

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Materiales

1. Materiales para la toma de la muestra

Material	Casa Comercial/ Observaciones
Papel filtro Whatman no.1	Fisher Scientific, Pittsburg, PA
Electrocardiógrafo	MAC 1200 de General Electric
Electrodos	Silver Mactrode Plus, GE Medical Systems
Papel electrocardiográfico	Marquette Hellige, Medical Systems
Lancetas estériles #20	Monolet
Aparato para lancetas	ProCare™
Guantes	High Five y N-Dex
Descartes para lancetas	Winfield
Pañales azules	Daigger
Hieleras pequeñas y grandes	Igloo
Bolsas pequeñas y grandes	Ziplock
Algodón	Droguería Jose Gil
Alcohol medicinal	Drogería Jose Gil
Tubos capilares	Microhematocrito Heparinizado LABC
Microcentrifuga	Hettich Haemotokrit
Baterías (icepack)	Refreeze
Bolsas de descarte para material biológico	Winfield
Computadora portátil	---
Material educativo	Carteles sobres la Enfermedad de Chagas
Consentimiento informado	---
Etiquetas y cartones	Estos deben tener el número correlativo para cada participante

2. Materiales para ELISA

Material	Casa Comercial
Cloruro de Potasio	Merck
Leche descremada en polvo	Dos Pinos
Anticuerpo anti humano IgG-conjugado a peroxidasa	Biosource, Sunnyvale, CA
TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina)	Kirkegaard and Perry Laboratories, Gaithersburg, MD
Cloruro de Sodio	Merck
Fosfato de sodio dibásico	Sigma
Tween 20	Sigma
Anti foam A	Sigma
Acido Sulfúrico	Merck
Placas de ELISA	Immulon IV
Lector de ELISA	Molecular Devices, Sunnyvale, CA
Micropipetas de 10, 20, 100, 1000 μ l	Nichiryo, Nichipet
Pipeta multicanal de 20-200 μ l	Costar
Puntas para micropipetas	Rainin

B. Métodos

1. Población de estudio. Se estudiaron dos comunidades del municipio de San Pedro Pinula en el departamento de Jalapa: Agujitas y El Carrizalito. Estas comunidades fueron seleccionadas debido a que en un estudio previo realizado en niños de edad escolar en esta región, se encontró que los porcentajes de seropositividad para la ECh eran de 10% y 30%, respectivamente.

2. Tamaño de muestra. El tamaño de la muestra se calculó utilizando StalCalc Epi-Info Ver. 6.02b. Los valores que se utilizaron para esto fueron los siguientes: seroprevalencia para la ECh 15%; poder 90% y un nivel de confianza del 95% (error alfa). Basados en datos de estudios previos se estimó que un 5% de la población en general presenta problemas cardíacos. Con estos valores el tamaño de muestra resultante fue de 414 individuos. Ésta se aumentó en un 15% resultando entonces 478 individuos, tomando en cuenta la pérdida por hemólisis y o muestra insuficiente.

3. Criterios de inclusión/ exclusión de participantes

a. Criterios de inclusión

- 1) Hombres o mujeres de 18 ó más años de edad
- 2) Tener 10 ó más años de residir en el área endémica de Chagas
- 3) Que acepte participar voluntariamente en el estudio firmando el consentimiento voluntario de participación (Anexo 1).

b. Criterios de exclusión:

- 1) Haber recibido tratamiento específico para la ECh en los 12 meses previos al estudio.
- 2) Tener evidencia clínica de estar padeciendo enfermedades endocrinológicas, inmunológicas o sistémicas.

4. Presentación del proyecto y convocación de la comunidad. Se convocó a la comunidad al salón comunitario, donde se les dio una plática informativa. Esta plática consistió en proporcionar información acerca de la ECh, distribución en Guatemala, el parásito, los vectores, problemas cardíacos, prevención e importancia (Anexo 2). Luego se les explicó el objetivo del estudio, los riesgos y beneficios de participar en el mismo. Se les invitó a participar voluntariamente explicándoles el contenido del consentimiento de participación voluntaria, y se les pidió que lo firmaran, para poder incluirlos en el estudio.

5. Recolección de la información. Después de firmar el consentimiento de participación voluntaria, se les asignó un ID único. Este se utilizó para identificar el cuestionario y las muestras que se obtuvieron del participante. El ID, número correlativo que se le dio a cada participante, constas de dos letras que hacen referencia al proyecto, luego el número correlativo de cada participante, y por último el año en que se tomó la muestra (Ej. CC-001-04). Por último se utilizó un cuestionario para coleccionar información etno-demográfica e información relevante a las cardiopatías secundarias a la ECh (Anexo 3).

6. Toma de la muestra de sangre. La muestra se tomó de la cara externa de la falange distal del dedo anular izquierdo utilizando una lanceta. La sangre se colectó en

papel filtro. Los detalles de manejo y transporte de la muestra se detallan en el Anexo 4.

7. Georeferenciación. Se hizo un croquis de cada una de las localidades utilizando el sistema de posicionamiento geográfico (GPS).

8. Determinación de la seroprevalencia. La determinación de la seroprevalencia a la ECh se hizo por el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA) (Rizzo *et al.* 2003) (Greer *et al.* 1999). (Anexo 5). Todas aquellas muestras que resultaron positivas por el método de ELISA mas un 10% de las negativas, se corroboraron por la prueba de inmunofluorescencia (Leiby *et al.* 2000). Esta última se realizó en el CDC en Atlanta, USA. Las discrepancias entre estos dos métodos fueron solucionadas por la prueba de hemoaglutinación, la cual también se realizó en el CDC en Atlanta, USA.

9. Electrocardiogramas. Para medir el ritmo y la regularidad de los latidos, así como el tamaño y posición de las cámaras cardíacas, se utilizó un electrocardiógrafo portátil (MAC 1200 de General Electric). Se tomó un ECG estándar, en reposo, de 12 derivaciones. Los ECG fueron interpretados por dos especialistas en cardiología, quienes no tuvieron acceso a los resultados serológicos, siguiendo los criterios de clasificación de la reunión "Standardization of Electrocardiographic Criteria for Diagnosis of Chagás´ Disease" (Anexo 6). Las discrepancias entre los resultados, fueron enviadas para su análisis a un tercer especialista.

10. Análisis estadístico. Toda la información colectada se ingresó en una base de datos generada en Epi-Info Ver 6.02b. Se generaron tablas de frecuencias para cada una de las variables a fin de visualizar la distribución de los valores. Se construyeron tablas 2x2 para obtener valores de Chi-cuadrado y valores de p. Para aquellas variables donde el valor encontrado fue menor de 5 el valor de p se calculó utilizando la prueba de Fisher. Para aquellas variables donde los valores eran mayores de 5, el valor de p se calculó utilizando la prueba corregida de Yates. Para el análisis de diferencias entre variables, un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. Las

variables principales que se analizaron fueron: información demográfica, seroprevalencia y anomalías de los ECGs.

11. Aspectos éticos y beneficios para los participantes. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad del Valle de Guatemala. Para la realización del mismo se contó también con la aprobación de la Jefatura del Área de Salud del departamento de Jalapa. Además se redactó un consentimiento informado de participación voluntaria (Anexo 1). El consentimiento se leyó y explicó a todas aquellas personas que asistieron a la plática informativa. Todos aquellos que aceptaron participar firmaron la hoja de consentimiento y se les entregó una copia de mismo.

En el contexto de las visitas que se realizaron a las comunidades y a fin de proporcionar un beneficio adicional a los participantes del estudio y a los habitantes de la comunidad, se realizaron mediciones de hemoglobina a todo aquel que lo solicitó. A todas aquellas personas cuyos niveles de hemoglobina estaban por debajo de 11 se les proporcionó sulfato ferroso y ácido fólico, siguiendo las normas del MSPAS. Todas las mujeres embarazadas, independientemente de sus niveles de hemoglobina recibieron suplemento vitamínico (tabletas prenatales) para un mes. Adicionalmente, a todos los niños de 2 a 8 años, cuyos padres lo solicitaran, se le proporcionó tratamiento anti-parasitario (Albendazol®), a las dosis recomendadas por el MSPAS.