

“Cardiovascular Health Investigation and Collaboration to Assess the Markers and Outcomes of Chagas disease” (CHICAMOCHA): Concepto, métodos y características de una cohorte de donantes de sangre en Bucaramanga, Colombia

“Cardiovascular Health Investigation and Collaboration to Assess the Markers and Outcomes of Chagas disease” (CHICAMOCHA): Concept, Methods and Characteristics of a Cohort of Blood Donors in Bucaramanga, Colombia

“Pesquisa de Saúde Cardiovascular e Colaboração para avaliar os marcadores e os resultados da doença de Chagas” (CHICAMOCHA): conceito, métodos e características de um grupo de doadores de sangue em Bucaramanga, Colômbia

Juan Carlos Villar-Centeno, MD., Esp., MSc., PhD.*

Víctor Mauricio Herrera-Galindo, MD., MSc., PhD.**

Ángel María Cháves-Neira, MD., Esp.***

Luz Ximena Martínez-Contreras, MD., Nut y Diet.****

Luis Ángel Villar-Centeno, MD., Esp., MSc.*****

Elizabeth Ardila, MD., Esp.*****

Skarlet Marcell Vásquez, Enf., MSc.*****

Martha Vásquez, Enf. *****

Resumen

Introducción: Colombia está expuesta simultáneamente a las enfermedades transmitidas por vectores como la Enfermedad de Chagas (ECHA), así como a la carga creciente de la enfermedad cardiovascular de origen aterosclerótico (ECV). **Objetivo:** Estudiar a través del ensamblaje de un estudio de cohorte de adultos jóvenes de Bucaramanga, el desarrollo de la ECHA y la ECV. **Metodología:** Se diseñó un estudio a partir de donantes de

sangre con tamización serológica para *T. cruzi*. Se construyó una base de datos de donantes consecutivos con estatus positivo (T[+]) apareada (en relación 1:4, estratificada por banco y mes de donación) con donantes T[-]. Los participantes fueron clasificados por estado serológico y electrocardiograma y evaluados clínicamente (realizando pruebas adicionales de función cardiovascular a los T[+] y a una muestra aleatoria de T[-]). En los siguientes años se iniciaron ensayos clínicos en los participantes T[+] y mediciones repetidas en los T[-] para estudios de riesgo de

* Médico, Especialista en Medicina Interna, Magíster y Doctor en Epidemiología Clínica; Facultad de Ciencias de la Salud. Grupo de Cardiología Preventiva. Universidad Autónoma de Bucaramanga.

** Médico, Magíster y Doctor en Epidemiología; Facultad de Ciencias de la Salud. Grupo de Cardiología Preventiva. Universidad Autónoma de Bucaramanga.

*** Médico, Especialista en Cardiología. Fundación Cardiovascular de Colombia.

**** Médico, Nutricionista y Dietista; Facultad de Ciencias de la Salud. Grupo de Cardiología Preventiva. Universidad Autónoma de Bucaramanga

***** Médico, Especialista en Microbiología y Parasitología Médica, Magister en Epidemiología clínica. Facultad de Salud. Universidad Industrial de Santander.

***** Médico, Especialista en Medicina Interna y Nefrología, Grupo de Cardiología Preventiva. Universidad Autónoma de Bucaramanga.

***** Enfermera, Magíster en Epidemiología; Grupo de Cardiología Preventiva. Universidad Autónoma de Bucaramanga.

***** Enfermera, Fundación Cardiovascular de Colombia.

Correspondencia: Juan Carlos Villar Centeno. Calle 157 No. 14 - 55 Cañaveral Floridablanca, Colombia. Universidad Autónoma de Bucaramanga. Teléfono 6436111 extensión 516. Email: jvillar@unab.edu.co

Artículo recibido: 16 de marzo de 2015

Aceptado: 24 de julio de 2015

ECV. **Resultados:** De 6,228 donantes (18 a 50 años de edad) registrados en la base (1997-2003), 2,130 donantes de sangre (edad media 36.4 [DE 8.4] años, 64.0% hombres, 73.4% residentes en los estratos 1-3, 486 T[+]) consintieron participar. El protocolo de contacto, seguimiento y recuperación de participantes ha logrado que se obtengan mediciones repetidas en al menos el 80% de los participantes. **Conclusiones:** CHICAMOCHA constituye un activo de valor social que aumenta las capacidades locales de investigación. Se requieren esfuerzos continuados para ensanchar sus posibilidades de formación de investigadores, generación de productos de conocimiento y recomendaciones para el sistema de salud. [Villar JC, Herrera VM, Chaves-Neira AM, Martínez-Contreras LX, Villar-Centeno LA, Ardila E, Vásquez SM, Vásquez M. "Cardiovascular Health Investigation and Collaboration to Assess the Markers and Outcomes of Chagas disease" (CHICAMOCHA): Concepto, métodos y características de una cohorte de donantes de sangre en Bucaramanga, Colombia. *MedUNAB* 2015; 18 (1): 14-26]

Palabras Clave: Donantes de Sangre; Enfermedad de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; Serología; Factores de Riesgo.

Abstract

Introduction: Geographical and socio-demographic conditions expose Colombian population to the threat of vector-borne diseases (such as Chagas' [CHAD]) and cardiovascular disease of atherosclerotic origin (CVD). **Objective:** To assemble a cohort study of young adults, to promote understanding of CHAD and CVD in Bucaramanga, Colombia. **Methodology:** A study of blood donors with serological screening for *T.cruzi* was designed. A database of consecutive donors with positive results (T[+]) was built. This group was compared with a random sample of T[-] individuals (1:4 ratio, within strata of bank and month of donation). Participants classified by serology and electrocardiography status underwent clinical interviews (additional cardiovascular tests to T[+] and a random sample to T[-] were performed. In the following years, T[+] individuals participated in randomized trials whereas those T[-] participated in repeated measurements to test CVD risk factors. **Results:** From 6,228 donors in the database (18 to 50 years old) registered in the database (1997-2003), 2,130 blood donors (mean age 36.4 (SD 8.4) years, 64% males, 73.4% living in low socioeconomic strata, 486 T[+]) agreed to participate. Our contact protocol, and follow-up procedure with participants allowed us to obtain repeatedly measurements of at least 80% of the participants. **Conclusions:** CHICAMOCHA represents a social asset that builds local research capacity. Continued efforts are required to enhance its potential for research

Introducción

Por sus condiciones geográficas, Colombia está expuesta al riesgo de varias de las enfermedades transmitidas por vectores. Entre ellas se destaca la enfermedad de Chagas (ECHA), la enfermedad parasitaria causante de la mayor pérdida de años de vida útil en el continente americano (1-4). Se estima que 7 a 12 millones de personas, la mayoría

training, scholarly work and health care guidance. [Villar JC, Herrera VM, Chaves-Neira AM, Martínez-Contreras LX, Villar-Centeno LA, Ardila E, Vásquez SM, Vásquez M. "Cardiovascular Health Investigation and Collaboration to Assess the Markers and Outcomes of Chagas disease" (CHICAMOCHA): Concept, methods and characteristics of a cohort of blood donors in Bucaramanga, Colombia. *MedUNAB* 2015; 18 (1): 14-26]

Keywords: Blood Donors; Chagas Disease; *Trypanosoma cruzi*; Serology; Risk Factors.

Resumo

Introdução: A Colômbia está exposta simultaneamente às doenças transmitidas por vetores, como a doença de Chagas (ECHA), assim como à crescente carga da doença cardiovascular de origem arteriosclerótica (DCV). **Objetivo:** estudar, através da montagem de uma coorte de adultos jovens de Bucaramanga, o desenvolvimento da ECHA e DCV. **Metodologia:** O estudo foi realizado a partir de doadores de sangue com a triagem sorológica para *T. cruzi*. Elaborou-se a base de dados consecutivos a partir das pessoas doadoras em estado positivo (T [+]) comparado (em relação de 1: 4, estratificadas pelo banco e mês da doação) com as pessoas doadoras T [-]. As pessoas que participaram foram classificadas pelo estado sorológico e pelo eletrocardiograma e avaliadas clinicamente (realizando testes adicionais de função cardiovascular aos T [+]) e uma amostra aleatória de T [-]. Nos anos seguintes fizeram-se ensaios clínicos nos participantes T [+]) e medições repetidas em T [-] para estudar o risco de DCV. **Resultados:** Dos 6.228 doadores (18-50 anos) registrados no banco de dados (1997-2003), 2.130 doadores de sangue (tinham entre 36,4 [8,4] anos, dos quais 64,0% eram do sexo masculino e 73,4% dos estratos 1-3, 486 T [+]) aceitaram em participar. O protocolo de contato, o acompanhamento e a recuperação dos participantes permitiu obter medições repetidas, pelo menos em 80% dos participantes. **Conclusões:** CHICAMOCHA constitui um ativo de valor social que aumenta as capacidades locais de investigação. É necessário prosseguir os esforços para ampliar a sua capacidade de formar pesquisadores, gerando produtos de conhecimento e recomendações para o sistema de saúde. [Villar JC, Herrera VM, Chaves-Neira AM, Martínez-Contreras LX, Villar-Centeno LA, Ardila E, Vásquez SM, Vásquez M. "Pesquisa de Saúde Cardiovascular e Colaboração para avaliar os marcadores e os resultados da doença de Chagas" (CHICAMOCHA): conceito, métodos e características de um grupo de doadores de sangue em Bucaramanga, Colômbia. *MedUNAB* 2015; 18 (1): 14-26]

Palavras-chave: Doadores de Sangue; Doença de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; Sorologia; Fatores de Risco.

habitantes o inmigrantes urbanos de zonas rurales de Latinoamérica, están infectadas por *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), su agente causal(5). De ellas, luego de varias décadas de infección silente, un 20-30% de ellos desarrollará una cardiopatía dilatada de mal pronóstico(6). Hasta ahora no se comprenden completamente las razones para el desarrollo de este desenlace (7), ni identificado un tratamiento específico eficaz (8-10). La ECHA se ha considerado entre

las “más olvidadas del mundo”, categoría de notable contraste entre la dimensión del problema y el escaso conocimiento e inversión en investigación para abordarlo (11).

Pero también Colombia está expuesta a la carga creciente de la enfermedad cardiovascular de origen aterosclerótico (ECV), consecuencia del fenómeno conocido como transición epidemiológica. En esta nueva situación, las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) alcanzan un predominio sobre aquellas relacionadas con deficiencias nutricionales o sanitarias, hecho que ha transformado la distribución de la carga mundial de la enfermedad (12). Logros sociales modernos como la mejoría de las condiciones sanitarias y de las viviendas, o la disponibilidad de vacunas y antibióticos han reducido el impacto relativo de las enfermedades infecciosas y carenciales. En tanto, el consecuente aumento en la expectativa de la esperanza de vida y el proceso de urbanización entre otros factores, favorecieron el aumento de las ECNT (13). Dentro de este grupo, la ECV y el cáncer, representan las mayores cifras de carga de enfermedad en el mundo (14).

De acuerdo con esta transición, desde los años cincuenta en Europa y Estados Unidos se iniciaron importantes estudios de cohorte para el estudio de las ECV (ver editorial del presente número de la revista-MedUNAB). Gracias a estos esfuerzos, hoy se han identificado los “factores de riesgo convencionales” (sedentarismo, tabaquismo, hipertensión arterial, diabetes, dislipidemia) que explican el 80% a 90% de la probabilidad de los eventos vasculares oclusivos mayores (15-17). También en este periodo el conocimiento adquirido facilitó el diseño de planes de prevención y tratamientos. Estos desarrollos en su conjunto han logrado importantísimas reducciones en la mortalidad por ECV en los países desarrollados (18,19). En contraste, los eventos cardiovasculares hoy son no solo más frecuentes, sino también más letales en los países de medianos y de bajos ingresos (20).

Los indicadores disponibles en Colombia sugieren un dramático advenimiento de una epidemia de ECV. Esta se ha constituido como la principal causa de mortalidad, representando una fracción creciente sobre el resto de causas (21). Hoy constituye la mayor carga de enfermedad para nuestro sistema de salud, siendo la hipertensión arterial uno de sus principales factores de riesgo y la mayor causa de consulta médica (22,23). La prevalencia de este factor, por ejemplo, pasó de ser 13% a 23% en solo dos décadas (24). Y siendo una condición controlable, las brechas de acceso al diagnóstico y de control entre las personas tratadas continúan siendo amplias (25).

Tanto en el caso de la ECHA como en el de la ECV, Colombia necesita identificar soluciones basadas en el conocimiento. Sin embargo, las particularidades biológicas y prioridades en la producción de conocimiento difieren en

ambos casos. Mientras en la ECHA se requiere generar conocimiento en aspectos básicos de pronóstico y terapia, en la ECV estos problemas han sido en lo fundamental resueltos. Para países en desarrollo se ha vuelto prioritario conocer la emergencia y dinámica de factores de riesgo para ECV, así como mejorar el acceso e implementación efectiva de los tratamientos ya disponibles. Se trata en ambos casos de enfermedades crónicas, en donde las observaciones repetidas en individuos que no han desarrollado eventos clínicos podrían generar conocimientos válidos para el país.

Con este propósito, estudiar adultos jóvenes en ciudades cercanas a zonas de transmisión activa de *T. cruzi* permitiría evaluar la evolución de estas condiciones. En los donantes de bancos de sangre de Colombia, generalmente adultos jóvenes en buen estado de salud, se hacen desde hace dos décadas pruebas de identificación serológica del parásito (26). Por otro lado, en la región oriental de Colombia, un país que ha tenido una creciente inmigración rural-urbana, se han documentado múltiples áreas de transmisión vectorial. En tal sentido, una cohorte de donantes de sangre en una ciudad como Bucaramanga, el mayor centro urbano de la región oriental de Colombia, podría facilitar el propósito de estudiar el desarrollo de la ECHA y la ECV. En este artículo se describen los métodos del ensamblaje y seguimiento del proyecto “*Cardiovascular Health Investigation and Collaboration to Assess the Markers and Outcomes of Chagas disease*” (CHICAMOCHA) una cohorte de donantes de sangre con pruebas de tamizaje para marcadores infecciosos en bancos de sangre de Bucaramanga, Colombia.

Metodología

Se buscó ensamblar un estudio de cohorte, con el objetivo de anidar diferentes estudios de historia natural o tratamiento en los participantes libres de enfermedad cardiovascular clínicamente, con serología positiva o negativa para *T. cruzi* (T[+] o T[-], respectivamente). Para este propósito, se definió como población a los donantes de sangre de Bucaramanga con pruebas de tamización para *T. cruzi* previas.

Panorama de los estudios adelantados en el proyecto

A lo largo de su desarrollo, CHICAMOCHA ha servido a diferentes estudios, que se resumen en la Figura 1. Inicialmente se adelantó un estudio piloto que incluyó el 20% inicial de la muestra planeada (cuyos procesos de selección e inclusión se discuten abajo). Luego de algunas pruebas de factibilidad y verificación de procesos, se completó la Fase 1 (años 2000 a 2003), un estudio de casos y controles anidados. Allí se buscaba definir las anomalías relacionadas con la cardiomiopatía subclínica de Chagas y estimar su prevalencia, por comparación entre las poblaciones T[+] y T[-]. En este estudio, sujetos clínicamente sanos fueron clasificados inicialmente con

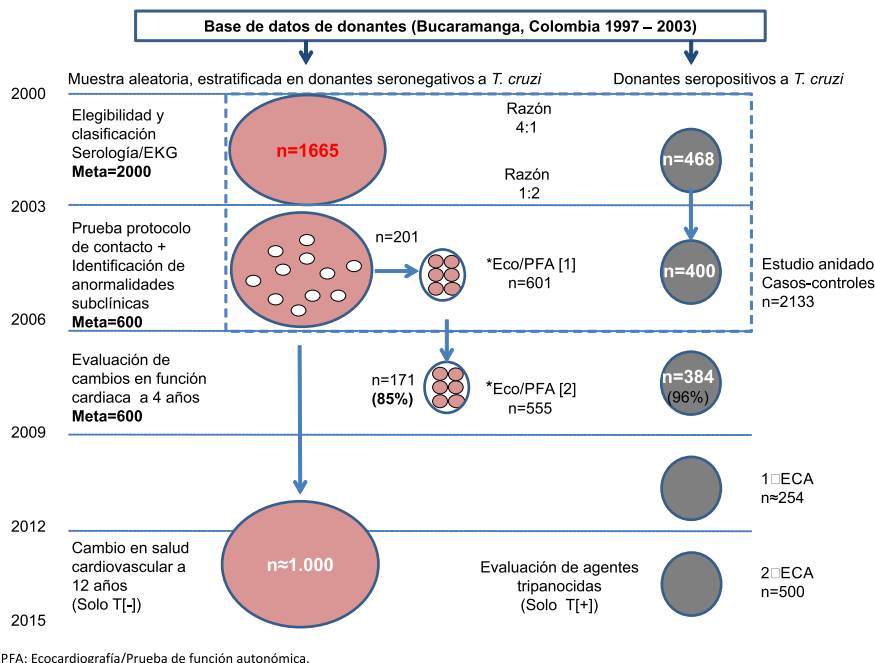


Figura 1. Proceso general del proyecto en el tiempo.

serología para *T. cruzi* y electrocardiogramas (EKG) en una primera visita. La meta en esta primera visita “de clasificación” (de componente transversal) fue la inclusión de 2000 participantes, al menos 400 de ellos T[+]. En una segunda visita “diagnóstica” (objetivo 600 participantes, 400 seropositivos, más una muestra aleatoria de seronegativos), se realizaron ecocardiogramas y pruebas de función autonómica a participantes con diferente estadio serológico y de EKG. Cuatro años después, estos 600 participantes serían invitados a mediciones repetidas (para estimar el cambio en diferentes índices de función cardiovascular en los grupos comparados).

Luego de completar esta fase, los participantes T[+] fueron invitados a participar en ensayos clínicos aleatorizados, que evaluaban la eficacia y seguridad de tratamientos tripanocidas (CHICAMOCHA 2 y CHICAMOCHA 3). Entre tanto, los participantes T[-] fueron, luego de su último contacto con la oficina del proyecto (12-14 años para el grupo inicial y 6-8 años para el grupo seleccionado como comparador de T[+] en los estudios de diagnóstico) invitados para nuevas mediciones (enmarcado en un estudio de incidencia de factores de riesgo para ECV) en los últimos 2 años.

Población y muestra

Se diseñó un estudio basado en comunidad, a partir de donantes de sangre con tamización serológica previa para *T. cruzi* positiva o negativa. El escenario del registro inicial fueron los bancos de sangre de Bucaramanga, cuyos residentes se considerarían en general libres de transmisión vectorial de *T. cruzi*. En Colombia la donación de sangre es

de carácter voluntario, con fines altruistas. Las donaciones no pueden repetirse dentro de los siguientes tres meses y los individuos notificados con pruebas de tamización (para virus de hepatitis B y C, VIH, *T. pallidum* y *T. cruzi*) confirmadas son notificados para no hacer nuevas donaciones. Bajo estos criterios, contenido en los criterios de exclusión para donaciones de sangre en los cuestionarios de tamización, se asumió que estas personas eran fundamentalmente adultos jóvenes clínicamente sanos.

Después de obtener el consentimiento de las instituciones involucradas, se analizó la viabilidad de construir una base de datos de donantes de sangre. Se analizó una muestra aleatoria de registros (1997-2000) de los bancos de sangre en Bucaramanga (n= 425), que tenían para entonces una seroprevalencia de *T. cruzi* de 1.23%, con variaciones significativas en el tiempo. Se decidió entonces empezar una base de datos que cubriera los años 1997-2000, añadiendo luego nuevos donantes prospectivamente hasta el año 2003.

La base de datos incluyó un listado de donantes consecutivos con serología positiva confirmada para *T. cruzi* por el laboratorio departamental de la Secretaría de Salud Departamental. A este listado de T[+] se le añadió un registro de tarjetas de donaciones de banco de sangre, con todas las otras pruebas de tamización serológica negativas. El grupo T[+] debía aparearse por frecuencia con 4 donantes con pruebas negativas a todos los agentes tamizados (T[-]). Debido al exceso relativo del grupo T[-], se partió de un registro elaborado manualmente desde el cual se generaría una muestra aleatoria por estratos de mes y banco de sangre de origen, tomando como referencia cada donante T[+].

De esta base de datos se excluyeron quienes no suministraron número de teléfono para contacto, o reportaban una dirección de contacto fuera de Bucaramanga; las tarjetas de donantes con nombres idénticos (por sospecha de tratarse de donantes habituales). Se buscó también la exclusión de las personas cuya donación podría haberse dado a través de campañas institucionales o relacionados entre sí (aquellos cuya información de contacto dada al banco era idéntica a la de por lo menos tres donantes dentro del mismo día o por lo menos seis donantes dentro de la misma semana de la donación).

Protocolo de Contacto en la línea de base

El reclutamiento de participantes comenzó el 3 de mayo de 2000. El protocolo fue aprobado por el comité de ética de la Universidad Autónoma de Bucaramanga (UNAB), sitio de la oficina del proyecto. Este contemplaba una secuencia de procedimientos para contactar, ofrecer participación a las personas elegibles y luego registrar mediciones en los participantes del estudio.

El protocolo se adelantó por contacto telefónico con los donantes registrados. El personal de la oficina del proyecto tuvo acceso a los nombres y números de teléfono proporcionados por los donantes, pero estaba ciego para otra información en el registro (por ejemplo, dirección, lugar de trabajo/empleo, grupo sanguíneo y estado serológico para *T. cruzi*). Se buscaron los contactos en grupos consecutivos que incluían a T[+] y T[-], ordenados por fecha de donación dentro de cada mes. Se intentaron hasta tres llamadas durante las horas de la tarde en días hábiles, dejando mensajes para el donante si no era contactado directamente. Si no se conseguía contacto con el donante después de este paso inicial estaba prevista una segunda ronda de intentos (hasta tres llamadas entre 17:00 a 20:00 en días hábiles, con excepción de los viernes). Los donantes con quienes no se consiguió contacto después de este procedimiento no fueron buscados por otros medios.

Los donantes contactados fueron invitados a participar mediante una llamada semiestructurada. A quienes expresaron su interés en participar se les pidió venir a la oficina del proyecto para adelantar un chequeo médico que incluía una toma de muestras sanguíneas. La visita requería una noche de ayuno y abstención de alcohol (en las últimas 24 horas), tabaco, café o té (últimas 12 horas). A los donantes que asistieron se les explicó en mayor detalle la naturaleza del estudio y se les pidió firmar un consentimiento escrito. Cuando se cumplían esas condiciones se adelantó la visita de clasificación. Los donantes que perdieron sus citas iniciales fueron reprogramados hasta dos veces a su conveniencia. Agotada esta posibilidad, no se incluían en el estudio.

Procedimientos en las visitas del estudio

La visita de clasificación buscaba a) Confirmar la elegibilidad de los participantes para pruebas adicionales de

diagnóstico y b) Hacer una clasificación del estado serológico para *T. cruzi* y el EKG. Luego de dar su consentimiento informado con un testigo acompañante, los participantes se sometieron a un proceso de dos estaciones: una entrevista que abarcaba información de tipo socio-demográfico y de estilo de vida, y luego una evaluación médica. Al momento del registro de esta información los recolectores de datos no conocían la codificación de los participantes.

Los donantes elegibles fueron residentes en el área metropolitana de Bucaramanga quienes se encontraban "clínicamente sanos" (es decir, sin sospecha de enfermedad activa o no identificada por el examen clínico). Los criterios de exclusión comprenden antecedentes de Leishmaniasis (causa de serología positiva para *T. cruzi* por reacción cruzada); tener enfermedad aterosclerótica sintomática, falla cardíaca o eventos vasculares (incluyendo el diagnóstico establecido, o las referencias por sospecha diagnóstica, las hospitalizaciones, procedimientos u otros tratamientos). Por último, los participantes fueron excluidos si se encontraban con condiciones posiblemente asociadas con disfunción autonómica cardíaca (incluyendo historia de diabetes mellitus de largo plazo o no controlada, insuficiencia renal, síncope recurrente, hipotensión postural o alcoholismo).

Clasificación de la población

Se utilizó la serología convencional para *T. cruzi* que detecta anticuerpos IgG a través de técnicas de inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), hemaglutinación indirecta (HAI) o inmunofluorescencia indirecta (IFI). La confirmación del estado T[+] requería por lo menos dos pruebas positivas con dos técnicas serológicas diferentes. Estas pruebas se realizaron en la UNAB en la primera visita y se repitieron luego en la visita diagnóstica, al menos un año después. Para efectos de control de calidad, el Instituto Colombiano de Medicina Tropical (ICMT) supervisó el laboratorio de la UNAB durante el estudio piloto. Las muestras de los participantes con tamización positiva en el banco de origen fueron sometidas a ELISA, HAI y IIF en forma independiente una de otra. En tanto, las de sus pares con pruebas negativas se sometían a un ELISA adicional, realizando las dos pruebas restantes, solo en caso que esta prueba fuera positiva.

Se utilizaron reactivos disponibles comercialmente para ELISA (Chagatek, Organon, Argentina) y HAI (Chagatest, Weiner, Chile). Las láminas de IIF fueron provistas por el ICMT. Los evaluadores de las pruebas serológicas de confirmación no tuvieron conocimiento de las pruebas de tamización de los bancos de sangre (ni de los resultados de las otras pruebas practicadas por ellos mismos). Inicialmente se practicó hemocultivo a los participantes T[+] en el ICMT. Sin embargo, el proceso se suspendió luego de obtener solo un resultado positivo en los primeros 112 casos. Se definió no hacer Xenodiagnóstico como prueba diagnóstica o clasificatoria para esta población.

Los EKG fueron asignados aleatoriamente a dos lectores independientes, con el mismo grado de entrenamiento clínico (médicos internistas que trabajaban en unidades de cuidados intensivos) cegados para la información clínica o serológica. Los EKG fueron calificados en principio como normales (Si/No). Cuando se encontraba anormal, se debía codificar al menos uno de los siguientes hallazgos: presencia/ausencia de anomalías "definitivas" del ritmo o la conducción (ADRC) u otros hallazgos, como se ha definido para el contexto de la ECHA (10). Las ADRC incluían bloqueos de rama, extrasístoles ventriculares, bloqueos aurículo-ventriculares y fibrilación auricular. Otras anomalías del ritmo o conducción (no constitutivas de ADRC) incluyeron: los trazos sospechosos (o "con patrón") de trastornos de conducción intraventricular (con complejos QRS de morfología compatible, pero duración menor 120 ms, o los intervalos PR no consistentemente mayores de 200 ms) o los latidos supraventriculares ectópicos. Los hallazgos reportados como "otras anomalías" incluyeron signos de hipertrofia ventricular, alteraciones de la onda T u ondas Q patológicas.

Con base en un análisis de las lecturas de los EKG en el estudio piloto en 160 participantes (80 de cada estado serológico), se decidió que solo los EKG con ADRC se considerarían "positivos" para efectos de clasificación. Este análisis de concordancia inter e intra observador mostró una estadística Kappa superior a un límite predefinido de 0.75 para ADRC, pero no los otros códigos. Como producto de este análisis, la codificación del EKG requería de solo un lector cuando se encontraba normal o con ADRC, mientras que el reporte de todos los demás códigos requerían una segunda opinión por otro lector. Los EKG evaluados por duplicado, pero con interpretaciones discordantes, eran reasignados a un árbitro (un cardiólogo con experiencia en la enfermedad de Chagas) para la codificación final. Se registraron nuevos EKG cuando la nueva visita ocurría un año después de la anterior. Los procedimientos de codificación en estas nuevas visitas fueron idénticos.

Visitas de diagnóstico cardiovascular

Definida la clasificación inicial de los participantes, se practicó una visita de diagnóstico cardiovascular en 400 participantes T[+] y en una muestra aleatoria de 200 T[-], estratificada por estado electrocardiográfico y estratos de edad de cada participante T[+]. A toda la cohorte se le realizó una visita de seguimiento a los 2 años de la línea de base, en donde se adelantó esa selección, repitiendo las pruebas serológicas y los EKG (para estudios de estabilidad del estatus en el tiempo). En los 600 participantes seleccionados se practicaron ecocardiogramas (transtorácicos, en reposo) y pruebas de función autonómica. Estas últimas se basaron en registros de electrocardiografía dinámica por 20 minutos, los primeros 10 en posición supina y los siguientes 10 en inclinación a 60 grados. Antes de este registro se realizó una prueba de respiración profunda (*deep breathing test*). Este protocolo se practicó en la línea de base, y se repitió 4 años después en los 600 participantes seleccionados.

Protocolo de contacto y rescate de participantes

A lo largo de estos procesos, se adelantaron nuevos contactos con los participantes seleccionados para las diferentes mediciones. En todos los casos, el contacto se buscó inicialmente por teléfono, repitiendo el proceso de la inclusión. Se utilizó la información de contacto más actualizada, incorporando paulatinamente números de teléfono celular (y más recientemente correos electrónicos) en la medida que estos fueron disponibles.

En las visitas de seguimiento se adelantó también un protocolo de rescate, usando métodos adicionales de contacto, por etapas. Este consistió en principio en remitir cartas de invitación por correo certificado, de modo que se pudiera confirmar si la dirección de correspondencia correspondía aún al participante. En estas cartas se invitaba al antiguo participante a contactar a la oficina del proyecto. En una segunda etapa, se realizó una llamada directamente por el médico del proyecto, que iba sucedida de una visita al vecindario de la residencia registrada inicialmente, buscando obtener información de contacto actualizada. En el grupo seleccionado para la visita diagnóstica se adelantó una secuencia ligeramente distinta: Luego del protocolo de contacto telefónico y las cartas de invitación, se intentó directamente la visita y se ofrecieron incentivos (bonos para compras en supermercado) a quienes asistieron a la oficina del proyecto.

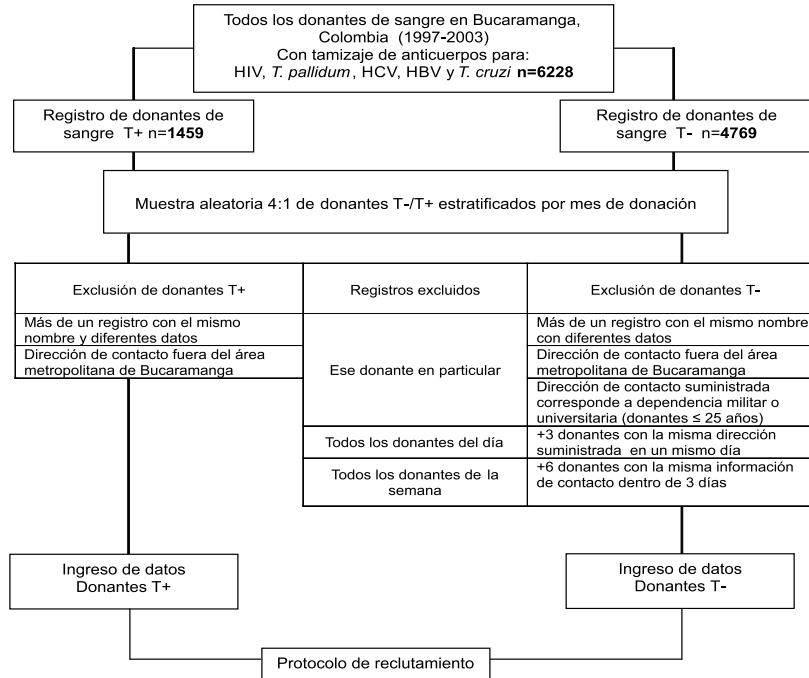
Más recientemente se ha iniciado un nuevo protocolo en los participantes T[-] quienes no han tenido contacto con la oficina del proyecto por al menos 6 años. Aquí se intentó el contacto telefónico seguido de carta domiciliaria. Pero luego se escribieron cartas al asegurador en salud de los participantes, con base en la información registrada en la base de datos del FOSYGA. En quienes no respondían se intentó la visita domiciliaria. Se intentaron en estos grupos anuncios a través de la prensa escrita y hablada, proceso que se suspendió debido a la muy baja tasa de contacto conseguida con este método de rescate.

Aspectos estadísticos

En este proceso se han calculado tasas y frecuencias, así como descrito las características de los participantes con diferente estado serológico. Las variables categóricas fueron informadas como conteos y porcentajes, mientras que las variables continuas son reportadas como medias, con su desviación estándar. Las hipótesis de diferencias se pusieron a prueba en un nivel alfa de dos caras del 5% con las pruebas de Chi cuadrado o ANOVA para las variables categóricas o continuas, respectivamente.

Resultados

El registro de la base de datos de bancos de sangre en Santander, reportó 6,228 donantes (18 a 50 años de edad)



Observación: todos los donantes reactivos para otro agente infeccioso tamizado, fueron excluidos sin importar su condición para *T. cruzi*

Figura 2. Proceso de ensamblaje de la base de datos de donantes

que fueron captados en Bucaramanga entre 1997 a 2003 y tamizados para los marcadores serológicos de infección tamizados en los bancos de sangre. De éstos, 1,459 (23.4%) eran positivos para el tamizaje a anticuerpos tipo IgG anti-*T. cruzi* y negativos para el resto de marcadores de infección; mediante un proceso de aleatorización de donantes

seronegativos (T[-]) y seropositivos (T[+]) para *T. cruzi*, 4:1 respectivamente, fueron seleccionados los donantes en quienes se aplicaría el protocolo de reclutamiento que consistió en un proceso de contacto vía telefónica para invitar a los donantes a participar en el estudio (Figuras 2 y 3).

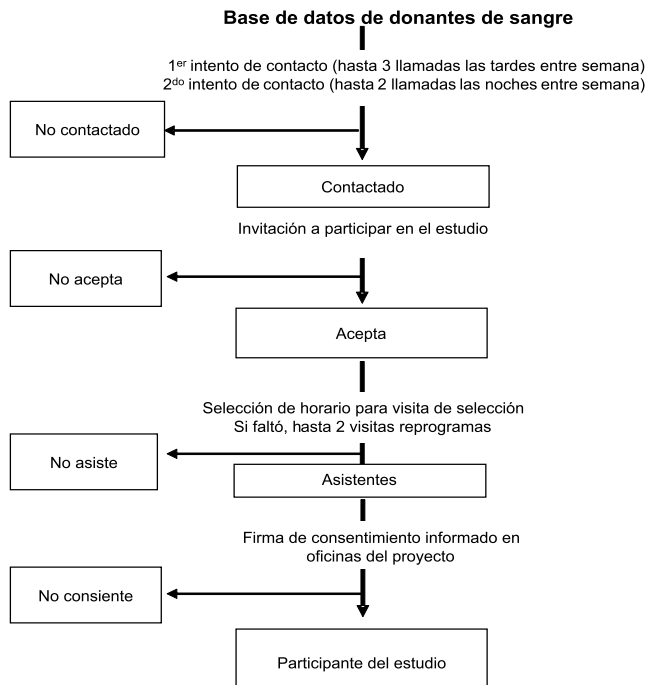


Figura 3. Protocolo de reclutamiento

Tabla 1. Características de los participantes al inicio del estudio

Característica	T[+] (n=486)	T[-] (n=1644)	
Identificación primaria			
Edad promedio en años (ds)	38.4 (7.9)¥	35.8 (8.5)¥¶	
Hombres (%)	325 (67.0)	1040 (63.3)¥	
Bajo estrato socioeconómico [1]	402 (83.4)¥	1165 (72.4)¥¶	
Sociodemográficas			
Ingreso familiar <2USD/día (%)	289 (81.4)	1130 (79.4)	
Personas promedio/cuartos en casa	2.0 (2.3)	1.5 (0.8)¶	
Casado	337 (70.1)	1029 (63.3)	
Educación post-secundaria	73 (15.4)	625 (38.4)	
Desempleado	37 (7.7)	100 (6.1)	
Afiliado a seguridad social	370 (78.2)	1228 (76.0)	
Valoración médica			
Disnea de ejercicio	8 (1.7)	18 (1.1)	
Síncope	18 (3.7)	110 (6.8)¶	
Chequeo médico en los últimos 2 años (%)	92 (30.2)	566 (36.6)¶	
Presión sistólica promedio, mmHg (ds)	117.0 (12.4)	117.2 (12.4)	
Presión diastólica promedio, mmHg (ds)	76.7 (8.9)	77.7 (8.6)¶	
Índice de masa corporal (ds)	26.0 (3.9)	25.9 (7.1)	
Relación cintura/cadera promedio	Hombres (ds)	0.93 (0.07)	0.91 (0.07)¶
	Mujeres (ds)	0.83 (0.07)	0.82 (0.09)¶
Glucemia en ayunas, mg/dl promedio (ds)	83.8 (27.4)	81.9 (20.3)	
Colesterol total, mg/dl promedio (ds)	185.3 (49.0)	198.5 (57.2)¶	
Triglicéridos, mg/dl promedio (ds)	157.7 (95.5)	153.5 (97.2)	
Anormalidades en el ECG (%)	95 (20.0)	202 (12.3)¶	

[1] Categorías 1-3 de 6 del estrato según facturación de impuesto municipal

¥ p<0,05 comparado el registro original con los participantes en el mismo estatus serológico

¶ p< 0,05 comparando sero[+] y sero[-]

Selección y características de los participantes

Una vez el protocolo de reclutamiento fue aplicado, 2,130 donantes de sangre consintieron su participación en el estudio. De ellos 486 (22.8%) eran T[+]. Las características de los participantes por estado serológico para *T. cruzi* se muestran en la (Tabla 1). Los participantes T[+] tuvieron un

mayor promedio de edad mayor (38.4 años versus 35.8 años en los T [-]) y residían más frecuentemente en estratos socioeconómicos bajos (83.4% de los T[+] versus 72.4 de los T[-]). En consecuencia, algunas variables relacionadas con el nivel socioeconómico (como el ingreso familiar, el nivel educativo, el promedio de personas por habitación en la vivienda) tuvieron diferencia en desventaja para los

Tabla 2. Características de los participantes a través del proceso de selección (n~1604)

	Edad promedio en años (DE)		Hombres (%)		Bajo nivel socioeconómico		Sangre O+	
	T+	T-	T+	T-	T+	T-	T+	T-
Registrados	36.3 (9.3)	34.8 (9.2)	* 504 (70.5)	674 (75.8)	* 289 (74.9)	366 (64.2)	* 192 (57.3)	448 (56.9)
Intento de contacto	35.9 (9.0)	34.7 (9.2)	* 467 (70.2)	655 (75.7)	* 271 (74.0)	363 (64.4)	* 183 (57.6)	439 (57.3)
Contactados	37.3 (8.7)	35.8 (9.5)	192 (70.5)	127 (62.6)	124 (75.2)	100 (63.3)	* 71 (55.0)	92 (54.8)
Aceptan	37.4 (8.6)	36.4 (9.4)	180 (70.0)	109 (65.6)	119 (75.8)	86 (65.7)	68 (55.7)	75 (55.4)
Participantes	37.6 (8.6)	37.4 (9.0)	156 (69.0)	91 (65.0)	107 (77.5)	70 (64.2)	* 63 (58.3)	57 (51.4)

¥ p< 0.05 En comparación con la población de la misma categoría para *T. cruzi* originalmente registrada

* p < 0.05 En comparación entre T+ y T-

participantes T[+]. Respecto a la valoración médica, alrededor del 30% había tenido un chequeo médico en los últimos dos años; algunos de los antecedentes o hallazgos fueron más frecuentemente encontrados en uno de los grupos, sin un patrón consistente. Finalmente, aunque más del 80% de los participantes tenía su electrocardiograma (ECG) sin hallazgos, hubo más ECG anormales entre los participantes T[+].

Para evaluar si la estrategia de muestreo aplicada a los donantes registrados en la base de datos de bancos de sangre podría representar a la población objeto de estudio, se realizó una caracterización donde se analizó el comportamiento de estas variables en las diferentes etapas del protocolo de reclutamiento (Tabla 2). Los resultados permiten demostrar que en general, las características evaluadas en los donantes se mantuvieron durante el proceso de selección de los participantes. El proceso de inclusión seleccionó a candidatos de edad ligeramente mayor y redujo la proporción de hombres. Sin embargo este proceso tendió a reducir las diferencias entre participantes T[+] y T[-]: La edad promedio fue de 37 años; la proporción de población masculina se acercó al 70% y más del 70% de los participantes residían en estrato socioeconómico bajo.

Rendimiento de los protocolos de contacto, seguimiento y rescate de participantes

La ejecución del protocolo de contacto y seguimiento de CHICAMOCHA logró respuesta positiva en los participantes a través del tiempo, permitiendo la continuidad del estudio a través del tiempo. En el panel de figuras 4, se muestran los resultados del proceso de inclusión de donantes (Figura 4a) iniciado en el año 2000 y el contacto con los 600 participantes seleccionados para la visita diagnóstica (Figura 4 b). En la parte inferior del panel se muestra a la izquierda el primer seguimiento en participantes T[-] (Figura 4 c) y la visita de seguimiento a los participantes seleccionados para ecocardiografía en el año 2006 (Figura 4 d). En estos últimos dos procesos se ejecutó un protocolo de contacto telefónico, seguido del protocolo de rescate de participantes, usando cartas, llamadas del médico, visitas domiciliarias y ofreciendo un regalo como incentivo por la asistencia (barras de derecha a izquierda). Se observó que más del 80% de los donantes registrados asistieron a las actividades de medición programadas. Pasada la primera evaluación, el protocolo de llamada telefónica logró la participación de cerca del 70% de los donantes registrados. El protocolo de rescate consiguió el reclutamiento de 10% a 20% adicional de participantes (Figura 4 c y d).

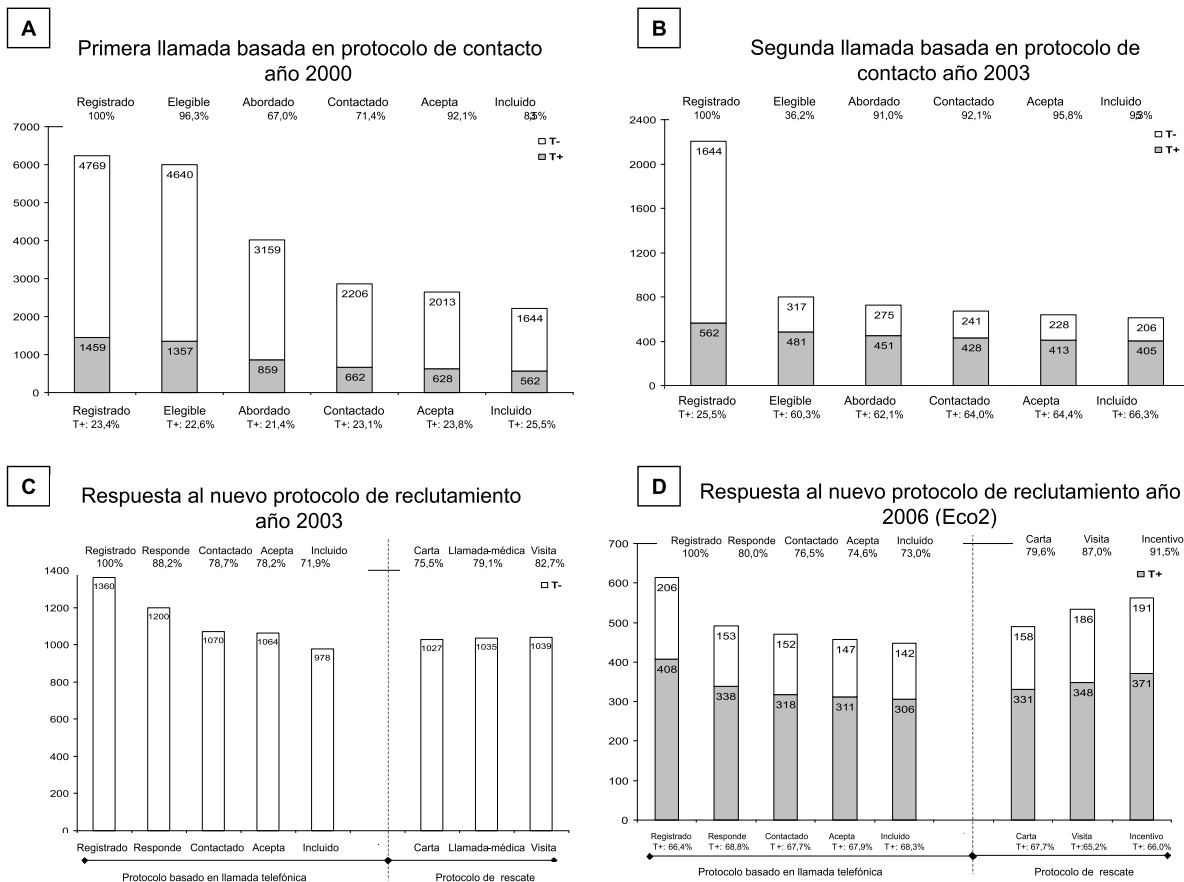


Figura 4. Tasas de contacto y asistencia en diferentes momentos de tiempo

Discusión

Los procesos adelantados por el grupo investigador han permitido, a través de más de una década de trabajo, establecer una cohorte de donantes de sangre en Bucaramanga. Este logro permite contar a una institución como la UNAB con un activo que materializa una responsabilidad social, en este caso un insumo para el estudio de la ECHA y la ECV.

Durante este periodo de actividad se ha generado información que ha permitido la formación y sedimentación de un grupo de investigación (el grupo de Cardiología Preventiva). Y dentro de este nicho de trabajo, se ha promovido la formación de algunos investigadores y la generación de procesos de investigación (como el contacto y seguimiento a los participantes; las mediciones repetidas de información, el almacenamiento de gran cantidad de datos y muestras biológicas, o la generación de un sistema de aleatorización para ensayos clínicos entre otros), muchos de ellos por primera vez en una nascente facultad de ciencias de la salud. La adecuada realización de estos procesos ha permitido (y sobre todo permitirá en el futuro) generar y multiplicar productos de nuevo conocimiento que potencialmente aporten a la situación de la ECHA y la ECV.

Principales hallazgos

La cohorte está compuesta de hombres en sus dos terceras partes, con un promedio de edad de 36 años en la línea de base, 80% de ellos de estratos residentes en estratos socioeconómicos 1-3 (para la época de la iniciación en los años 2000 a 2002, con ingresos inferiores a \$2 USD por día). La aplicación del protocolo para la inclusión de donantes logró mantener una relación aproximada 4:1 donantes con serología negativa o positivas para *T. cruzi*, sin cambios sustanciales en las características registradas respecto a las de los donantes que no participaron. Excepto por la situación derivada de su condición de origen (inmigrantes de áreas rurales con sus implicaciones en términos sociales) y la mayor presencia de hallazgos electrocardiográficos, los grupos de donantes de sangre T[+] y T[-] que participan en CHICAMUCHA son clínicamente comparables. Las tasas de recuperación luego de los protocolos de contacto y rescate para los participantes fueron aceptables, y superiores al 90% para la visita de diagnóstico y seguimiento de pruebas de diagnóstico cardiovascular en los primeros años de la cohorte. Es muy posible que –debido principalmente a la falta de sostenimiento financiero– las tasas de seguimiento de los participantes T[-] decaigan como producto del tiempo desde la última visita (más de 10 años en el 80% restante a los participantes seleccionados para pruebas de diagnóstico cardiovascular, que sirvieron de comparador con el grupo T[+]) y la falta de reforzamiento del contacto durante los últimos años. Este nuevo proceso de contacto se hace viable gracias a la aprobación de financiación de un proyecto de incidencia de hipertensión arterial en la cohorte de seronegativos en la convocatoria

569 de Colciencias en el año 2012. A pesar de algunas provisiones adicionales para recuperar la mayoría de participantes, se espera un desgaste de la cohorte de 20% a 30% como producto de estas interrupciones en el flujo de los contactos con la oficina del proyecto.

Fortalezas y limitaciones

El proyecto CHICAMUCHA tiene, como estudio de cohorte, varias fortalezas: En su línea de base, su población incluyó esencialmente adultos sanos, clínicamente sin cardiomiopatía chagásica crónica o eventos de ECV y con baja prevalencia de factores de riesgo conocidos. Para el estudio de la ECHA, el incluir donantes con pruebas de tamización facilitaba la concentración de población T[+]. La observación de nuestro proceso de muestreo, selección e inclusión de participantes redujo varias de las diferencias entre donantes por estado serológico, quedando como diferencia fundamental el menor nivel socioeconómico de la población T[+]. Esta condición ligada a migración rural en Latinoamérica, se ha asociado consistentemente con la pobreza y otras desventajas sociales en los entornos urbanos (27). No obstante estas diferencias, la condición de residentes urbanos de los donantes T[+] permitía minimizar el riesgo de reinfección por *T. cruzi* durante el seguimiento (pues, se han identificado vectores triatómicos y reportado casos de transmisión oral en los perímetros de la ciudad de Bucaramanga durante este periodo) (28,29). Finalmente, el haber conseguido mantener el contacto con la mayoría de la población estudiada en la línea de base, la constituye en la cohorte de adultos sanos más antigua del país, de la que tengamos conocimiento.

Este proyecto tiene también diversas limitaciones. Dado que el éxito de los estudios de cohorte se va cosechando en la medida que se registren los eventos de interés (en este caso los eventos de la ECV en los participantes T[-]), se requiere un prolongado tiempo de seguimiento, quizá mayor a dos décadas, para tener un número adecuado de eventos en esta cohorte. Esto implica un inevitable proceso de desgaste, que empieza a seleccionar la población, fenómeno bien conocido en este tipo de estudios (30,31). Otra consideración se deriva del hecho de tener donantes de sangre como población para el estudio de la ECV. Si bien estas personas representan una franja de sujetos con sentido de filantropía (lo que resultaría teóricamente en una mayor participación y adherencia para un estudio de cohorte), pueden ser una población con mejores niveles de salud que la población general (el llamado sesgo del voluntario sano) (32).

De otro lado, el mantenimiento de un estudio de cohorte implica grandes retos institucionales. En el entorno colombiano de financiación de investigación, COLCIENCIAS no ha generado oportunidades de financiación por un periodo mayor a 3 años a lo largo de la vida de este proyecto. Esto por sí mismo hace excepcionalmente difícil el mantenimiento de una cohorte de este tipo. CHICAMUCHA se ha mantenido gracias al

soporte institucional, complementado con financiación cruzada de otros proyectos y la financiación de COLCIENCIAS a estudios particulares anidados dentro de la cohorte (un estudio de concordancia de mediciones al principio del seguimiento, luego ensayos clínicos en los participantes T[+] y más recientemente estudios de incidencia de factores de riesgo para ECV).

Para el caso de los participantes T[+], el estudio fue planeado para contribuir a aspectos de la identificación de la enfermedad subclínica (33-35). La dinámica de la evolución natural de la ECHA haría que incluso después de dos décadas de seguimiento se registrara un número modesto de eventos (o la necesidad de reclutar unas 10,000 personas de este tipo). Por el otro lado, la difícil situación del tratamiento de la ECHA hizo virar la atención de los investigadores hacia los ensayos clínicos de terapia tripanocida, buscando estudiar desenlaces de tipo parasitológico (36).

Implicaciones

El establecimiento de esta cohorte representa un importante activo social. Permite generar una estructura que puede nutrir otras investigaciones, no solo en ECV y ECHA, sino en diferentes aspectos incluyendo otras enfermedades crónicas y otras enfermedades infecciosas, sino también estudios de corte social, de servicios de salud y de corte metodológico. Este aumento de la capacidad de investigación en el orden local y nacional es aún más relevante tratándose de áreas del mayor costo para la sociedad (la ECV) o relativamente abandonadas (la ECHA). En ambos tópicos, ante la escasa capacidad instalada en relación a las necesidades de investigación, el desarrollo y mantenimiento de estudios de cohorte puede resultar de alto valor estratégico para el país y la región.

Desde el punto de vista de la atención a la ECV y la ECHA dentro del sistema de salud colombiano, la cohorte CHICAMOCHA tiene un papel importante por jugar. El registro de mediciones repetidas a los participantes necesariamente toca aspectos de la atención a los problemas detectados. Como ejemplos, ya en la cohorte se han hecho observaciones sobre el proceso de confirmación del diagnóstico serológico y el cumplimiento de la restricción a nuevas donaciones en personas con pruebas de tamización positiva para *T. cruzi* en los bancos de sangre (37,38). También, en lo que a ECV se refiere, el grupo investigador ha elaborado reportes sobre la suficiencia del diagnóstico y tratamiento de los factores de riesgo (39). Tanto en el caso de la ECHA como en el de la ECV, el futuro permitirá evaluar, en la medida que aparezcan los eventos clínicos, la suficiencia y los resultados de atención a esas complicaciones.

Conclusiones

CHICAMOCHA es un estudio de cohorte de donantes de sangre en bancos de Bucaramanga. Por esta particularidad

demográfica, fue diseñado para facilitar el estudio de aspectos de diagnóstico y tratamiento de la ECHA subclínica, así como de la historia natural de desarrollo de factores de riesgo para ECV. Por sus características, constituye en un activo de valor social, donde la UNAB ejerce esa responsabilidad con la comunidad donde está inmersa. Se requieren esfuerzos continuados de tipo financiero y logístico para que con el sostenimiento del proyecto en el tiempo se multipliquen sus aportes e influencia en el aumento de la capacidad de investigación local, la generación de más y mejores productos de conocimiento y las recomendaciones al sistema de salud para mejorar los resultados de atención de la ECHA y la ECV.

Conflicto de intereses

Los autores manifiestan que no tienen ningún conflicto de interés.

Agradecimientos

Los autores agradecen el doble altruismo de los participantes (como donantes de sangre y como participantes de este estudio) y el apoyo de sus familias. Este estudio no hubiese sido posible sin la colaboración inicial del banco metropolitano de sangre del entonces Hospital Universitario Ramón González Valencia (hoy Universitario de Santander); el banco de sangre Higuera-Escalante de la FOSCAL, el banco de sangre de la entonces Clínica Comuneros (hoy Hospital Universitario de Bucaramanga) y el Laboratorio Departamental de Salud Pública de la Secretaría de Salud de Santander. CHICAMOCHA ha recibido apoyo financiero externo de la entonces oficina de ayudas a la comunidad (hoy líneas de gestión social) de ECOPETROL y COLCIENCIAS (contratos 172-2002, 318-2004, 247-2007, 489-2012 y 729-2013)

Referencias

1. Schmunis GA. Epidemiology of Chagas disease in non endemic countries: the role of international migration. Mem Inst Oswaldo Cruz [revista en internet]. Fundação Oswaldo Cruz; 2007 Oct [Acceso 3 ago 2015];102: 75–86. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762007000900013&lng=en&nrm=iso&tlng=en
2. Hotez PJ, Alvarado M, Basáñez M-G, Bolliger I, Bourne R, Boussinesq M, et al. The global burden of disease study 2010: interpretation and implications for the neglected tropical diseases. PLoS Negl Trop Dis [revista en internet]. Public Library of Science; 2014 Jul 24 [Acceso 4 mar 2015];8(7):e2865. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002865>

3. 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* [Internet]. Public Library of Science; 2008 Jan 24 [Acceso 10 dic 2014];2(9):e300. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0000300>
4. Lee BY, Bacon KM, Bottazzi ME, Hotez PJ. Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model. *Lancet Infect Dis* [revista en internet]. Elsevier; 2013 Apr 4 [Acceso 28 agos 2015];13(4):342–8. Disponible en: <http://www.thelancet.com/article/S1473309913700021/fulltext>
5. Organización Mundial de la Salud. 2015. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>
6. Freitas HFG, Chizzola PR, Paes AT, Lima ACP, Mansur AJ. Risk stratification in a Brazilian hospital-based cohort of 1220 outpatients with heart failure: role of Chagas' heart disease. *Int J Cardiol* [revista en internet]. Elsevier; 2005 [Acceso 30 nov 2015];102(2):239–47. Disponible en: <http://www.internationaljournalofcardiology.com/article/S0167527304004875/fulltext>
7. Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet* (London, England) [revista en internet]. Elsevier; 2010 Apr 17 [acceso 17 agos 2015];375(9723):1388–402. Disponible en: <http://www.thelancet.com/article/S014067361060061X/fulltext>
8. Meeks B, Melacini PR, Pogue J, Mattos a, Lazdins J, Rassi a, et al. Randomized Trial of Benznidazole for Chronic Chagas' Cardiomyopathy. 2015;1–12.
9. Molina I, Gómez i Prat J, Salvador F, Treviño B, Sulleiro E, Serre N, et al. Randomized Trial of Posaconazole and Benznidazole for Chronic Chagas' Disease. *N Engl J Med* [revista en internet]. 2014;370:1899–908. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1313122>
10. Villar JC, Perez JG, Cortes OL, Riarte A, Pepper M, Marin-Neto JA GG. Trypanocidal drugs for chronic asymptomatic *Trypanosoma cruzi* infection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;27(5).
11. Yamey G, Torreele E. The world's most neglected diseases. *BMJ*. 2002;325(July):176–7.
12. Dye C. After 2015: infectious diseases in a new era of health and development. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* [revista en internet]. 2014;369:20130426. Disponible en: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84922217984&partnerID=tZOtx3y1>
13. Santosa A, Wall S, Fottrell E, Högberg U, Byass P. The development and experience of epidemiological transition theory over four decades: a systematic review. *Glob Health Action* [revista en internet]. 2014;7(5):23574. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4038769&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
14. Murray CJL, Lopez AD. Measuring the Global Burden of Disease. *N Engl J Med* [revista en internet]. 2013;369:448–57. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra1201534>
15. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, LLLSI. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;364(9438):937–52.
16. O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, et al. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *Lancet* (London, England) [Internet]. Elsevier; 2010 Jul 10 [Acceso 14 nov 2015];376(9735):112–23. Disponible en: <http://www.thelancet.com/article/S0140673610608343/fulltext>
17. Lanas F, Avezum a., Bautista LE, Diaz R, Luna M, Islam S, et al. Risk Factors for Acute Myocardial Infarction in Latin America: The INTERHEART Latin American Study. *Circulation* [revista en internet]. 2007;115:1067–74. Disponible en: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.633552>
18. Kottke TE, Giles WH, Capewell S. Explaining the Decrease in U.S. Deaths from Coronary Disease, 1980–2000. 2007;2388–98.
19. Capewell S, Pell JP, Morrison C, McMurray J. Increasing the impact of cardiological treatments. How best to reduce deaths. *Eur Heart J* [revista en internet]. 1999;20:1386–92. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10487799>
20. Yusuf S, Rangarajan S, Teo K, Islam S, Li W LL et al. Cardiovascular risk and events in 17 low-, middle-, and high-income countries. *N Engl J Med*. 2014;371(9):818–27.
21. DANE. No Title [Internet]. 2015. Disponible en: www.dane.gov.co
22. Peñaloza R, Salamanca N, Rodríguez J, Rodríguez J, Beltrán A. Estimación de la carga de enfermedad para Colombia, 2010. Editorial Pontificia Universidad Javeriana. 2014.
23. Ministerio de Salud y Protección Social - Colciencias. Guía de práctica clínica Hipertensión arterial primaria (hta). 2013.
24. Salud M de. Ministerio de Salud [Internet]. 2015. Disponible en: www.minsalud.gov.co/.../Encuesta Nacional.pdf
25. Fonseca Z, Heredia AP, Ocampo PR, Forero Y, Sarmiento OL AM et al. Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia (ENSIN) 2010 [Internet]. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. 2015. Disponible en: <http://www.icbf.gov.co/portal/page/portal/PortalCBF/Bienestar/ENSIN1/ENSIN2010/Libro ENSIN2010.pdf>
26. Beltrán M, Bermúdez M, Forero, Ayala R. Control de la infección por *Trypanosoma cruzi* en donantes de sangre de Colombia, 2003. *Biomédica*. 2005;25:527–32.
27. Ferranti D De, Perry G. Desigualdad en América Latina y el Caribe: ¿ruptura con la historia. *Banco Mund*. 2003;
28. Soto H, Tibaduiza T, Montilla M, Triana O, Suárez DC, Torres MT, et al. Investigación de vectores y reservorios en brote de Chagas agudo por posible transmisión oral en Aguachica, Cesar, Colombia. *Cad Saude Publica* [revista internet]. Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz; 2014 Apr [Acceso 30 nov 2015];30(4):746–56. Disponible en:

- http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2014000400746&lng=en&nrm=iso&tlng=es
29. Hernández LM, Ramírez Cano AN, Cucunubá Z, Zambrano P. Brote de Chagas Agudo en Lebrija, Santander 2008. *Artículo Inst.* 2008;4(November): 28–36.
 30. Colditz GA. Overview of the Epidemiology Methods and Applications: Strengths and Limitations of Observational Study Designs. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. Taylor & Francis Group; 2010 Dec 4 [Acceso 30 nov 2015]; Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2010.526838#.VlzMMIbD81M.men deley>
 31. Sedgwick P. Bias in observational study designs: prospective cohort studies. *BMJ.* 2014;19.
 32. Rodr O, Pediatr AE. Epidemiología y metodología aplicada a la pediatría (V): Sesgos. 1999;50(V):519–24.
 33. Villar J. Cardiovascular Health Investigation and Collaboration to Asses the Markers and Outcomes of Chagas disease (CHICAMOCHA) pilot study 2003. McMaster University Press, Hamilton; 2003.
 34. Villar, JC, Herrera, VM, Smieja, M, and Yusuf S. Previous poor rural housing and present poor urban residence are both associated with T cruzi positive serology: analysis of a three year registry of Colombian blood donors for the CHICAMOCHA pilot study. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39 (444B).
 35. Villar J. Challenges in Identifying Subclinical Chronic Chagasic Cardiomyopathy in a Colombian Urban Population. (Canada) MU, editor. 2006.
 36. Villar J. CHICAMOCHA 3 - Equivalence of Usual Interventions for Trypanosomiasis (EQUITY) (CHICAMOCHA-3) [revisa en internet]. 2015. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02369978?term=chicamocha&rank=1>
 37. Villar JC, González CA LM. ¿Están adecuadamente informados los donantes reactivos en los bancos de sangre? Un estudio de reincidencia de donaciones en individuos con prueba de tamización positiva para Trypanosoma cruzi. *Biomédica* 2009;29(Supl.):359.
 38. Villar JC, Cárdenas ME LM. ¿Es válido el diagnóstico serológico de Trypanosoma cruzi en laboratorios de referencia? Estudio de rendimiento de las pruebas confirmatorias en el Laboratorio Departamental de Salud Pública de Santander. *Biomédica* 2009; 29 (Supl.):258.
 39. Herrera V, Villar J CA. La brecha del diagnóstico de la hipertensión arterial en adultos jóvenes en Bucaramanga. Observación en el registro del proyecto CHICAMOCHA. *Rev Col Cardiol.* 2003:548.