, R. y col., 2016).

Un logro importante a destacar es la transferencia de conocimientos sobre la enfermedad de Chagas a la gente principalmente perteneciente a los pueblos indígenas. Los datos obtenidos de las encuestas personales indican que el porcentaje de mujeres participantes del estudio fue mayor (73%) en comparación con la participación de los varones (27%). La mayoría de las personas tienen sus viviendas cerca a las palmeras y la presencia de anima-

les domésticos es importante, además muchas de las personas entrevistadas mencionaron que consumen frutos de palmera en forma de jugos regularmente. Además, han identificado a los principales factores de riesgo para la presencia de los vectores de la enfermedad de Chagas en los domicilios de las personas Chagas positivo, como son: las condiciones de vivienda; existencia de reservorios - animales domésticos y palmeras en los peridomicilios entre otros; sin embargo, se ha tomado especial interés en el consumo de jugo fruto de palmera y su relación con la infección por vía oral constatando un importante porcentaje de personas Chagas positivo que consume jugo de fruto de palmera, lo cual es un dato preocupante debido a que en los últimos diez años, la forma de transmisión oral ha llamado la atención en los países de la Cuenca Amazónica por los reportes de microbrotes de la enfermedad de Chagas agudo en estas regiones y su presencia tanto en áreas urbanas como rurales los cuales fueron asociados con la ingesta de alimentos o bebidas contaminadas con el parásito, considerando a esta forma de transmisión como reemergente, con amplia morbilidad y mortalidad comparada con las otras vías de infección (Díaz, M., Gonzales, I., 2014; Rueda, K. y col., 2014).

AGRADECIMIENTOS

El estudio es parte del proyecto “Búsqueda de nuevas zonas endémicas de la enfermedad de Chagas en la Amazonía Boliviana como efecto del Cambio Climático” PIA-ACC-UMSA.01 financiado por la Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación COSUDE a través del PIA-ACC (Proyecto de Investigación Aplicada para la Adaptación al Cambio Climático).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amunarriz, M., Quito, S., Tandazo V., López, M., 2010, Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en el cantón Aguarico, Amazonía ecuatoriana, Revista Panamericana de la salud, vol. 28 N°1 6p.
- Bettina, B., Horacio, L., Gorodner, J., 2001, Utilidad de la técnica de PCR en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, Instituto de Biología Molecular, Revistas Médicas, 3: 1-4.
- Buitrago, R., Breniere, S., Taborga, X., Quispe, R., Revollo, S. (2016): Identificación genética del agente causal y el insecto vector de la enfermedad de Chagas circulante en la Amazonía Boliviana: Provincia Iturrealde, Con-Ciencia, 4: 1
- Chipman T., (2006): Polymerase chain reaction (PCR) evaluation of three primer pairs for detection of trypanosomiasis cruzi (chagas disease) in clinical samples, Saint Martin's University Biology Journal, Vol 1.
- Díaz, M., Gonzales, I., (2014): Enfermedad de Chagas Agudo: Transmisión oral de *Trypanosoma cruzi* como una vía de transmisión reemergente, Rev. Univ. Ind., Santander. Salud, Vol. 46, 2.
- Harris Eva (1998): A low - Cost Approach to PCR Appropriate transfer of Biomolecular Techniques, New York, Oxford University Press, Edited by, Nazreen Kadir, 299 p.
- Lopez., M., Toledo, R., (2015) Prevalencia de la enfermedad de Chagas entre 15-45 años que acuden al Hospital Capinota, Gaceta Médica Boliviana 38, 2.
- Martínez, I., Cervantes, A., Espinoza, B., 2013, Diagnóstico Molecular de la enfermedad de Chagas, Gaceta Médica de México, 149: 363-365.
- Moya, M., Palacio, L., Erazo, K., Palacio, C. (2014): Manifestaciones bucales de la enfermedad de Chagas, Medica UIS, Bucaramanga, Colombia, 27: 3
- Ministerio de Salud, Estado Plurinacional de Bolivia (2015): Revista Epidemiológica, La Paz Bolivia, 100 pp.
- Organización Mundial de la Salud, centro de prensa, nota descriptiva, marzo de 2017.
- Rueda, K., Trujillo, J., Carranza, J., Vallejo, G., 2014, Transmisión oral de *Trypanosoma cruzi*: Una nueva situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países Suramericanos, Biomédica, 34: 631-641.
- Santalla, J., Oporto, P., Espinoza E., Rios, T., Brutus, L. (2011): Primer brote de la enfermedad de Chagas en la Amazonía Boliviana: reporte de 14 casos agudos por transmisión oral de *Trypanosoma cruzi* en Guayaramerin, Beni-Bolivia, Biofarbo, 19: 1

