



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL

**APORTES AL ENTENDIMIENTO DE LA CARDIOMIOPATÍA CHAGÁSICA:
ELECTROCARDIOGRAFÍA, ECOCARDIOGRAFÍA Y BIOMARCADORES**

LYDA ZORAYA ROJAS SÁNCHEZ



**Departament de Pediatria, d'Obstetrícia i Ginecologia i de Medicina
Preventiva de la Universitat Autònoma de Barcelona**

TESIS DOCTORAL

APORTES AL ENTENDIMIENTO DE LA CARDIOMIOPATÍA CHAGÁSICA: ELECTROCARDIOGRAFÍA, ECOCARDIOGRAFÍA Y BIOMARCADORES

**Trabajo de Tesis Doctoral como requisito para optar al título de Doctor (PhD) en
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SALUD PÚBLICA**

Doctoranda

Lyda Zoraya Rojas Sánchez
Enfermera, MSc Epidemiología

Director

Oscar H. Franco
Médico, PhD, FESC, FFPH

Tutora

María Teresa Puig
Médico, PhD

Universidad Autónoma de Barcelona
**Facultad de Medicina, Departamento de Pediatría, Obstetricia & Ginecología y de Medicina
Preventiva**

Barcelona, Septiembre 2018

CERTIFICACIÓN

El doctor Oscar H. Franco, profesor de Epidemiología y Salud Pública de la Universidad de Berna, Suiza y director del Instituto de Medicina Social y Preventiva, certifica que la tesis doctoral presentada por Lyda Zoraya Rojas Sánchez, con el título “Aportes al entendimiento de la cardiomiopatía chagásica: electrocardiografía, ecocardiografía y biomarcadores” ha sido realizada bajo su dirección y supervisión.

Y para que conste a los efectos oportunos firma el presente certificado, el 11 de Septiembre de 2018.

Oscar H. Franco

Lyda Z. Rojas Sánchez

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, mi más sincero agradecimiento a los doctores Oscar H. Franco, Taulant Muka, María T. Puig y Luis Eduardo Echeverría quienes dieron generosamente todo su conocimiento, experiencia y tiempo para orientar el diseño, ejecución y defensa de tesis.

A Oscar H. Franco y al Grupo de Investigación Cardiovascular del Departamento de Epidemiología de la Universidad Erasmus Centro Médico (*Cardiovascular Research Group Department of Epidemiology - Erasmus Medical Center*) por su hospitalidad y todo el conocimiento transmitido.

A Taulant Muka por ser un líder motivador, organizado y eficiente.

A Dra. María T. Puig y Dr. Xavier Bonfill por su asesoría y acompañamiento. A María José por todo el soporte administrativo y disponibilidad para colaborar.

También deseo expresar mi gratitud a la Fundación Cardiovascular de Colombia, en particular a los doctores Norma Cecilia Serrano y Luis Eduardo Echeverría por su apoyo y la oportunidad de utilizar los datos de los proyectos BIOCHAGAS y HOMCHAGAS, así mismo a Colciencias por la financiación de dichos proyectos.

A los Miembros del Tribunal de Evaluación de la Tesis y a los Co-autores de los artículos publicados que conforman esta tesis, gracias por todas las observaciones y comentarios realizados que enriquecieron cada trabajo.

A mi familia, madre, padre, hermanos y sobrinos por su continuo amor y soporte en todo momento. A mi esposo por su apoyo incondicional, aportes clínicos y epidemiológicos. A Mila por su compañía y cariño.

Finalmente, a mis amigos latinoamericanos en Rotterdam (en especial a Magda, Humberto, Carolina, Alejandro, Eliana, Valentina, Paula, Anette y Gabriela) y compañeros del Departamento de Epidemiología de Erasmus Medical Center (en especial a Jelena, Marija, Jana, Eralda) quienes han enriquecido mi experiencia de investigación y con quienes compartimos momentos muy agradables. También, a los amigos que desde la distancia preguntaban “¿Cómo va la tesis?” y me alentaban para seguir adelante: Zayne, Silvia, Juliana, Sandra, Dora, Dalia y Lilibeth.

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE ANEXOS	10
GLOSARIO DE SIGLAS	11
1. RESUMEN/ABSTRACT/RESUM	14
2. INTRODUCCIÓN	21
2.1 CARDIOMIOPATÍA CHAGÁSICA	21
2.2 EPIDEMIOLOGÍA	21
2.3 TRANSMISIÓN	25
2.4 PATOGÉNESIS	25
2.5 ASPECTOS CLÍNICOS	27
2.6 DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	31
2.7 ESTADIOS Y PRONÓSTICO	38
3. JUSTIFICACIÓN	43
4. OBJETIVOS	47
4.1 OBJETIVO GENERAL	47
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
5. METODOLOGÍA	49
5.1 OBJETIVO ESPECÍFICO 1. Sintetizar la evidencia científica disponible sobre la prevalencia de alteraciones electrocardiográficas generales y específicas en personas seropositivas y seronegativas para enfermedad de Chagas a nivel de estudios poblacionales, a través de una revisión sistemática metaanalítica.	49
5.2 OBJETIVO ESPECÍFICO 2. Caracterizar múltiples parámetros ecocardiográficos, incluyendo el speckle-tracking (ST) y niveles de NT-proBNP en pacientes con diferentes estadios de la CMCh e identificar los puntos de corte de cambios tempranos en estos parámetros (estadio A vs. B, C, D).	51
5.3 OBJETIVO ESPECÍFICO 3. Examinar el valor diagnóstico de un panel de biomarcadores	53

cardiovasculares para distinguir la severidad de la CMCh.

6. RESULTADOS	57
6.1 OBJETIVO ESPECÍFICO 1. Sintetizar la evidencia científica disponible sobre la prevalencia de alteraciones electrocardiográficas generales y específicas en personas seropositivas y seronegativas para enfermedad de Chagas a nivel de estudios poblacionales, a través de una revisión sistemática metaanalítica.	57
6.2 OBJETIVO ESPECÍFICO 2. Caracterizar múltiples parámetros ecocardiográficos, incluyendo el speckle-tracking (ST) y niveles de NT-proBNP en pacientes con diferentes estadios de la CMCh e identificar los puntos de corte de cambios tempranos en estos parámetros (estadio A vs. B, C, D).	76
6.3 OBJETIVO ESPECÍFICO 3. Examinar el valor diagnóstico de un panel de biomarcadores cardiovasculares para distinguir la severidad de la CMCh.	86
7. DISCUSIÓN	93
7.1 DISCUSIÓN GENERAL	94
7.2 FORTALEZAS Y LIMITACIONES	102
7.3 IMPLICACIONES PARA LA PRÁCTICA CLÍNICA	103
7.4 IMPLICACIONES PARA FUTURAS INVESTIGACIONES	104
8. CONCLUSIONES	107
9. BIBLIOGRAFÍA	110
10. ANEXOS	126

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Prevalencia de la infección de <i>Trypanosoma cruzi</i> , en países latinoamericanos (1980-85/2005) y el efecto de las iniciativas para el control o eliminación de la enfermedad de Chagas.	23
Tabla 2. Cambios en la prevalencia, incidencia y mortalidad de la enfermedad de Chagas, 1985-2010, en 21 países endémicos de América Latina.	24
Tabla 3. Características clínicas de la enfermedad de Chagas según su fase.	30
Tabla 4. Recomendaciones para el tratamiento farmacológico de falla cardíaca en enfermedad de Chagas	36
Tabla 5. Esquemas de clasificación de la gravedad de la cardiomiopatía Chagásica.	40
Tabla 6. Puntajes de estratificación de riesgo en enfermedad de Chagas.	41
Tabla 7. Características generales de los estudios incluidos en la revisión sistemática y metaanálisis.	59
Tabla 8. Resumen de las características de los estudios y participantes incluidos en la revisión sistemática y metaanálisis.	62
Tabla 9. Metaanálisis de alteraciones ECGs generales en participantes con y sin enfermedad de Chagas según características de los estudios.	63
Tabla 10. Metaanálisis de alteraciones ECGs específicas en participantes con y sin enfermedad de Chagas.	67
Tabla 11. Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión sistemática y metaanálisis.	69
Tabla 12. Capacidad discriminativa de las alteraciones ECGs para el diagnóstico de enfermedad de Chagas.	75
Tabla 13. Características de los pacientes según estadios de severidad de la CMCh.	77
Tabla 14. Hallazgos ecocardiográficos según estadios de severidad de la CMCh.	78
Tabla 15. Strain longitudinal global y regional del ventrículo izquierdo según estadios de severidad de la CMCh.	82
Tabla 16. Curvas AUC-ROC de parámetros ecocardiográficos y niveles de NT-ProBNP para discriminar la severidad de la CMCh (estadios A vs. B,C,D).	84
Tabla 17. Características sociodemográficas y clínicas según estadios de severidad de la CMCh.	87
Tabla 18. Biomarcadores cardiovasculares según estadios de severidad de la CMCh.	88

Tabla 19. Asociación entre biomarcadores y estadios de severidad de la CMCh (estadios C, D vs. B). 89

Tabla 20. AUC-ROC de biomarcadores cardiovasculares para discriminar la severidad de la CMCh (estadios C, D vs. B). 90

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución global de individuos infectados por <i>Trypanosoma cruzi</i> . Estimaciones oficiales de la transmisión del vector entre 2006 y 2009.	24
Figura 2. Mecanismos por los cuales la infección por <i>T. cruzi</i> puede causar miocarditis.	27
Figura 3. Historia natural de la enfermedad de Chagas.	29
Figura 4. Línea de tiempo de la construcción científica de la enfermedad cardíaca crónica de Chagas.	35
Figura 5. Diagnóstico y manejo de pacientes en riesgo de infección por <i>T. cruzi</i> basado en lineamientos: algoritmo de práctica clínica.	37
Figura 6. Diagrama de flujo de los artículos incluidos en la revisión sistemática y metaanálisis.	58
Figura 7. Metaanálisis de alteraciones ECGs generales en participantes con y sin enfermedad de Chagas.	63
Figura 8. Resumen de alteraciones ECGs en los participantes con y sin enfermedad de Chagas con significancia estadística.	68
Figura 9. Metaanálisis de alteraciones ECGs generales, se omite el estudio mencionado.	71
Figura 10. Metaanálisis de alteraciones ECGs generales en participantes con y sin enfermedad de Chagas según edad de los participantes.	72
Figura 11. Metaanálisis de alteraciones ECGs generales en participantes con y sin enfermedad de Chagas según edad de los participantes (Excluyendo el estudio de Aguilera M et al. 1996).	73
Figura 12. Diagramas de caja del SLG VI, velocidad de flujo E mitral, índice de masa VI y NT-proBNP según estadios de severidad de la CMCh.	80
Figura 13. Gráficos de ojo de Buey del ventrículo izquierdo según estadios de severidad de la CMCh.	83
Figura 14. AUC-ROC. Las curvas comparan los estadios A vs. B,C,D de la CMCh ajustadas por edad, sexo e índice de masa corporal.	85
Figura 15. AUC-ROC para cada parámetro ecocardiográfico y niveles de NT-proBNP. Las curvas comparan los estadios A vs. B,C,D de la CMCh ajustadas por edad, sexo, índice de masa corporal y NT-proBNP.	86
Figura 16. AUC-ROC para cada biomarcador cardiovascular. Las curvas comparan los estadios C,D vs. B de la CMCh.	91

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Artículo “Electrocardiographic abnormalities in Chagas disease in the general population: A systematic review and meta-analysis” y material suplementario.	126
Anexo 2. Artículo “Echocardiographic parameters, speckle tracking and brain natriuretic peptide levels as indicators of progression of indeterminate stage to Chagas cardiomyopathy”.	205
Anexo 3. Artículo “Profiles of cardiovascular biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy” y material suplementario.	231

GLOSARIO DE SIGLAS

ARA-II	Bloqueadores de los receptores de angiotensina II
AUC-ROC	Área bajo la curva receptor operador
A-V	Auriculoventricular/Atrioventricular
BCRD	Bloqueo completo de rama derecha
BRD	Bloqueo de rama derecha
BFAI	Bloqueo fascicular anterior izquierdo
BFPI	Bloqueo fascicular posterior izquierdo
BNP	Péptido natriurético tipo B
BRI	Bloqueo de rama izquierda
CMCh	Cardiomiopatía chagásica
ECG	Electrocardiograma/Electrocardiografía
ECGs	Electrocardiográficos/Electrocardiográficas
ECh	Enfermedad de Chagas
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ECO	Ecocardiograma/Ecocardiografía
ECOs	Ecocardiográficos/Ecocardiográficas
ES	Extrasístoles supraventriculares
eTFG	Tasa de filtración glomerular estimada
EV	Extrasístoles ventriculares
FA	Fibrilación auricular
FC	Falla cardíaca
FEVI	Fracción de eyección del ventrículo izquierdo
Gal-3	Galectina 3
Hs-cTnT	Troponina T cardíaca de alta sensibilidad
IC	Intervalo de confianza
IECA	Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
IMC	Índice de masa corporal

NGAL	Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos
NT-proBNP	Fracción aminoterminal propéptido natriurético tipo B
NYHA	New York Heart Association
OR	Odds ratio
P	Prevalencia
SLG	Strain longitudinal global
sST2	ST2 soluble
ST	Speckle-Tracking
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
VI	Ventrículo izquierdo
VS.	Versus



1. RESUMEN

1. RESUMEN

Antecedentes: La enfermedad de Chagas (ECh) es una causa importante de falla cardíaca (FC) en países endémicos. Entre el 20% y el 40% de los pacientes seropositivos para *T. cruzi* desarrollan cardiomiopatía Chagásica (CMCh), dos o tres décadas después de la infección inicial. Aunque la asociación entre la ECh y las alteraciones cardíacas (estadio B o más) se ha informado ampliamente, dicha información es cuestionada por los diferentes diseños, el tamaño de muestra y la calidad de los estudios. Asimismo, actualmente no es posible predecir qué pacientes desarrollarán la forma clínica de la enfermedad o permanecerán asintomáticos. En efecto, pocos estudios han caracterizado la transición ecocardiográfica de la forma indeterminada de la ECh a la CMCh, y menos aún el límite establecido para diferenciar la fase asintomática del deterioro del miocardio y la identificación de biomarcadores de infección, patogénesis y progresión a cardiomiopatía.

Objetivo general: Cuantificar la morbilidad de la enfermedad cardíaca de Chagas a nivel poblacional y evaluar parámetros ecocardiográficos y biomarcadores cardiovasculares que permitan distinguir la severidad de la CMCh.

Métodos: Se realizaron tres trabajos de investigación. Una revisión sistemática metaanalítica, que permitió sintetizar la evidencia científica disponible sobre la prevalencia de alteraciones electrocardiográficas (ECGs) generales y específicas en pacientes seropositivos y seronegativos para ECh a nivel poblacional, para la cual se utilizó el método ponderado de varianza inversa para combinar las medidas de resumen utilizando un modelo de efectos aleatorios, así mismo la heterogeneidad fue explorada con los estadísticos Cochrane χ^2 e I^2 , análisis estratificados y metarregresiones. El sesgo de publicación se evaluó a través de gráficos en embudo y pruebas de simetría de regresión de Egger. Dos estudios de corte transversal analíticos, uno que caracterizó múltiples parámetros ecocardiográficos, incluyendo el speckle-tracking (ST) y los niveles de NT-proBNP en pacientes con diferentes estadios de CMCh e identificó los puntos de corte de cambios tempranos en estos parámetros (estadio A vs. B, C, D) y el otro estudio examinó el valor diagnóstico de un panel de biomarcadores cardiovasculares para distinguir la severidad de la CMCh. En estos últimos se realizaron modelos de regresión logística crudos y ajustados y se utilizó el índice de Youden para identificar el mejor punto de corte. La capacidad discriminativa fue evaluada con el área bajo la curva receptor operador (AUC-ROC).

Resultados: La prevalencia general de alteraciones ECGs fue mayor en pacientes con ECh 40.1% (IC del 95% 39.2 a 41.0%) comparada con los no chagásicos 24.1% (IC del 95% 23.5 a 24.7%) (Odds ratio OR=2.78; IC del 95% 2.37 a 3.26). Entre las alteraciones ECGs específicas, la prevalencia del bloqueo completo de rama derecha (BCRD) (OR=4.60; IC del 95% 2.97 a 7.11), el bloqueo fascicular anterior izquierdo (BFAI) (OR=1.60; IC del 95% 1.21 a 2.13), la combinación de RCRD/BFAI (OR=3.34; IC del 95% 1.76 a 6.35), el bloqueo auriculoventricular (A-V) de primer grado (OR=1.71; IC del 95% 1.25 a 2.33), la fibrilación o flutter auricular (OR=2.11; IC del 95% 1.40 a 3.19) y las extrasístoles ventriculares (EV) (OR=1.62; IC del 95% 1.14 a 2.30) fueron más frecuentes en pacientes chagásicos versus no chagásicos. El strain longitudinal global (SLG) del ventrículo izquierdo (VI), la velocidad del flujo de E mitral, el índice de masa del VI y el NT-proBNP identificaron cambios tempranos útiles para distinguir el estadio A vs B, C y D. El AUC-ROC más alto fue para el SLG VI con un punto de corte -20.5% (AUC-ROC 92.88%, sensibilidad 80.85%, especificidad 86.67%), el cual mejoró cuando este fue ajustado adicionalmente por NT-proBNP con un punto de corte -20.0% (AUC-ROC 94.44%, sensibilidad 89.36% y 87.88% de especificidad). En modelos ajustados por edad, sexo, índice de masa corporal y función renal, niveles elevados de Hs-cTnT (OR=1.26; IC del 95% 1.08 a 1.47), NT-proBNP (OR=1.01; IC del 95% 1.00 a 1.01), NGAL (OR=1.02; IC del 95% 1.00 a 1.03) y cistatina C (OR=1.04; IC del 95% 1.02 a 1.06) mostraron asociación significativa con la severidad de CMCh. La precisión de NT-proBNP y Hs-cTnT para el diagnóstico de severidad de la CMCh fue alta: AUC-ROC de 0.95 y 0.91, respectivamente.

Conclusiones: La prevalencia de alteraciones ECGs en pacientes chagásicos a nivel poblacional es del 40.1%, con una frecuencia 2.78 veces mayor en pacientes chagásicos vs. no chagásicos. El SLG VI, la velocidad del flujo de E mitral, el índice de masa del VI, los niveles de NT-proBNP y Hs-cTnT podrían ser variables diagnósticas útiles para identificar el inicio temprano del compromiso del miocardio en pacientes seropositivos para la ECh (distinguir la forma indeterminada de la afectación cardíaca). Sin embargo, estos hallazgos requieren ser confirmados en futuros estudios longitudinales.

1. ABSTRACT

Background: Chagas disease (ChD) is an important cause of heart failure in endemic countries. Between 20% and 40% of seropositive *T. cruzi* patients will ultimately develop Chagas cardiomyopathy (CCM), within two or three decades after initial infection. Although the association between ChD and cardiac abnormalities (stage B or more) is widely reported, the information is challenged by the diverse design, sample size and quality of the studies. Likewise, predicting which patients will develop the clinical form of the disease or remain asymptomatic is currently not possible. In fact, few studies have echocardiographically characterized the transition from the indeterminate form of ChD to CCM, furthermore, cutoffs to differentiate asymptomatic phases from myocardial impairment have not been clearly established and the identification of biomarkers of infection, pathogenesis and progression to cardiomyopathy.

General objective: To quantify the morbidity of Chagas heart disease in the general population level and evaluate echocardiographic parameters and cardiovascular biomarkers that allow to distinguish the severity of CCM.

Methods: Three research works were carried out. A systematic review and meta-analysis, which allowed us to synthesize the available scientific evidence on the general and specific prevalence of electrocardiographic (ECGs) alterations in seropositive and seronegative patients for ChD in the general population, for which the inverse variance weighted method was used to combine summary measures using a random effects model. Also, heterogeneity was assessed using the Cochrane χ^2 and the I^2 statistic, stratified analysis and meta-regression. Publication bias was evaluated through funnel plots and Egger's regression symmetry tests. Two analytical cross-sectional studies were conducted, one study that characterized multiple Echo parameters, including Speckle-tracking and level of NT-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) in patients in different stages of CCM, and identify the best cut-offs in these parameters to distinguish stages A vs B, C and D, and the other study tested the diagnostic value of a panel of cardiovascular biomarkers to differentiate the severity of CCM. In latter studies, crude and adjusted logistic regression models were performed and the Youden index was used to identify the best cutoff point. The discriminative capacity was evaluated with the area under the operator receptor curve (AUC-ROC).

Results: Prevalence of overall ECG abnormalities was higher in participants with ChD (40.1%; 95%CI=39.2 to 41.0) compared to non-ChD (24.1%; 95%CI=23.5 to 24.7) (Odds ratio (OR)=2.78; 95%CI 2.37 to 3.26). Among specific ECG abnormalities, prevalence of complete right bundle branch block (RBBB) (OR=4.60;

95%CI 2.97 to 7.11), left anterior fascicular block (LAFB) (OR=1.60; 95%CI 1.21 to 2.13), combination of complete RBBB/LAFB (OR=3.34; 95%CI 1.76 to 6.35), first-degree atrioventricular block (A-V B) (OR=1.71; 95%CI 1.25 to 2.33), atrial fibrillation (AF) or flutter (OR=2.11; 95%CI 1.40 to 3.19) and ventricular extrasystoles (VE) (OR=1.62; 95%CI 1.14 to 2.30) was higher in CD compared to non-CD participants. Left ventricular (LV) Global longitudinal strain (GLS), mitral flow E velocity, LV mass index and NT-proBNP, identified early changes useful to distinguish stages A vs B, C, and D. The highest AUC was for LV GLS with a cutoff -20.5% (AUC 92.88%; sensitivity 80.85%, specificity 86.67%), which improved when it was additionally adjusted by NT-proBNP with a cutoff -20.0% (AUC 94.44%; sensitivity 89.36% and 87.88% specificity). In models adjusted for age, sex, body mass index and kidney function, increased levels of Hs-cTnT (OR=1.26; 95%CI 1.08 to 1.47), NT-proBNP (OR=1.01; 95%CI 1.00 to 1.01), NGAL (OR=1.02; 95%CI 1.00 to 1.03) and Cys-c (OR=104; 95%CI 2.2 to 5025) showed significant association with the severity of CCM. The accuracy of NT-proBNP and Hs-cTnT for diagnosis of the severity of CCM was high: AUC of 0.95 and 0.91 respectively.

Conclusions: The prevalence ECG abnormalities in participants with ChD in the general population is 40.1%, with a frequency 2.78 times higher in chagasic vs. non-chagasic patients. LV GLS, mitral flow E velocity, LV mass index, NT-proBNP and Hs-cTnT levels could be useful diagnostic variables to detect the onset of myocardial alterations in seropositive patients for ChD (distinguish the indeterminate form of cardiac involvement). However, these findings require confirmation in future longitudinal studies.

1. RESUM

Antecedents: La malaltia de Chagas (MCh) és una important causa d'insuficiència cardíaca (IC) en països endèmics. Entre el 20% i el 40% dels pacients seropositius per T. Cruzi desenvoluparan cardiomiopatia de Chagas (CMCh) dues o tres dècades després de la infecció inicial. Encara que l'associació entre la MCh i les alteracions cardíques (estadi B o més) s'ha difós àmpliament aquesta informació és qüestionada pels diferents dissenys, la mida de mostra i qualitat dels estudis. Així mateix no és possible actualment predir quins pacients desenvoluparan la forma clínica de la malaltia o romandran asimptomàtics. En efecte, pocs estudis han caracteritzat la transició ecocardiogràfica de la forma indeterminada de la MCh a la CMCh, i menys encara el nivell establert per diferenciar la fase asimptomàtica del deteriorament del miocardi i la identificació de biomarcadors d'infecció, patogènesi i la progressió a cardiomiopatia.

Objectiu general: Quantificar la morbiditat de la malaltia cardíaca de Chagas a nivell poblacional i avaluar paràmetres ecocardiogràfics i biomarcadors cardiovasculars que permetin distingir la severitat de la CMCh.

Mètodes: Es van realitzar tres treballs d'investigació. Una revisió sistemàtica metaanalítica, que va permetre sintetitzar l'evidència científica disponible sobre la prevalença d'alteracions electrocardiogràfiques (ECGs) generals i específiques en pacients seropositius i seronegatius per MCh a nivell poblacional, per a la qual es va utilitzar el mètode ponderat de variància inversa per combinar les mesures de resum utilitzant un model d'efectes aleatoris, així mateix l'heterogeneïtat va ser explorada amb els estadístics Cochrane χ^2 i I², anàlisi estratificats i metarregresiones. El biaix de publicació es va avaluar mitjançant gràfics en embut i proves de simetria de regressió d' Egger. Dos estudis de tall transversal analítics, un que va caracteritzar múltiples paràmetres ecocardiogràfics, incloent el speckle-tracking (ST) i els nivells de NT-proBNP en pacients amb diferents estadis de CMCh i va identificar els punts de tall de canvis inicials en aquests paràmetres (estadi A vs B, C, D) i l'altre estudi va examinar el valor diagnòstic d'un panell de biomarcadors cardiovasculars per distingir la severitat de la CMCh. En aquests últims es van realitzar models de regressió logística crús i ajustats i es va utilitzar l'índex de Youden per identificar el millor punt de tall. La capacitat discriminatòria va ser avaluada amb l'àrea sota la corba receptor operador (AUC-ROC).

Resultats: La prevalença general d'alteracions ECGs va ser major en pacients amb MCh 40.1% (IC del 95% 39.2 a 41.0%) comparada amb els no chagàsics 24.1% (IC del 95% 23.5 a 24.7%) (Odds ràtio OR=2.78; IC del 95% 2.37 a 3.26). Entre les alteracions ECGs específiques, la prevalença del bloqueig

complet de branca dreta (BCBD) (OR=4.60; IC del 95% 2.97 a 7.11), el bloqueig fascicular anterior esquerre (BFAI) (OR= 1.60; IC del 95% 1.21 a 2.13), la combinació de RCRD/BFAI (OR=3.34; IC del 95% 1.76 a 6.35), el bloqueig auriculoventricular (A-V) de primer grau (OR=1.71; IC del 95% 1.25 a 2.33), la fibril·lació o flutter auricular (OR=2.11; IC del 95% 1.40 a 3.19) i les extrasístoles ventriculars (EV) (OR=1.62; IC del 95% 1.14 a 2.30) van ser més freqüents en pacients chagàsics versus no chagàsics. El strain longitudinal global (SLG) del ventricle esquerre (VE), la velocitat del flux d'E mitral, l'índex de massa del VE i el NT-proBNP van identificar canvis inicials útils per distingir l'estadi A vs B, C i D. L'AUC-ROC més alt va ser per al SLG VI amb un punt de tall -20,5% (AUC-ROC 92.88%, sensibilitat 80.85%, especificitat 86.67%), el qual va millorar quan es va ajustar addicionalment per NT-proBNP amb un punt de tall -20,0% (AUC-ROC 94,44%, sensibilitat 89,36% i 87,88% d'especificitat). En models ajustats per edat, sexe, índex de massa corporal i funció renal, nivells elevats de Hs-cTnT (OR=1.26; IC del 95% 1.08 a 1.47), NT-proBNP (OR=1.01; IC del 95% 1.00 a 1.01), NGAL (OR=1.02; IC del 95% 1.00 a 1.03) i cistatina C (OR= 104; IC del 95% 2.2 a 5025) van mostrar associació significativa amb la severitat de la CMCh. La precisió del NT-proBNP i Hs-cTnT per al diagnòstic de severitat de la CMCh va ser alta: AUC-ROC de 0.95 i 0.91, respectivament.

Conclusions: La prevalença d'alteracions ECGs en pacients chagàsics a nivell poblacional és del 40.1%, amb una freqüència 2.78 vegades major en pacients chagàsics vs. no chagàsics. El SLG VI, la velocitat del flux d'E mitral, l'índex de massa de la VI, els nivells de NT-proBNP i Hs-cTnT podrien ser variables diagnòstiques útils per a identificar l'inici primerenc del compromís del miocardi en pacients seropositius per a la MCH (distingir la forma indeterminada de l'afectació cardíaca). No obstant això, aquestes troballes requereixen ser confirmades en futurs estudis longitudinals.



2. INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

2.1 CARDIOMIOPATÍA CHAGÁSICA

La enfermedad de Chagas (ECh) fue descrita por primera vez en 1909 por Carlos Chagas, quien realizó estudios clínicos, epidemiológicos, biológicos y patológicos que le permitieron identificar el agente etiológico (*Trypanosoma cruzi*), el vector (triatominos) y el ciclo de la enfermedad que afligía a los trabajadores ferroviarios brasileños (1-4). La ECh es una enfermedad tropical desatendida, que sigue siendo un grave problema de salud pública en América Latina y es una enfermedad emergente en varios países no endémicos, donde el conocimiento de la condición y la experiencia del manejo clínico son limitados (5). La cardiomiopatía Chagásica (CMCh) suele ser una manifestación tardía de la fase crónica de la ECh, caracterizada por una miocarditis crónica que afecta a las cavidades cardíacas y genera un daño del sistema de conducción-excitación de la inervación autonómica intrínseca, resultando en una remodelación cardíaca (5, 6). La CMCh es la más importante manifestación clínica de la ECh debido a su frecuente severidad e impacto en la morbi-mortalidad (6), afectando aproximadamente al 20-40% de quienes tienen la fase crónica de la enfermedad y en ellos causa falla cardíaca (FC), bloqueos cardíacos, tromboembolismos, enfermedad cerebrovascular y muerte súbita (3, 7, 8).

La CMCh abarca todos los casos de ECh con afectación cardíaca, definida por la presencia de al menos una anomalía electrocardiográfica típica en aquellos pacientes que tienen pruebas serológicas positivas para *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). La CMCh dilatada se refiere al patrón hemodinámico de la CMCh caracterizada por agrandamiento ventricular izquierdo con segmentación o global deterioro de la función sistólica, independientemente de los hallazgos electrocardiográficos (ECGs) (9).

2.2 EPIDEMIOLOGÍA

Según la Organización Mundial de la Salud, la ECh hace parte del listado de las 17 enfermedades tropicales desatendidas, debido a que: tiene una particular dispersión geográfica que afecta principalmente a poblaciones de bajo nivel socioeconómico; alta morbi-mortalidad con un importante impacto socioeconómico; barreras biomédicas y psicosociales para el diagnóstico, tratamiento-control y una limitada disponibilidad de recursos y prioridad política (3).

Las áreas endémicas de la ECh incluyen 21 países de América Latina, siendo Brasil, México, Argentina y Bolivia los países con las mayores prevalencias de personas infectadas, representando aproximadamente el 71% (4.2 millones) de los casos estimados (10, 11) (**Tabla 1**).

La prevalencia global estimada de infección por *T. cruzi* disminuyó de 18 millones en 1991 a 5.7 millones en 2010 (12) (**Tabla 2 y Figura 1**). Esta disminución, atribuida principalmente a los programas para el control y eliminación del vector, implementados en los últimos 20 años como lo fueron la Iniciativa del Cono Sur, la Iniciativa del Pacto Andino y la Iniciativa de América Central y la obligatoriedad de pruebas de identificación del parásito en los bancos de sangre. Gracias a estas medidas se ha logrado una reducción sustancial de nuevos casos y una disminución de la carga de ECh en América Latina (10, 13) (**Tablas 1-2**). En consecuencia de la implementación de dichas medidas, la transmisión vectorial fue interrumpida en Uruguay en 1997, 1999 en Chile, y en el 2000 en la mayor parte de Brasil (13).

En las últimas décadas, el perfil epidemiológico de la ECh ha cambiado debido a los movimientos migratorios, que han llevado a la urbanización y globalización de la enfermedad (14). En países no endémicos, la prevalencia global de la infección en migrantes latinoamericanos viviendo en Europa es del 4.2% (IC del 95% 2.2 a 6.7%) con una mayor prevalencia en migrantes de Bolivia 18.1% (IC del 95% 13.9 a 22.7%) y Paraguay 5.5% (IC del 95% 3.5 a 7.9%) (15). Según estimaciones del *Centers for Disease Control and Prevention* en Estados Unidos existen unas 300.000 personas infectadas con *T. cruzi*, y probablemente unas 30.000 a 45.000 tienen CMCh sin diagnosticar (10-15%) con la forma clínica de la enfermedad (14).

La CMCh es la principal causa de miocardiopatía no isquémica en Latinoamérica, afectando entre el 20% y 40% de los pacientes seropositivos para *T. cruzi* (3, 16). Argentina, Brasil y Colombia tienen más personas viviendo con la CMCh que otros países latinoamericanos (3). El compromiso cardíaco es el aspecto clínico más relevante de la ECh por sus características, frecuencia y severidad. La fase crónica va hasta el final de la vida, lo que se traduce en disminución de la esperanza de vida (17).

Tabla 1. Prevalencia de la infección de *Trypanosoma cruzi*, en países latinoamericanos (1980-85/2005) y el efecto de las iniciativas para el control o eliminación de la enfermedad de Chagas.

	1980-85		2005	
	Individuos infectados n (%)	Individuos en riesgo (%)	Individuos infectados n (%)	Individuos en riesgo (%)
Iniciativa del Cono Sur (1991)^{II}				
Argentina	2.640.000 (10.0)	23	1.600.000 (4.1)	19
Bolivia	1.300.000 (24.0)	32	620.000 (6.8)	35
Brasil	6.180.000 (4.2)	32	1.900.000 (1.0)	12
Chile	1.460.000 (16.9)	63	160.200 (1.0)	5
Paraguay	397.000 (21.4)	31	150.000 (2.5)	58
Uruguay	37.000 (3.4)	33	21.700 (0.7)	19
Iniciativa del Pacto Andino (1997)^{II}				
Colombia	900.000 (30.0)	11	436.000 (1.0)	11
Ecuador	30.000 (10.7)*	41	230.000 (1.7)	47
Perú	621.000 (9.8)	39	192.000 (0.7)	12
Venezuela	1.200.000 (3.0)	72	310.000 (1.2)	18
Iniciativa de América Central (1997)^{II}				
Belice	----	--	2.000 (0.7)	50
Costa Rica	130.000 (11.7)	45	23.000 (0.5)	23
El Salvador	900.000 (20.0)	45	232.000 (3.4)	39
Guatemala	1.100.000 (16.6)	54	250.000 (2.0)	17
Honduras	300.000 (15.2)	47	220.000 (3.1)	49
Nicaragua	----	--	58.600 (1.1)	25
Panamá	200.000 (17.7)	47	21.000 (0.01)	31
México	----	--	1.100.000 (1.0)	28
Total	17.395.000	25	7.694.500 (1.4)*	20

^{II}=Año de inicio; ----=Datos no disponibles; *=Prevalencia de individuos infectados fue subestimada; *Incluidos alrededor de 150.000 individuos infectados viviendo en Estados Unidos y 18.000 en las Guayanas, pero los datos para estas regiones no se muestran en la tabla.

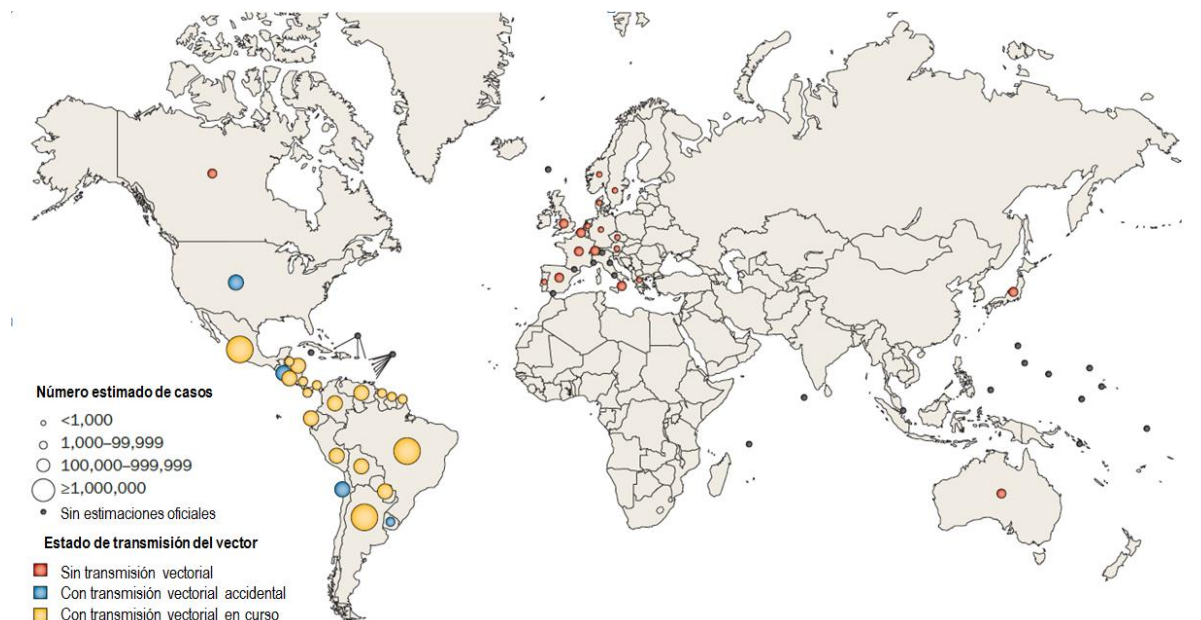
Fuente: Tomado y traducido al español de Rassi A, Jr., Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. Lancet. 2010;375(9723):1388-402. (10)

Tabla 2. Cambios en la prevalencia, incidencia y mortalidad de la enfermedad de Chagas, 1985-2010, en 21 países endémicos de América Latina.

	1980-85	2005	2010
Población en riesgo (% total)	92.895.000 (25%)	108.595.000 (20.4%)	70.199.360 (12.9%)
Número de personas infectadas	17.395.000	7.694.500	5.742.167
Número de casos nuevos por año	700.000	55.585	38.593
Transmisión congénita	7.000-49.000*	14.385	8.668
Transmisión vectorial	No reportada	41.200	29.925
Número de muertes por año	>45.000	12.500	12.000

Fuente: Tomado y traducido al español de Perez-Molina JA, Molina I. Chagas disease. Lancet. 2018;391(10115):82-94. (13)

Figura 1. Distribución global de individuos infectados por *Trypanosoma cruzi*. Estimaciones oficiales de la transmisión del vector entre 2006 y 2009.



Fuente: Tomado y traducido al español de Ribeiro AL, Nunes MP, Teixeira MM, Rocha MO. Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. Nat Rev Cardiol. 2012;9(10):576-89. (8)

2.3 TRANSMISIÓN

El principal mecanismo de transmisión del *T. cruzi* a los humanos es por vía vectorial a través de la picadura de triatomíneos infectados del género *Triatoma*, *Panstrongylus* y *Rhodnius* (*Hemiptera reduviidae*) (18, 19). La probabilidad de infección humana a través del contacto con un triatómino infectado es aproximadamente 1 de 1000 (20).

El siguiente mecanismo de transmisión más común es la infección a través de la transfusión de sangre o sus derivados, responsable de aproximadamente el 10% de los casos de la ECh (20). Así mismo, se estima una tasa de infección por unidad de sangre entre el 10-25% y es la mayor ruta de transmisión en zonas urbanas (13, 20).

La tercera ruta de transmisión en el orden de importancia es la vía congénita, con aproximadamente 5.000-18.000 nuevos casos por año y puede ocurrir tanto en áreas endémicas como no endémicas (20). La probabilidad de infección congénita es del 4.7% (IC del 95% 3.9 a 5.6%) y es mayor en países endémicos, comparada con países donde la ECh no es endémica (5.0% vs. 2.7%) (21).

También se ha documentado la transmisión oral del *T. cruzi* como microepidemias de ECh agudo en países endémicos como Brasil, Colombia, Venezuela y otros, tras la ingestión de alimentos contaminados con triatóminos infectados o sus excretas (carne, jugo de caña de azúcar o açai (*Euterpe oleracea*) palmera nativa del norte de Sudamérica, jugos de fruta, entre otros), con una alta mortalidad y mal pronóstico (20, 22). Otros mecanismos de transmisión menos frecuentes incluyen la contaminación accidental durante el trabajo en el laboratorio y el trasplante de órganos como riñón, hígado y corazón, con tasas de infección de 0-19%, 0-29% y 75-100%, respectivamente (13, 18, 20).

2.4 PATOGÉNESIS

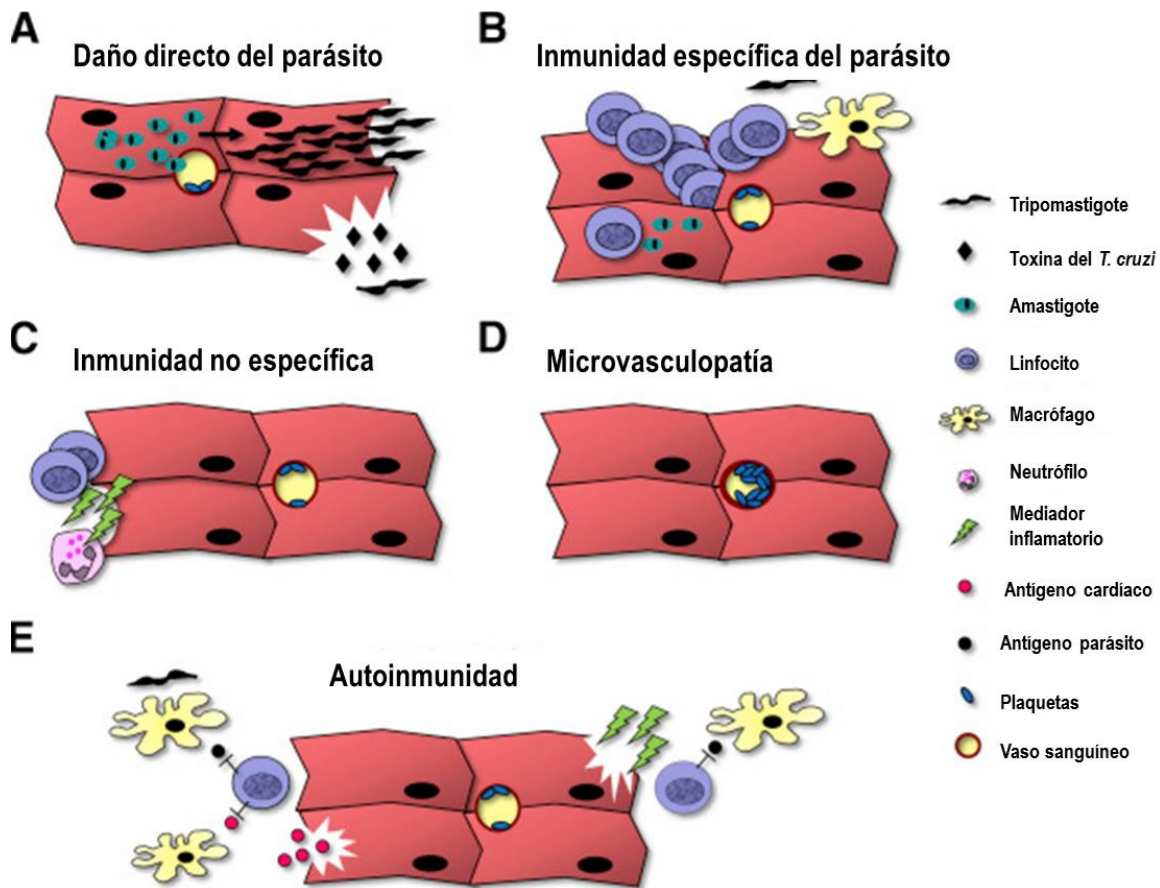
La patogenia de la enfermedad cardíaca de Chagas es una interacción compleja de diferentes procesos relacionados, entre los que se incluyen: el daño directo de los cardiomiocitos mediado por parásitos vivos,

daño por sí mismo como resultado de la exposición a la respuesta inmune específica del parásito, el daño celular debido a los efectos de la respuesta inmune no específica en el microambiente local, cambios en la microvasculatura que conduce a isquemia e inflamación, fibrosis y disautonomía, entre otros (3, 23, 24).

En la CMCh, los miocitos cardíacos experimentan necrosis y citólisis a través de diversos mecanismos, y se desarrollan áreas de hipertrofia miocelular e infiltración de células mononucleares en el tejido cardíaco, con menos macrófagos, eosinófilos, neutrófilos y mastocitos. La fibrosis se desarrolla en respuesta al daño del miocardio. Esta remodelación puede alterar el sistema de conducción cardíaca, lo que lleva a arritmias cardíacas, adelgazamiento del miocardio e hipertrofia cardíaca. Aunque se puede detectar el ácido desoxirribonucleico o el antígeno del parásito en algunas lesiones inflamatorias, los parásitos intactos con frecuencia están ausentes del corazón en la CMCh (23).

Además de los cambios histopatológicos, también es común encontrar el desarrollo de trombos oclusivos, aneurisma apical dilatado del ventrículo izquierdo (VI), disminución de la contractilidad de las fibras musculares cardíacas y destrucción del sistema de conducción cardíaco. El daño muscular cardíaco asociado conduce a la dilatación y arritmias cardíacas, bloqueos cardíacos de alto grado y, en última instancia, a la insuficiencia cardíaca congestiva, que es la principal causa de muerte en pacientes con la enfermedad cardíaca crónica de Chagas (23). En la **figura 2** se observan los mecanismos por los cuales la infección por *T. cruzi* puede causar miocarditis.

Figura 2. Mecanismos por los cuales la infección por *T. cruzi* puede causar miocarditis.



Fuente: Tomado y traducido al español de Bonney KM, Engman DM. Autoimmune pathogenesis of Chagas heart disease: looking back, looking ahead. *Am J Pathol.* 2015; 185(6):1537-47. (23)

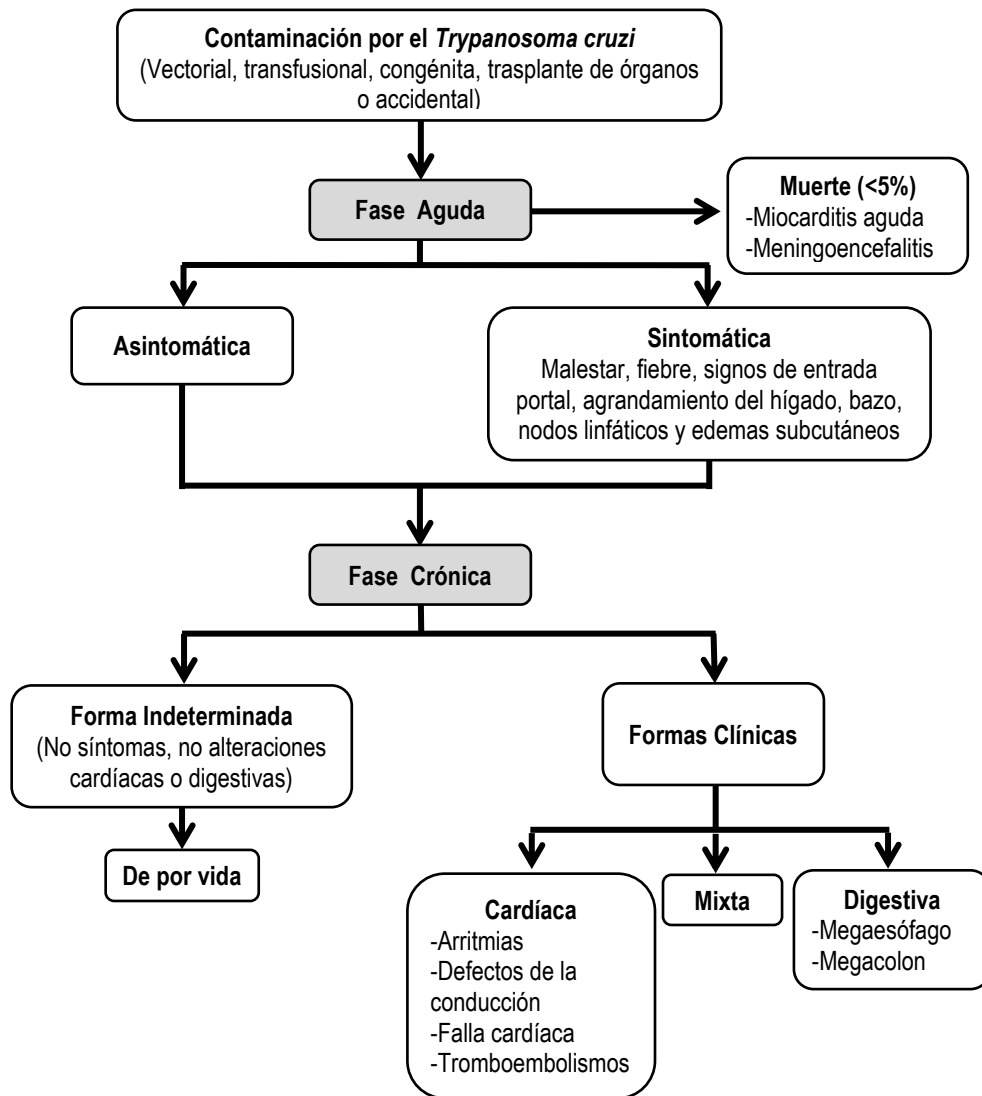
2.5 ASPECTOS CLÍNICOS

La ECh es caracterizada por dos fases bien establecidas: aguda y crónica (25, 26). La fase aguda presenta un alto grado de parasitemia y proliferación de amastigotes en varios órganos, tiene un tiempo de duración de 4-8 semanas, generalmente es asintomática y es diagnosticada en solo el 1-2% de los casos. La tasa de mortalidad en esta fase es menor del 5%, usualmente debida a una miocarditis severa o meningoencefalitis tisular (25, 26). Después de 2-4 meses desaparecen las manifestaciones clínicas agudas y los parásitos rara vez se detectan en la sangre periférica. La enfermedad entra en la fase crónica y se caracteriza por dos formas clínicas distintas: indeterminada y determinada (20).

La forma indeterminada, generalmente se instaure de 4 a 10 semanas después de la infección y se establece con la presencia de la infección confirmada por una prueba serológica o parasitaria, en ausencia de manifestaciones clínicas, radiológicas y ECGs características de la ECh (compromiso cardíaco, esófago o colon). La mayoría de los pacientes permanecen con la forma indeterminada durante toda la vida, ésta tiene un buen pronóstico y la muerte debida a la infección en esta fase es rara (7, 26). Sin embargo, otros pacientes evolucionan a la forma determinada de la enfermedad después de 10-30 años de la infección aguda, afectando a órganos específicos, como el corazón, el esófago y colon, originando las diferentes formas: cardíacas, digestivas o mixtas. La progresión de la forma indeterminada a la forma cardíaca ocurre en una tasa promedio de alrededor del 2% por año (20).

La forma cardíaca generalmente se determina por la presencia de alteraciones ECGs que abarcan un amplio espectro, desde alteraciones ECGs menores con la función sistólica del VI normal, a varias formas de arritmias y miocardiopatía dilatada con insuficiencia cardíaca. La CMCh ocurre en el 20-40% de los pacientes seropositivos para la ECh, 15-20% la forma digestiva y ambas en 1-5% (18, 26). En la **figura 3** se puede observar la historia natural de la ECh y en la **tabla 3** se resumen las características clínicas de la enfermedad según su fase.

Figura 3. Historia natural de la enfermedad de Chagas.



Fuente: Tomada y traducida al español de Rassi a Jr, Rassi A, Rassi SG. Predictors of mortality in chronic Chagas disease: a systematic review of observational studies. *Circulation*. 2007; 115(9):1101-8. (25)

Tabla 3. Características clínicas de la enfermedad de Chagas según su fase.

	Distribución geográfica	Período de incubación	Presentación clínica
Fase Aguda			
Vectorial	Países endémicos	1-2 semanas	Señales de entrada portal: lesión cutánea indurada (chagoma) o edema palpebral (signo de Romaña). La mayoría de los casos son enfermedades leves (95-99%) y no reconocidos. Fiebre persistente, fatiga, linfadenopatía, hepatomegalia, esplenomegalia, erupción morbiliforme, edema. En casos raros, miocarditis o meningoencefalitis, anemia, linfocitosis, concentraciones elevadas de transaminasas hepáticas. Riesgo de mortalidad 0.2-0.5%.
Congénita	Países endémicos y no endémicos	Desde el nacimiento hasta varias semanas	La mayoría asintomáticos o síntomas leves. Prematuridad, bajo peso al nacer, aborto, muerte neonatal. Fiebre, ictericia, edema, hepatomegalia, esplenomegalia, dificultad respiratoria síndrome, miocarditis, meningoencefalitis; anemia y trombocitopenia. Riesgo de mortalidad <2%.
Oral	Áreas restringidas en países endémicos (Cuenca del Amazonas) y brotes locales	3-22 días	Fiebre, vómitos, edema periocular, disnea, fiebre, mialgia, postración, tos, esplenomegalia, hepatomegalia, dolor de pecho, dolor abdominal, hemorragia digestiva. Riesgo de mortalidad 1-35%.
Transfusión o trasplante	Países endémicos y no endémicos	8-160 días	Fiebre persistente. Características clínicas similares a los casos vectoriales (excluyendo signos de entrada portal). El riesgo de mortalidad es variable y depende de la gravedad de la enfermedad inicial.
Reactivación en pacientes con HIV	Países endémicos y no endémicos	Variable	Se comporta como otras infecciones oportunistas. Reactivación con <200 células CD4 por μ L (principalmente con <100). Afecta al sistema nervioso central (75-90%) como lesiones individuales o múltiples que ocupan espacio o como meningoencefalitis necrohemorrágica grave. Complicación cardíaca (10-55%): miocarditis, derrame pericárdico o empeoramiento de una miocardiopatía previa. Riesgo de mortalidad 20%.
Reactivación en otros pacientes inmunosuprimidos	Países endémicos y no endémicos	Variable	Reactivación después del trasplante o en pacientes con neoplasias hematológicas. Características clínicas similares a las de los pacientes sometidos a transfusión y aquellos con paniculitis y otros trastornos de la piel. El riesgo de mortalidad es variable y depende de la gravedad de la enfermedad inicial y el diagnóstico precoz.
Fase Crónica			
Indeterminada	Países endémicos y no endémicos	----	Asintomático. Radiografía de tórax y ECG de 12 derivaciones normal.
Determinada (cardíaca y gastrointestinal)	Países endémicos y no endémicos	----	Manifestaciones cardíacas: fatiga, síncope, palpitaciones, mareos, accidente cerebrovascular. Manifestaciones tardías: dolor de pecho (atípico), disnea, edema, disfunción ventricular izquierda, falla cardíaca. Alteraciones en ECG de 12 derivaciones, ecocardiografía u otras pruebas de función cardíaca. Gastrointestinal: disfagia, regurgitación, estreñimiento severo (esófago dilatado o colon). Alteraciones en la manometría esofágica, el trago de bario o el enema de bario.

Fuente: Tomada y traducida al español de Perez-Molina JA, Molina I. Chagas disease. Lancet. 2018;391(10115):82-94. Rassi A Jr, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. Lancet. 2010; 375(9723):1388-402. (10, 13)

2.6 DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

En la práctica clínica, la estrategia de diagnóstico de la ECh depende del estadio clínico de la infección (24). En la fase aguda de la enfermedad, el nivel de parásitos es alto y se pueden detectar los tripomastigotes en sangre directamente en el microscopio (12, 27). La reacción en cadena de la polimerasa también se utiliza para el diagnóstico tisular durante la fase aguda, ofreciendo una evaluación cualitativa y cuantitativa de la carga parasitaria (12, 27).

El nivel de parasitemia disminuye dentro de los primeros 90 días de infección y después, el *T. cruzi* no es detectable, por lo tanto el diagnóstico en la fase crónica se basa en el estudio serológico para identificar tripomastigotes (la forma madura del parásito) o inmunoglobulina G (IgG) contra *T. cruzi*. El diagnóstico se centra, principalmente, en la detección de anticuerpos séricos tipo IgG para el parásito a través de pruebas serológicas, siendo las tres más comunes: hemaglutinación indirecta (HAI), inmunofluorescencia indirecta (IFI) e inmunoensayo ligado a una enzima “Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay” (ELISA) (12, 27). No existe una prueba que tenga la suficiente sensibilidad y especificidad para ser usada como única prueba; dos pruebas positivas, preferiblemente basadas en diferentes antígenos son necesarias para la confirmación de la ECh, y en resultados discordantes una tercera prueba es requerida para confirmar el diagnóstico (3, 7, 12, 26).

El electrocardiograma (ECG) es la prueba inicial que da evidencia del compromiso cardíaco y es el examen individual más importante en la CMCh (17, 27). Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado que los pacientes con un ECG normal tienen una excelente supervivencia a mediano plazo y en raras ocasiones, puede ocurrir muerte súbita en estos pacientes (7, 17). El bloqueo de rama derecha (BRD) y el bloqueo fascicular anterior izquierdo (BFAI) están presentes en aproximadamente el 40% de los pacientes con insuficiencia cardíaca de origen Chagásico, siendo estos hallazgos más prevalentes en la CMCh que en otros tipos de cardiomiopatía (27, 28); sin embargo, no existe un consenso sobre cuáles son los criterios ECGs más prevalentes en estudios poblacionales. Los pacientes con cambios ECGs que sugieren una afectación cardíaca deben someterse a una evaluación adicional para determinar la gravedad de la enfermedad (27).

El monitoreo holter ECG de 24 horas permite identificar arritmias transitorias asintomáticas que son frecuentes en la ECh, como la taquicardia ventricular, arritmia ventricular de forma compleja, taquicardia ventricular sostenida o transitoria avanzada y bloqueos cardíacos, que pueden indicar la necesidad de terapia o dispositivos antiarrítmicos. Adicionalmente, es útil para el estudio de palpitaciones, síncope, evaluación de la eficacia de la terapia antiarrítmica y la variabilidad de la frecuencia cardíaca (7, 17). El estudio electrofisiológico invasivo también puede ser útil para identificar la causa del síncope, en especial cuando los resultados de las pruebas no invasivas no son concluyentes o para guiar el uso de dispositivos antiarrítmicos, marcapasos cardíacos y cardiodesfibriladores implantables (7, 17, 27).

La ecocardiografía (ECO) también es un método importante en la evaluación de la CMCh, debido a que permite evidenciar tanto alteraciones estructurales como funcionales en estadios tempranos del compromiso cardíaco, incluyendo una valoración de la disfunción diastólica y sistólica del VI, afectación del ventrículo derecho y anomalías de la contractilidad regional y los típicos aneurismas apicales (7, 17, 27). Nuevas técnicas ecocardiográficas, como el tejido Doppler y tasa de deformación (*strain rate*), también pueden ayudar en la evaluación de la CMCh (7, 17). A pesar de su utilidad, pocos estudios han evidenciado si variables ECOs podrían predecir la transición de la fase indeterminada a la determinada.

La resonancia magnética cardíaca en la evaluación de la CMCh ofrece una amplia variedad de herramientas imagenológicas para evaluar en detalle la morfología, función cardíaca y otras características tisulares, como la detección de edema, grasa y fibrosis (7, 17). Sin embargo, su alto costo y baja disponibilidad (centros especializados) limitan su uso como prueba diagnóstica en población general. En la **figura 4** se puede observar la evolución a través del tiempo de los diferentes métodos y técnicas para el diagnóstico de la CMCh.

Por su parte, el tratamiento de la ECh involucra tanto la terapia específica parasitaria como el manejo de la FC (14). En la fase aguda, se recomienda la terapia antitripanosomal en infección congénita, infecciones reactivadas y enfermedades crónicas en niños menores de 18 años. Ante la persistencia de la parasitosis y la inflamación crónica subyacente a la CMCh, el tratamiento parasiticida generalmente se ofrece a

pacientes con Chagas crónico en fase indeterminada y aquellos con enfermedad leve o moderada. No obstante, las opiniones difieren sobre el impacto del tratamiento etiológico en esta fase (13).

Actualmente, los regímenes disponibles incluyen benznidazol y nifurtimox. La dosis recomendada de benznidazol es de 5-7.5 mg/kg por día (máximo 300mg/24 horas), vía oral, administrada en 2 a 3 dosis diarias por 60-90 días en la fase crónica (10 mg/kg por día en fase aguda). En cuanto al nifurtimox 8-10 mg/kg por día en 3 a 4 dosis orales diarias por los mismos 60-90 días (3, 13). Los datos actuales sugieren que el tratamiento antitripanocida en la enfermedad cardíaca establecida es poco probable que cambie los resultados clínicos. El reciente ensayo clínico controlado "BENEFIT", multicéntrico, aleatorizado, no demostró ningún efecto significativo del benznidazol en prevenir la progresión de la CMCh establecida; disminuyó significativamente la carga parasitaria en suero, pero no redujo el deterioro clínico cardíaco en 5 años de seguimiento (29).

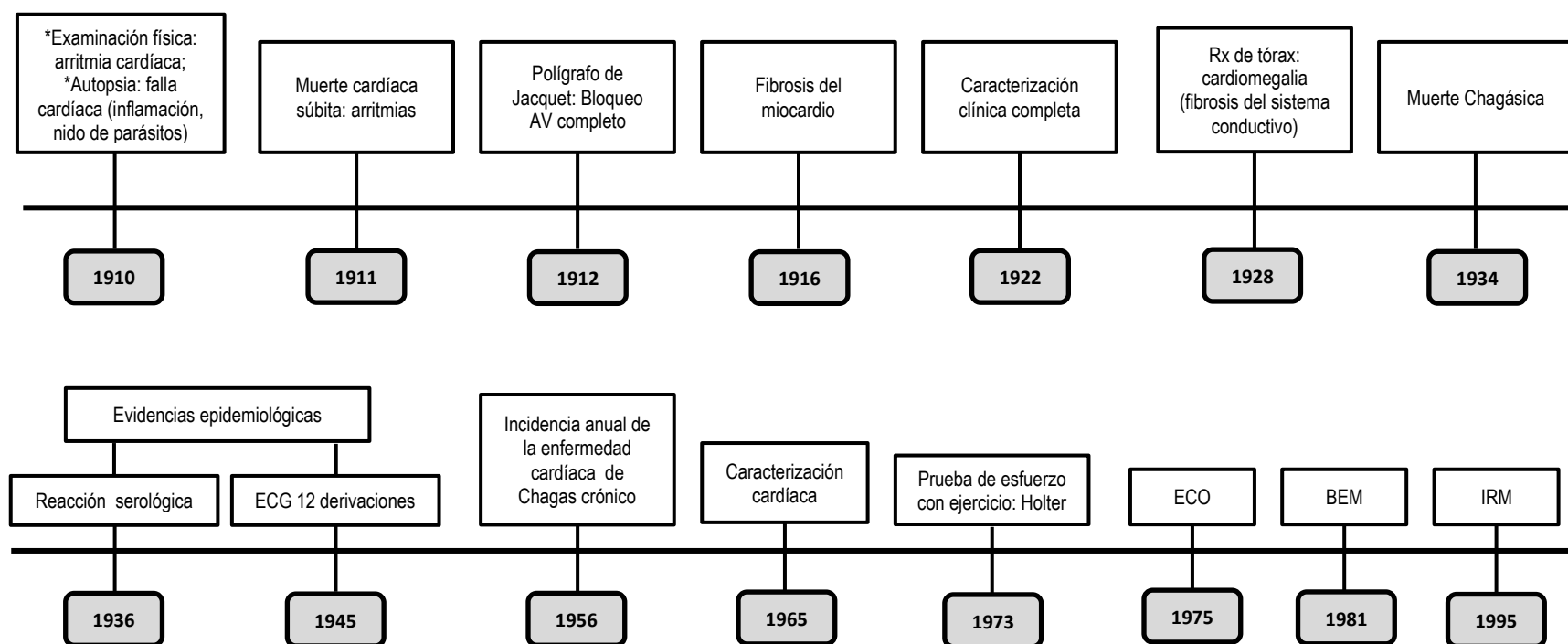
Además, para todas las personas con infección por *T. cruzi* se recomiendan evaluaciones cardíacas anuales, iniciando con un ECG de 12 derivaciones, independientemente de si han recibido tratamiento antitripanosomal. Los síntomas cardíacos o las alteraciones ECGs requieren un estudio cardíaco a profundidad, que incluya ECO, monitorización ECG ambulatoria y estudios electrofisiológicos, según corresponda. En general, el manejo sigue las prácticas de otras causas de enfermedad cardíaca (3, 12, 24).

Como se mencionó anteriormente, la disfunción del nodo sinusal y los bloqueos auriculoventriculares de alto grado son frecuentes en la CMCh y pueden ser indicaciones para la implantación de marcapasos. Aunque la evidencia de ensayos clínicos es limitada, la mayoría de los cardiólogos con experiencia en la ECh prefieren la amiodarona como fármaco de primera línea para las arritmias ventriculares y respaldan el papel de los cardiodesfibriladores implantables como un método adicional de tratamiento en estos pacientes (3, 12, 24).

Así mismo, las bradiarritmias son comunes y requieren una monitorización cuidadosa cuando se usan digoxina o betabloqueadores. La FC se trata de acuerdo con las pautas estándar de insuficiencia cardíaca de cualquier etiología, por lo tanto la piedra angular del tratamiento farmacológico es el uso de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), bloqueadores de los receptores de angiotensina II (ARA-II), diuréticos y antagonistas de aldosterona. El trasplante cardíaco es un método efectivo para tratar la CMCh con insuficiencia cardíaca refractaria (3, 9, 12, 24).

En la **tabla 4** se presenta la reciente declaración científica de la American Heart Association sobre las recomendaciones para el tratamiento farmacológico de la FC en ECh y en la **figura 5** se presenta un algoritmo de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de pacientes que están en riesgo de adquirir la infección por *T. cruzi* en presencia o ausencia de síntomas cardiovasculares.

Figura 4. Línea de tiempo de la construcción científica de la enfermedad cardíaca crónica de Chagas.



Abreviaciones: AV: Atrioventricular; Rx: Radiografía; ECG: Electrocardiograma; ECO: Ecocardiografía; BEM: Biopsia endomiocárdica; IRM: Imagen de resonancia magnética.

Fuente: Tomada y traducida al español de Bestetti RB, Restini CB, Couto LB. Carlos Chagas discoveries as a drop back to scientific construction of chronic Chagas heart disease Arq Bras Cardiol. 2016; 107(1):63-70. (2)

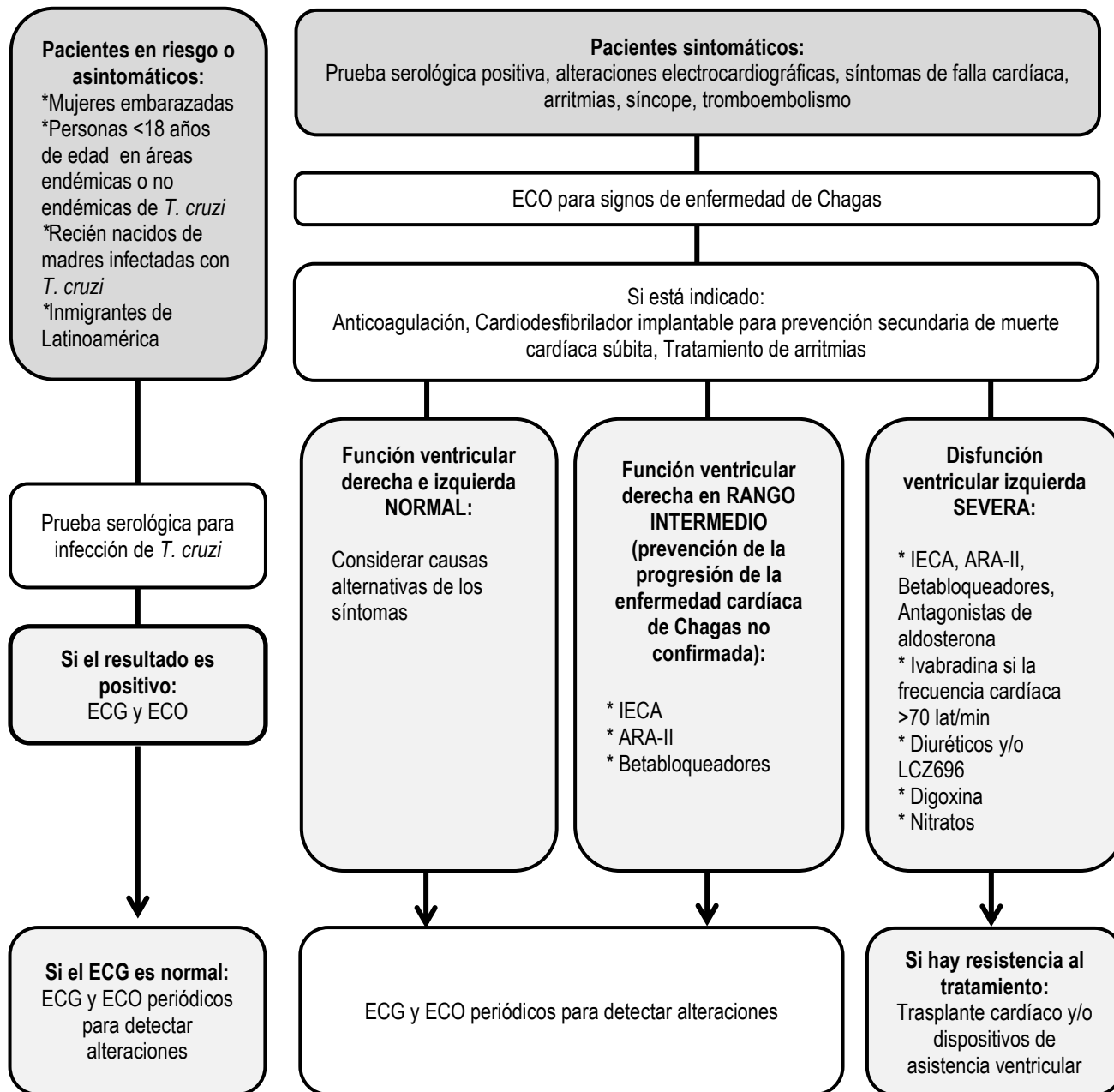
Tabla 4. Recomendaciones para el tratamiento farmacológico de falla cardíaca en enfermedad de Chagas.

Medicamentos	Recomendación
IECA o ARA-II	Son recomendados para todos los pacientes con deterioro del movimiento de la pared regional o con FEVI reducida.
Betabloqueadores	Son beneficiosos para todos los pacientes con una frecuencia cardíaca >55 latidos/minutos y FEVI reducida.
Mineralocorticoides/Antagonistas del receptor de aldosterona	Pueden ser beneficiosos para pacientes clasificados con NYHA clase II-IV y quienes tienen LVEF ≤35%.
Diuréticos de asa	Son beneficiosos para todos los pacientes con FEVI reducida que tienen una evidencia actual o previa de retención de líquidos
Diuréticos tiazídicos	Son beneficiosos para pacientes quienes no responden a altas dosis de diurético de asa
Digoxina y otros glucósidos digitálicos	Pueden ser útiles para pacientes con síntomas persistentes (NYHA clase III-IV y falla cardíaca derecha), independientemente del ritmo subyacente
Anticoagulantes orales	Pueden ser beneficiosos en pacientes con fibrilación auricular paroxística o persistente/permanente, eventos tromboembólicos previos y trombos
Terapia antiplaquetaria (aspirina)	Es razonable para los pacientes quienes tienen indicaciones para la anticoagulación pero con alto riesgo de hemorragia o sagrado grave
Anticoagulantes orales más nuevos	Pueden considerarse como una alternativa a warfarina
Amiodarona	Puede ser beneficiosa usada solo o en combinación con un β-bloqueador para suprimir arritmias ventriculares sintomáticas en pacientes con FEVI reducida y en aquellos con un alto porcentaje de latidos ectópicos ventriculares y taquicardia ventricular no sostenida por monitorización Holter de 24 horas. También es recomendada para disminuir la frecuencia de descargas de cardiodesfibriladores implantables apropiadas.

Abreviaciones: IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina; ARA-II: Bloqueadores de los receptores de angiotensina II; FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo; NYHA: New York Heart Association.

Fuente: Tomado y traducido al Español de Nunes M, Beaton A, Acquatella H, Bern C, Bolger A, Echeverría L, et al. Chagas cardiomyopathy: an update of current clinical knowledge and management: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2018;0:CIR.0000000000000599. (9)

Figura 5. Diagnóstico y manejo de pacientes en riesgo de infección por *T. cruzi* basado en lineamientos: algoritmo de práctica clínica.



Abreviaciones: ECO: Ecocardiografía; ECG: Electrocardiograma; IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina; ARA-II: Bloqueadores de receptores de angiotensina II; LCZ696: Inhibidor del receptor de angiotensina-nepilisin.

Fuente: Tomada y traducida al español de Bocchi EA, Bestetti RB, Scanavacca MI, Cunha Neto E, Issa VS. Chronic Chagas heart disease management: from etiology to cardiomyopathy treatment. J Am Coll Cardiol. 2017; 70(12):1510-1524. (24)

2.7 ESTADIOS Y PRONÓSTICO

El daño miocárdio en la ECh generalmente es un proceso progresivo (14). Según el compromiso del VI y las manifestaciones de FC, la fase crónica ha sido clasificada en 4 estadios (A, B, C y D), siguiendo los lineamientos internacionales para el manejo de la insuficiencia cardíaca y adaptado para la ECh (14, 17, 30). En general, se considera que los pacientes chagásicos con un ECG normal tienen la fase indeterminada de la enfermedad (estadio A). La presencia de alteraciones ECGs implica progresión de la forma cardíaca (estadio B) y precede a la aparición de síntomas de falla cardíaca (estadios C y D) (14). En la **tabla 5** se presentan los diferentes esquemas de clasificación de gravedad de la CMCh.

Con respecto al pronóstico, la CMCh crónica tiene una presentación polimorfa en relación a sus manifestaciones clínicas, pero también tiene aspectos típicos de la enfermedad, por consiguiente resulta relevante una evaluación exacta del pronóstico de los pacientes con ECh (31, 32). La CMCh se caracteriza por miocarditis, fibrosis miocárdica extensa, destrucción del sistema de conducción, y una gran reducción en el número de neuronas cardíacas con deterioro progresivo de la función cardíaca y la aparición de arritmias ventriculares letales con un mal pronóstico (33). La mayoría de investigaciones, se han centrado principalmente en el estudio de variables pronosticas o predictores de mortalidad (25, 33, 34).

En el 2007 la revisión sistemática de Rassi AJ y Col. (25), cuyo objetivo fue identificar factores predictores de mortalidad en pacientes con enfermedad de Chagas crónica para derivar un algoritmo de estratificación de riesgo, determinó que la alteración de la función ventricular izquierda, la clase funcional New York Heart Association (NYHA) III-IV, la cardiomegalia y la taquicardia ventricular no sostenida son indicadores de un mal pronóstico en esta población.

En el 2012 una revisión narrativa de Nunes MC y Col. (33) sintetizó 14 estudios sobre los factores pronósticos potenciales para la CMCh realizados entre el año 1991 y 2012. Éstos evaluaron diferentes poblaciones, la mayoría de ellos incluyó pacientes solo con CMCh, y algunos sin afectación cardíaca, los tamaños de muestra variaron entre 50 y 856 pacientes con seguimientos entre 1.6 y 10 años. Los desenlaces estudiados fueron mortalidad por cualquier causa, muerte cardíaca o cardiovascular, progresión de la enfermedad y trasplante cardíaco. Se reportaron los siguientes factores pronósticos: edad,

sexo masculino, presión arterial sistólica, frecuencia cardíaca, cambio en el grupo clínico, clase funcional NYHA, tratamiento con benznidazol, falta del uso de betabloqueadores, uso de digoxina, niveles de sodio en suero, soporte con inotrópicos, índice cardiorácico, cardiomegalia en radiografía de tórax, ondas Q, dispersión del QT, voltaje del QRS, prolongación del QRS filtrado >130-133 ms (ECG de señal promediada), alteraciones ECGs mayores según código de Minnesota, desórdenes en la conducción intraventricular, fibrilación auricular (FA), taquicardia ventricular sostenida y no sostenida, contracciones ventriculares prematuras, arritmias ventriculares inducidas por ejercicio, variabilidad de la onda T, volumen ventricular izquierdo en diástole, dimensión sistólica ventricular izquierda, disfunción sistólica, fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), función ventricular derecha, volumen atrial izquierdo, relación E/e', aneurisma apical y el péptido natriurético tipo B (BNP) (33).

Por otra parte, la revisión narrativa de Bocchi EA y Col. del 2017 (24), destaca otros predictores pronósticos no específicos como la raza negra, bajos ingresos socioeconómicos, tasa de consumo de oxígeno máxima $VO_2 < 10$ mL/kg/min, bloqueo de rama izquierda, altos niveles de NT-proBNP (Fracción aminoterminal propéptido natriurético tipo B), enzima cardíaca creatina-quinasa (CK-MB), interleucinas 6 y 10, factor de necrosis tumoral alfa, factor de necrosis tumoral soluble receptor alfa tipo 1, adiponectina, entre otros biomarcadores, anormalidades del movimiento de las paredes segmentales y número de choques por paciente con cardiodesfibriladores implantables. Dentro de los predictores específicos enfatizan el bloqueo de rama derecha y hemibloqueo anterior izquierdo, prueba de Guerreiro-Machado positiva con alteraciones clínicas y/o ECGs y presencia de ácido desoxirribonucleico del parásito en reacción en cadena de la polimerasa (24).

Así mismo, se distingue una escala de estratificación del riesgo de progresión y dos puntuaciones de riesgo para predecir mortalidad a los 5 y 10 años en población con Ech (**Tabla 6**).

Tabla 5. Esquemas de clasificación de la gravedad de la cardiomiopatía Chagásica.

Clasificación Kuschnir Modificada (35)
<p>0: ECG y tamaño del corazón normal (usualmente basado en radiografía de tórax) I: ECG anormal y tamaño del corazón normal (usualmente basado en radiografía de tórax) II: Agrandamiento ventricular izquierdo III: FC congestiva</p>
Clasificación consenso Brasileiro 2005-2016 (36, 37)
<p>A: ECG anormal, ECO normal, FC ausente B1: ECG y ECO anormal (FEVI \geq 45%), FC ausente B2: ECG y ECO anormal (FEVI < 45%), FC ausente C: ECG y ECO anormal, FC compensada D: ECG y ECO anormal, FC refractaria</p>
Clasificación Los Andes Modificada (38)
<p>IA: ECG y ECO normal, no signos de FC IB: ECG normal y ECO anormal, no signos de FC II: ECG y ECO anormal, no signos de FC III: ECG y ECO anormal, signos de FC</p>
Clasificación incorporada en American College of Cardiology/American Heart Association Staging (39)
<p>A: ECG, tamaño del corazón y FEVI normal, clase funcional NYHA I B: ECG anormal, tamaño del corazón normal y FEVI normal, clase funcional NYHA I C: ECG anormal, aumento del tamaño del corazón, disminución FEVI, clase funcional NYHA II-III D: ECG anormal, aumento del tamaño del corazón, disminución FEVI, clase funcional NYHA IV</p>
Clasificación según Okamoto E. et al. (40)
<p>A: ECG y ECO normal B: ECG anormal, ECO normal >55% C: FEVI 40-55%, diámetro VI en diástole normal D: FEVI <40% o diámetro VI en diástole >57 mm</p>
Clasificación incorporada en las Recomendaciones de Multimodalidad de la Imagen Cardíaca en Pacientes con ECh JASE (41)
<p>A: Serología positiva, ECG normal, no enfermedad cardíaca o FC B1: Cardiomiopatía estructural (ECG o ECO anormales), función ventricular izquierda normal, no FC B2: Disfunción ventricular izquierda, no FC C: Disfunción ventricular izquierda, FC actual o anterior D: FC refractaria a pesar del tratamiento médico óptimo</p>

Abreviaciones: ECG: Electrocardiograma; FC: Falla cardíaca; ECO: Ecocardiograma; FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo; NYHA: New York Heart Association; ECh: Enfermedad de Chagas; JASE: Journal of the American Society of Echocardiography; VI: Ventrículo izquierdo.

Fuente: Tomada, adaptada y traducida al español de Bern C, Montgomery SP, Herwaldt BL, Rassi A, Jr., Marin-Neto JA, Dantas RO, et al. Evaluation and treatment of Chagas disease in the United States: a systematic review. JAMA. 2007;298(18):2171-81. (42)

Tabla 6. Puntajes de estratificación de riesgo en enfermedad de Chagas.

Estudio (año)	Factores de riesgo para la progresión de enfermedad cardíaca	Puntos
Viotti et al. (2005) (32)	Edad mayor a 50 años Diámetro sistólico mayor de 40 mm Desórdenes de la conducción intraventricular Taquicardia ventricular sostenida Tratamiento con benznidazol Total de puntos 0 1-3 4-6 7-10	2 3 2 3 -2 Riesgo de progresión 3.6% 6.9% 16.0% 52.5%
Rassi Jr et al. (2006) (43)	Clasificación funcional NYHA III o IV Cardiomegalia (Radiografía de tórax) Anormalidades de movilidad de las paredes segmentales o globales (ECO) Taquicardia ventricular no sostenida (Holter 24-h) Bajo voltaje del QRS (ECG) Sexo masculino Total de puntos 0-6 7-11 12-20	5 5 3 3 2 2 Mortalidad a 5 años 10 años 2% 10% 18% 44% 63% 84%
Ribeiro et al. (2008) (44)	Fracción de eyección ventricular izquierda <50% Taquicardia ventricular (Prueba de esfuerzo o holter 24-h) QRS filtrado >150 ms* o QRS > 133 ms en ECG Número de factores de riesgo 0-1 2 3	1 1 1 Mortalidad a 5 años 1% 20% 50%

Abreviaciones: NYHA: New York Heart Association; ECO: Ecocardiograma; ECG: Electrocardiograma; *ECG de señal promediada.

Fuente: Tomada y traducida al español de Nunes MC, Carmo AA, Rocha MO, Ribeiro AL. Mortality prediction in Chagas heart disease. Expert Rev Cardiovasc Ther. 2012; 10(9):1173-84. (33)



3. JUSTIFICACIÓN

3. JUSTIFICACIÓN

La ECh es una causa importante de FC (45). Entre el 20% y el 40% de los pacientes seropositivos para Chagas desarrollan CMCh dos o tres décadas después de la infección inicial (3). La asociación entre la ECh y las alteraciones cardíacas (estadio B o superiores) ha sido ampliamente estudiada; sin embargo, la evidencia existente es cuestionada por la heterogeneidad en los diseños, tamaño de muestra y calidad de los estudios (46-51). Esta información se basa en gran medida en estudios antiguos, individuales y los resultados varían sustancialmente entre los estudios realizados a nivel poblacional, lo que hace que su interpretación científica sea controversial (47, 52-56).

Asimismo, se conoce que la prevalencia de los diferentes tipos de alteraciones ECGs, como anomalías de la conducción intraventricular, bloqueo auriculoventricular y arritmias, es mayor en sujetos con ECh en comparación con sujetos sin ECh. Por lo anterior, se requiere una actualización y síntesis de la información, que sería muy útil y relevante para los médicos de países no endémicos en los que las implicaciones de la ECh para la atención en salud son reales y desatendidas (57). Dada la propagación de la ECh, es necesaria su evaluación adecuada e integral, así como su asociación con alteraciones ECGs globales y específicas (15, 57, 58).

Por otra parte, los pacientes con ECh tienen una tasa de mortalidad anual 1.74 veces mayor en comparación con aquellos sin ECh (34). A pesar de la alta morbi-mortalidad asociada y el impacto económico que causa esta enfermedad, aspectos importantes de su fisiopatología aún no se conocen por completo (32, 59, 60). La mayoría de los estudios se han centrado principalmente en la mortalidad, y hay pocos datos disponibles sobre la progresión de la enfermedad cardíaca que incluyan pacientes en las primeras etapas. En efecto, el daño miocárdico comienza tempranamente en el curso de la infección crónica por *T. cruzi* y es progresivo en una subpoblación de los infectados (33).

Adicionalmente, la CMCh es fisiopatológicamente diferente de otras etiologías de miocardiopatía dilatada, ya que se comporta como una miocarditis crónica progresiva con fibrosis focal (61). También existen diferencias desde el punto de vista clínico, donde la ECh se caracteriza por bloqueo atrioventricular (A-V),

eventos cerebrovasculares y altas tasas de muerte súbita, lo que significa mayor morbi-mortalidad independientemente del tratamiento farmacológico (13, 18, 62). Actualmente, no es posible predecir qué pacientes desarrollarán la forma clínica de la enfermedad o permanecerán asintomáticos (4-5), por lo que el diagnóstico oportuno y preciso de la ECh requiere experiencia clínica especializada para reconocer sus características particulares (26).

Pocos estudios han caracterizado la transición ecocardiográfica de la forma indeterminada de la ECh a la CMCh, y menos aún el límite establecido para diferenciar la fase asintomática del deterioro del miocardio (63); aunque en las primeras etapas de la enfermedad la función sistólica es preservada, pueden ocurrir eventos clínicos como muerte súbita y alteraciones en la conducción cardíaca que requieren marcapasos (64). Algunos autores han sugerido estudios comparativos para estimar la sensibilidad y especificidad de las anomalías ECOs (65).

Del mismo modo, debido a que la infección por *T. cruzi* generalmente es seguida por un período prolongado, clínicamente silente, antes del desarrollo de una presentación clínica manifiesta de la CMCh, la detección de biomarcadores de infección, patogénesis y progresión a cardiomiopatía es crítica. Se han informado varios biomarcadores potenciales, pero la mayoría no son específicos para la infección por *T. cruzi* o CMCh comparado con otras miocardiopatías. Estos biomarcadores pueden reflejar una lesión del miocardio o insuficiencia cardíaca (24).

Los biomarcadores que se correlacionan con la gravedad de la CMCh pueden ayudar a la toma de decisiones clínicas para mejorar la atención de estos pacientes. Sin embargo, hasta la fecha, existen pocos estudios para identificar biomarcadores que puedan usarse en la clasificación de la CMCh (40, 66, 67). Pocos informes de América Latina, que han incluido pacientes con CMCh, han examinado el papel de los biomarcadores cardíacos, tales como el NT-proBNP y la troponina T cardíaca de alta sensibilidad (Hs-cTnT), demostrando que sus niveles se relacionan con la severidad de la CMCh (40, 66, 67). Sin embargo, se desconoce si otros marcadores de la función cardíaca, como la galectina-3 (Gal-3) y ST2 soluble (sST2) (68, 69), pueden ser útiles para distinguir la gravedad de CMCh. Además, la lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL) y la cistatina C son marcadores de lesión renal, y sus niveles se

correlacionan con la severidad de la insuficiencia cardíaca, pero se sabe poco acerca de su papel en la CMCh (70, 71).

Dado lo anterior, las preguntas de investigación que rigieron esta tesis fueron las siguientes:

¿Cuál es la prevalencia de alteraciones electrocardiográficas generales y específicas en pacientes seropositivos y seronegativos para ECh a nivel poblacional?

¿Cuáles parámetros ecocardiográficos permiten distinguir los pacientes chagásicos asintomáticos de los sintomáticos?

¿Cuál es el mejor biomarcador cardiovascular (Hs-cTnT, NT-proBNP, Gal-3, NGAL, sST2, cistatina C) para distinguir la severidad de la CMCh?



4. OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Cuantificar la morbilidad de la enfermedad cardíaca de Chagas a nivel poblacional y evaluar parámetros ecocardiográficos y biomarcadores cardiovasculares que permitan distinguir la severidad de la CMCh.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar la evidencia científica disponible sobre la prevalencia de alteraciones electrocardiográficas generales y específicas en personas seropositivas y seronegativas para enfermedad de Chagas a nivel de estudios poblacionales, a través de una revisión sistemática metaanalítica.
2. Caracterizar múltiples parámetros ecocardiográficos, incluyendo el speckle-tracking (ST) y niveles de NT-proBNP en pacientes con diferentes estadios de la CMCh e identificar los puntos de corte de cambios tempranos en estos parámetros (estadio A vs. B, C, D).
3. Examinar el valor diagnóstico de un panel de biomarcadores cardiovasculares para distinguir la severidad de la CMCh.



5. METODOLOGÍA

5. METODOLOGÍA

A continuación se describe la metodología desarrollada para cada objetivo específico.

5.1 OBJETIVO ESPECÍFICO 1. Sintetizar la evidencia científica disponible sobre la prevalencia de alteraciones electrocardiográficas generales y específicas en personas seropositivas y seronegativas para enfermedad de Chagas a nivel de estudios poblacionales, a través de una revisión sistemática metaanalítica.

Diseño: Se realizó una revisión sistemática meta-analítica para (i) determinar la prevalencia general de alteraciones ECGs en individuos seropositivos y seronegativos para ECh en población general; (ii) cuantificar la prevalencia de alteraciones ECGs específicas en esta población; y (iii) caracterizar estas estimaciones según edad, sexo y región de origen, y (iv) evaluar la capacidad discriminadora de las alteraciones ECGs, tanto generales como específicas para clasificar a los pacientes como chagásicos y no chagásicos.

Fuentes de datos y estrategia de búsqueda: Esta revisión se realizó teniendo en cuenta los lineamientos de la guía MOOSE (72). Una extensa búsqueda de la literatura científica de artículos publicados hasta marzo de 2017 fue realizada con la ayuda de un bibliotecario médico en seis bases de datos electrónicas (EMBASE, Ovid Medline, Web of Science, Cochrane Central, Google Scholar y Lilacs) sin restricción de idioma. La búsqueda combinó términos relacionados con la ECh (Chagas Disease, *Trypanosoma cruzi*), términos relacionados con la seroepidemiología (Seroepidemiologic Studies, Seroprevalence, Seroepidemiology) (**Anexo 1**). Para identificar publicaciones adicionales se hicieron búsquedas en las referencias listadas en los estudios seleccionados y en revisiones de tema.

Selección de estudios y criterios de elegibilidad: Los estudios fueron elegibles si: (i) seleccionaban casos y controles de la población general (encuestas y donantes de sangre); (ii) eran estudios transversales, casos y controles y cohortes; (iii) reportaban el estado chagásico basado en cualquier

técnica para la detección de anticuerpos; y (iv) informaban la prevalencia de alteraciones ECGs basada en el diagnóstico electrocardiográfico de los participantes chagásicos y no chagásicos. Para evitar la sobreestimación de las medidas de efecto, no se incluyeron estudios que utilizaban casos y/o controles de un entorno clínico. Dos revisores independientes examinaron los títulos y resúmenes de todos los estudios identificados inicialmente de acuerdo con los criterios de selección. Se obtuvieron los artículos completos de los estudios que cumplieron con todos los criterios de selección. Cualquier desacuerdo se resolvió mediante el consenso o consulta con un tercer revisor independiente.

Extracción de datos: El formulario de recolección de datos incluyó preguntas sobre aspectos cualitativos de los estudios (como autor, fecha de publicación, país, diseño, período, localización, área y tamaño de muestra), características de los participantes (como edad, sexo y prueba serológica para Chagas) e información sobre la exposición/desenlace informado (como medir la definición de alteraciones ECGs, número de pacientes seropositivos/seronegativos para Chagas, número de pacientes con alteraciones ECGs generales y específicas y ajuste por variables confundidoras). Para los estudios de cohorte, solo se extrajo la información de la evaluación inicial (línea de base).

Evaluación del riesgo de sesgos: Dos revisores independientes evaluaron la calidad del estudio basándose en la escala de nueve estrellas Newcastle-Ottawa Scale (NOS) utilizando tres dominios predefinidos: selección de participantes (representatividad de la población), comparabilidad (ajuste para factores de confusión) y determinación de los desenlaces de interés (73). La escala NOS asigna un máximo de cuatro o cinco puntos para la selección, uno o dos puntos para la comparabilidad y tres puntos para el desenlace, dependiendo del diseño del estudio (corte transversal o cohorte). Nosotros utilizamos la escala NOS adaptada para los estudios de corte transversal y la NOS para los estudios de casos y controles, mientras que para los estudios de cohorte utilizamos la NOS para un diseño de corte transversal (**Anexo 1**). Los estudios que recibieron una puntuación de siete a nueve estrellas se consideraron de bajo riesgo de sesgo; los que puntuaron cinco o seis estrellas se consideraron de riesgo medio, y aquellos que obtuvieron una puntuación de cuatro o menos se consideraron de alto riesgo de sesgo.

Análisis estadístico: Se realizó una síntesis narrativa y construcción de tablas de resumen descriptivas para los estudios incluidos. Para este metanálisis, se usaron los odds ratio (OR) y los intervalos de confianza (IC) del 95%, para evaluar la asociación entre la presencia de ECh y las alteraciones ECGs generales y específicas. Además, calculamos la prevalencia agrupada (P) de anomalías ECGs para los participantes con y sin ECh. El método ponderado de varianza inversa se utilizó para combinar medidas de resumen utilizando modelos de efectos aleatorios para minimizar el efecto de la heterogeneidad entre los estudios (74). La heterogeneidad se evaluó usando el estadístico Cochran χ^2 y el estadístico I^2 , se clasificó como baja ($I^2 \leq 25\%$), moderada ($I^2 > 25\%$ y $< 75\%$), o alta ($I^2 \geq 75\%$) (75). Se realizaron análisis de sensibilidad para evaluar la influencia de las características del estudio, incluyendo el año de publicación, la ubicación geográfica (según el número de estudios en cada país y la prevalencia del genotipo de *T. cruzi*), el diseño, el área, el número y la edad de los participantes, el sexo, la definición de alteraciones ECGs, la prueba de diagnóstico de ECh, el nivel de ajuste y el riesgo de sesgo, que se preespecificaron como características para la evaluación de la heterogeneidad y se evaluaron mediante el análisis estratificado y metarregresión de efectos aleatorios (76). El sesgo de publicación se evaluó a través de gráficos en embudo y pruebas de simetría de Egger (77). Todas las pruebas fueron a 2 colas; un valor de $p \leq 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. Todos los análisis se realizaron en Stata v15 (StataCorp). Adicionalmente, se evaluó la capacidad discriminadora de las alteraciones ECGs, tanto generales como específicas: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) para clasificar a los pacientes como chagásicos y no chagásicos.

5.2 OBJETIVO ESPECÍFICO 2. Caracterizar múltiples parámetros ecocardiográficos, incluyendo el speckle-tracking (ST) y niveles de NT-proBNP en pacientes con diferentes estadios de la CMCh e identificar los puntos de corte de cambios tempranos en estos parámetros (estadio A vs. B, C, D).

Diseño: Se realizó un estudio de corte transversal.

Población de estudio: El estudio fue realizado entre julio de 2015 y enero de 2017 en la Clínica de Falla y Trasplante Cardíaco y el Servicio de Diagnóstico Cardíaco No Invasivo de la Fundación Cardiovascular de Colombia, en Floridablanca, Colombia.

Se incluyeron pacientes con las siguientes características: (i) mayores de 18 años de edad (ii) anticuerpos IgG positivos para *T. cruzi* y (iii) con o sin anomalías ECOs y/o ECGs consistentes con CMCh (bloqueo fascicular anterior izquierdo, bloqueo de rama derecha, bloqueos auriculoventriculares, latidos prematuros ventriculares, fibrilación o flutter auricular, bradicardia ≤ 50 latidos/min y/o hallazgos ECOs sugestivos de daño miocárdico) según lo evaluado por un cardiólogo.

Se excluyeron pacientes con hipertensión no controlada, diabetes mellitus, antecedentes de enfermedad coronaria y estenosis mitral. Los pacientes fueron clasificados de acuerdo a los estadios de severidad de la CMCh basado en los resultados del ECG y ECO, previamente informados (40, 78); estadio A (ECG normal y FEVI $> 55\%$), estadio B (anormalidades ECGs compatibles con CMCh y FEVI $> 55\%$), estadio C (anormalidades ECGs compatibles con CMCh y FEVI 40-55%), y estadio D (anormalidades ECGs consistentes con CMCh y FEVI $< 40\%$). Esta clasificación fue realizada por un cardiólogo especializado en CMCh.

Examen clínico: Al momento que los pacientes fueron vinculados al estudio, a todos se les realizó una entrevista estructurada y un examen físico. Todos los participantes proporcionaron información sobre la edad, el sexo y el uso de medicamentos. También, fue medido el índice de masa corporal (IMC), la clase funcional NYHA y los niveles de NT-proBNP por el método de electroquimioluminiscencia (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania).

Ecocardiografía: Se realizó un ECO transtorácico utilizando un sistema de ultrasonido GE Vivid S6 con un transductor matricial M4S de 1,6 a 4,3 MHz. Las evaluaciones fueron realizadas por un único ecografista cardíaco certificado y experimentado quien desconocía la información clínica del paciente. Las dimensiones cardíacas y las mediciones Doppler se obtuvieron de acuerdo con las recomendaciones de la American Society of Echocardiography y la European Association of Echocardiography (79-84). También se evaluaron parámetros de función sistólica, diastólica y speckle-tracking (ST).

Análisis estadístico: Las variables categóricas fueron presentadas como valores absolutos y proporciones. La normalidad de las variables continuas se evaluó mediante histogramas y pruebas de Shapiro-Wilk; variables con distribución normal se presentan como media y desviación estándar, de lo contrario fueron reportadas la mediana con su primer y tercer cuartil. Para determinar diferencias en las variables según los estadios de severidad de la CMCh, se usaron pruebas Chi-cuadrada y exacta de Fisher según correspondiera y las variables continuas se analizaron con pruebas ANOVA o Kruskal-Wallis seguidas por la prueba *post hoc* de Bonferroni.

Se estimaron modelos de regresión logística, dicotomizando el evento en estadio A vs. el grupo compuesto por los estadios B, C y D ajustados por edad, sexo e IMC (Modelo 1) para analizar las variables ECOs que lograron identificar diferencias significativas entre las etapas de severidad de la CMCh en el análisis de ANOVA o Kruskal-Wallis. Adicionalmente, se ajustó por los niveles de NT-proBNP (Modelo 2). También se evaluó la capacidad discriminadora de las variables ECOs y del NT-proBNP con AUC-ROC. El índice de Youden fue utilizado para identificar el mejor punto de corte de las variables ECOs capaces de distinguir el estadio A vs. B, C y D de la CMCh, así como gráficos de cajas. Finalmente, se realizaron los gráficos de ojo de Buey del VI para el strain longitudinal global (SLG). Un valor $p < 0.05$ se consideró significativo. Todas las pruebas estadísticas fueron a dos colas. Los datos se analizaron usando Stata v15 (StataCorp).

Consideraciones éticas: Todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito y se contó con la aprobación del Comité Ética en Investigaciones Institucional.

5.3 OBJETIVO ESPECÍFICO 3. Examinar el valor diagnóstico de un panel de biomarcadores cardiovasculares para distinguir la severidad de la CMCh.

Diseño: Se realizó un estudio piloto de corte transversal.

Población estudio: El estudio fue realizado entre julio y diciembre de 2015 en la Clínica de Falla y Trasplante Cardíaco de la Fundación Cardiovascular, en Floridablanca-Colombia. Durante las citas de control médico, 100 pacientes fueron invitados a participar. Se incluyeron pacientes (i) ≥ 18 años (ii) con anticuerpos IgG positivos para *T. cruzi* y (iii) con anormalidades ECOs y/o ECGs consistentes para CMCh (bloqueo fascicular anterior izquierdo, bloqueo de rama derecha, bloqueos auriculoventriculares, latidos prematuros ventriculares, fibrilación o flutter auricular, bradicardia ≤ 50 latidos/min y/o hallazgos ECOs sugestivos de daño miocárdico) según lo evaluado por un cardiólogo. Fueron excluidos los pacientes con hipertensión no controlada, diabetes mellitus, antecedentes de enfermedad coronaria y estenosis mitral.

Examen clínico: A todos los participantes se les preguntó sobre su estrato socioeconómico, factores relacionados con el estilo de vida y uso de medicamentos. También se midió el IMC, FEVI, tasa de filtración glomerular estimada (eTFG) y se obtuvieron muestras de suero en ayunas para la medición de seis biomarcadores: *NT-proBNP* usando el método de electroquimioluminiscencia (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany); *Troponina T de alta sensibilidad (Hs-cTnT)* mediante un ensayo altamente sensible en una plataforma automatizada (ECLIA Elecsys 2010 analyzer, Roche Diagnostics, Germany) y *Gal-3* a través de un método cuantitativo denominado ensayo fluorescente ligado a enzimas (VIDAS, Biomerieux, Marcy l'Étoile, France). Se utilizó la prueba Alere Triage® NGAL para evaluar lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL). *El ST2 soluble (sST2)* se midió por medio del kit Critical Diagnostics Presage™ sST2 a través de un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) y la *Cistaina C* utilizando un ensayo inmunológico de medición turbia (Tina-quant Cystatin C cobas®).

Clasificación de la Cardiomiopatía Chagásica: Los pacientes fueron clasificados según los estadios de severidad de CMCh basados en los hallazgos ECGs y ECOs, teniendo en cuenta los criterios utilizados previamente por Okamoto et al. (40); estadio B (anormalidades ECGs compatibles con CMCh y FEVI $> 55\%$), estadio C (anormalidades ECGs compatibles con CMCh y FEVI 40-55% y estadio D (anormalidades ECGs consistentes con CMCh y FEVI $< 40\%$). La clasificación fue realizada por un cardiólogo especializado en CMCh.

Análisis estadístico: Las variables continuas se presentaron como mediana y primer y tercer cuartil a menos que se indique lo contrario y las categóricas como porcentajes. Las características de la población según los estadios de severidad de la CMCh fueron evaluadas a través de pruebas Chi-cuadrada o exacta de Fisher para las variables categóricas y pruebas Kruskal-Wallis para las continuas. Se utilizó la transformación logarítmica de las concentraciones de los biomarcadores para una mejor aproximación a la distribución normal. Se emplearon pruebas ANOVA y de Bonferroni para explorar si los niveles de biomarcadores transformados como logaritmos naturales eran diferentes de acuerdo con los estadios de severidad de la CMCh.

Debido al número limitado de pacientes incluidos en los tres estadios, el desenlace de interés se dicotomizó en estadios C/D (FEVI \leq 55%) vs. estadio B (FEVI $>$ 55%). En primer lugar, se estimaron modelos de regresión logística univariante (Modelo 1) para analizar biomarcadores (como variables continuas) en relación con los estadios de severidad de la CMCh. Luego, en el Modelo 2, ajustamos por edad, sexo, IMC y función renal. Posteriormente, para tener en cuenta el efecto del tratamiento, se realizó el ajuste por el uso de medicamentos (Modelo 3) (IECA o ARA-II, betabloqueadores, antagonistas de aldosterona y diuréticos).

La capacidad discriminatoria de los biomarcadores se determinó con el AUC-ROC. El índice de Youden se usó para identificar el mejor punto de corte de los biomarcadores para distinguir entre los estadios C/D vs. el estadio B de severidad de la CMCh. Adicionalmente, se comparó el AUC-ROC de NT-proBNP vs. los otros biomarcadores. Se realizaron los siguientes análisis de sensibilidad: (i) todos los análisis principales se repitieron usando los valores normales de biomarcadores (sin transformar) y (ii) se evaluó la asociación de los biomarcadores con la FEVI. Un valor de $p < 0.05$ se consideró significativo. Todas las pruebas estadísticas fueron a dos colas. Los datos se analizaron en Stata versión 14 (StataCorp).

Consideraciones éticas: Los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito y se contó con la aprobación del Comité Ética en Investigaciones Institucional.



6. RESULTADOS

6. RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados para cada objetivo específico. A partir de ellos se generaron tres artículos: dos publicados en revistas científicas internacionales Q1 y uno en proceso de publicación, se adjuntan como anexos.

6.1 OBJETIVO ESPECÍFICO 1. Sintetizar la evidencia científica disponible sobre la prevalencia de alteraciones electrocardiográficas generales y específicas en personas seropositivas y seronegativas para enfermedad de Chagas a nivel de estudios poblacionales, a través de una revisión sistemática metaanalítica.

Identificación, selección de estudios y características generales de los estudios incluidos.

Las búsquedas identificaron 5,396 citas. Después de revisar los títulos y resúmenes, se seleccionaron 252 artículos para una evaluación detallada de los textos completos. De éstos, 49 artículos cumplieron con nuestros criterios de inclusión y se incluyeron en la revisión sistemática y metaanálisis (**Figura 6**). Del total, 43 estudios fueron transversales y 6 de cohorte publicados en el periodo comprendido entre 1964 y 2015. Los estudios se basaron en datos de 10 países de América Latina. La mayoría de los ellos se realizaron en Brasil (38.7%), con datos recolectados entre 2001 y 2010 (34.6%) e incluyeron participantes de áreas rurales (44.9%). En total, se incluyeron 34,023 participantes en esta revisión (12,276 con ECh y 21,747 sin ECh). El rango de edad de los participantes osciló entre 0 y 97 años y el 54.4% fueron mujeres (reportado en 38 artículos). La mayoría de los estudios (81.6%) usaron dos o más pruebas diagnósticas para identificar la infección por *T. cruzi*. Las definiciones de las alteraciones ECGs empleadas en cada estudio pueden ser vistas en el **Anexo 1** y las características generales de los estudios incluidos se presentan en la **tabla 7- 8**.

Figura 6. Diagrama de flujo de los artículos incluidos en la revisión sistemática y metaanálisis.

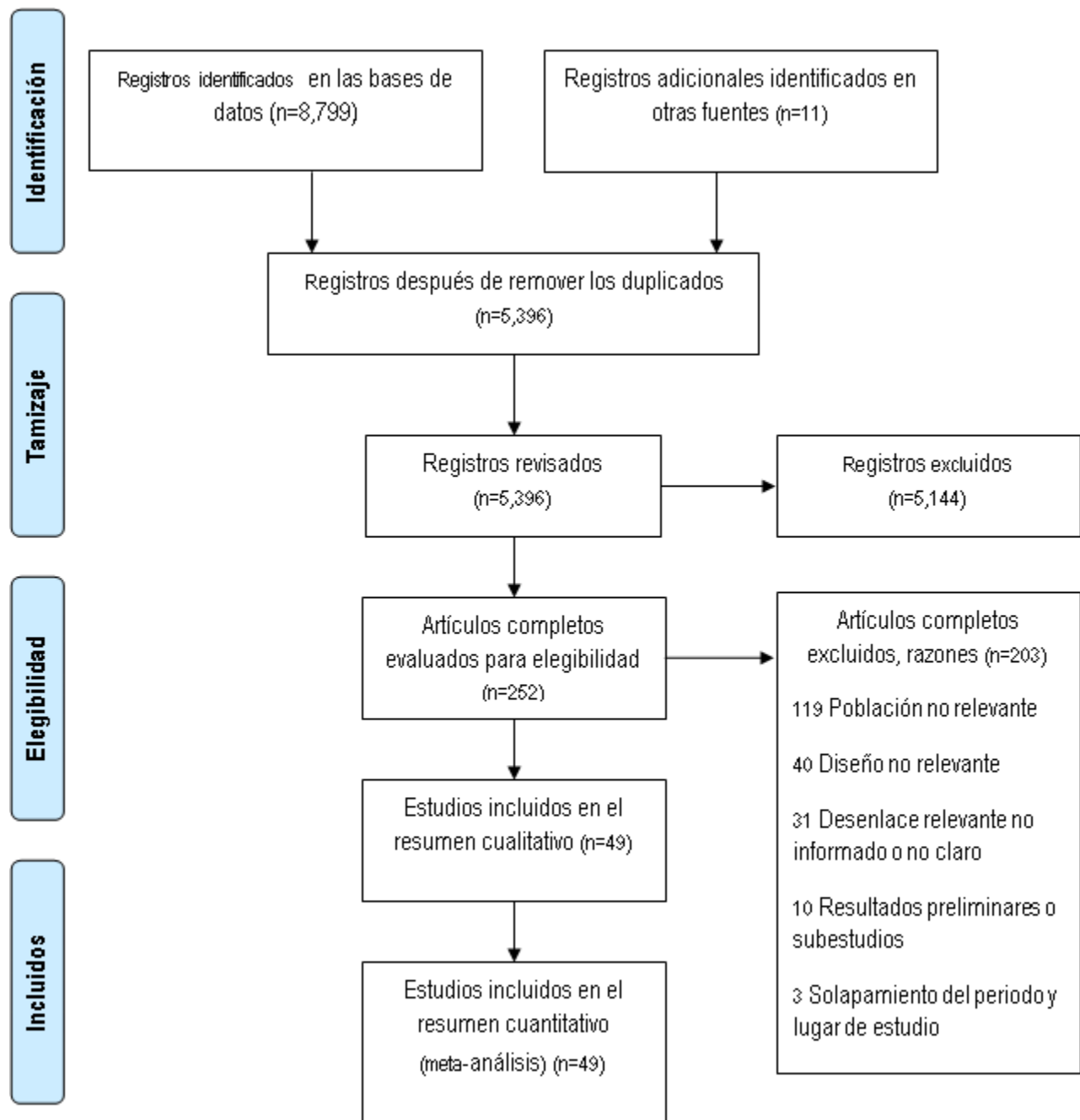


Tabla 7. Características generales de los estudios incluidos en la revisión sistemática y metaanálisis.

Autor principal, año de publicación	País	Diseño*	Periodo	Ubicación	Área	Tamaño de muestra	Grupo de edad (Años) [†]	Mujeres (%)	Prueba de diagnóstico de ECh	Ajuste por confusores
Pushong E et al. 1964 (85)	Argentina	Corte transversal	----	Poblacional	Rural/ Periurbana	1625	6-89	----	CFT	No
Giraldo Correa LE et al. 1965 (86)	Colombia	Corte transversal	Noviembre 1962 y Agosto 1964	Poblacional	Rural	204	1-61+	50.4	Blood Smear/XD/ Serology	No
Puigbó JJ et al. 1966 (87)	Venezuela	Corte transversal	1961-1964	Poblacional	Rural	1368	5-65+	52.0	CFT	No
Maguire J et al. 1982 (53)	Brasil	Cohorte prospectiva*	Julio-Agosto 1976	Poblacional	Rural	94	<5-45+	----	CFT/IFI/XD/ Culture for T. cruzi	No
Maguire J et al. 1983 (88)	Brasil	Corte transversal	Diciembre 1973 y Febrero 1974	Poblacional	Rural	644	10-75+	55.1	CFT	No
Baruffa G et al. 1983 (89)	Brasil	Corte transversal	Julio 1970 y Julio 1975	Poblacional	Rural	4758	5-70+	53.1	CFT	No
Goldsmith RS et al. 1985 (46)	México	Cohorte prospectiva*	1971-1980	Poblacional	----	176	0-60+	50.8	IHA/DA/ CFT/XD/ Culture for T. cruzi	No
Borges-Pereira and Coura JR. 1986 (90)	Brasil	Corte transversal	Enero-Abril 1982	Poblacional	Urbana	510	6-60+	59.9	CFT/IFI/ IHA/XD	Diseño: sexo, edad
Borges-Pereira J and Coura JR. 1987 (91)	Brasil	Corte transversal	Noviembre 1984 y Enero 1985	Poblacional	Urbana	610	1-60+	64.2	IFI	Diseño: edad, sexo, ciudad
Acquatella H et al. 1987 (92)	Venezuela	Corte transversal	Junio 1981 y Junio 1984	Donantes de Sangre/Clinica/ Poblacional	Rural/ Urbana	1698	0-59+	----	CFT/IF/IHA	No
Kawabata M et al. 1987 (47)	Ecuador	Corte transversal	----	Poblacional/ Clínica	----	340	10-60+	60.9	IHA	No
Weinke TH et al. 1988 (93)	Bolivia	Corte transversal	----	Poblacional	Rural	104	15-53	100	CFT/IFI	No
Wisnivesky-Colli C et al. 1989 (94)	Argentina	Corte transversal	Agosto 1980 y Noviembre 1982	Poblacional	Rural	170	0-45+	----	IHA/IFI/DA/CFT/ ELISA	No
Arribada C et al. 1990 (95)	Chile	Corte transversal	----	Poblacional	Rural	705	0-90	55.7	IHA/IFI/XD	No
Zicker F et al. 1990 (96)	Brasil	Corte transversal	1988-1989	Poblacional	Urbana	1153	16-73	22.8	IF/ELISA/HA	Análisis: edad, sexo, instituciones
Pless M et al. 1992 (97)	Bolivia	Corte transversal	Junio-Julio 1988	Poblacional	Rural	140	5-85	----	IFI/CFT	No

Autor principal, año de publicación	País	Diseño*	Periodo	Ubicación	Área	Tamaño de muestra	Grupo de edad (Años) [†]	Mujeres (%)	Prueba de diagnóstico de ECh	Ajuste por confunsores
Goldsmith RS et al. 1992 (98)	México	Cohorte prospectiva*	1971-1980	Poblacional	----	254	0-60+	50.4	IHA/DA/ CFT/XD/ Culture for T. cruzi	No
Dias JC. 1993 (48)	Brasil	Corte transversal	1984-1986	Poblacional	Urbana	301	18-57	0	IHA/IFI	No
Morini J et al. 1994 (99)	Argentina	Corte transversal	----	Poblacional	Rural	379	33±19.0	56.2	IFI/IHA	No
Gianella A et al. 1994 (100)	Bolivia	Corte transversal	Primer semestre de 1993	Poblacional	Rural/ Urbana	372	19.3±2.6	48.6	IHA	No
Rivera BT et al. 1995 (49)	Nicaragua	Corte transversal	1989-1992	Poblacional	Rural	81	0-50+	----	IFI/IHA	Diseño: edad, sexo
Aguilera M et al. 1996 (101)	Chile	Corte transversal	----	Poblacional	----	115	9-18	48.7	ELISA/IHA/IFFI	Diseño: edad, sexo, nivel de educativo
Bar ME et al. 1998 (102)	Argentina	Corte transversal	1993	Poblacional	Rural	132	2-79	56.1	IFI/IHA	No
De Andrade ALSS et al. 1998 (103)	Brasil	Corte transversal	Marzo-Septiembre 1991	Poblacional	Rural	423	10.4±1.6	39.7	IFI/IHA/ELISA	Diseño: edad, sexo, escuela
Madoery R et al. 1998 (104)	Argentina	Corte transversal	Julio-Octubre 1994	Poblacional	Urbana	983	10-69	----	IHA/IF/ELISA	No
Rangel-Flores H et al. 2001 (105)	México	Corte transversal	----	Poblacional	Urbana	129	2-66	----	ELISA/Western-Blotting	Diseño: edad, sexo, misma región geográfica
Borges-Pereira J et al. 2001 (106)	Brasil	Corte transversal	1998	Poblacional	Urbana	382	1-60+	56.5	IFI/IHA/ELISA	Diseño: edad, sexo
Borges-Pereira J et al. 2002 (107)	Brasil	Corte transversal	----	Poblacional	Rural/ Urbana	330	1-60+	48.1	IFI/IHA/ELISA/XD/ PCR	No
Frédérique Brenière S et al. 2002 (108)	Bolivia	Corte transversal	1994-1995	Poblacional	Rural	232	1-45+	43.1	IF/ELISA/PCR	No
Coura J et al. 2002 (55)	Brasil	Corte transversal	----	Poblacional	----	193	0-60+	55.6	IFI/ELISA	Diseño: edad, sexo
Rosas F et al. 2002 (109)	Colombia	Corte transversal	----	Poblacional	Rural/ Urbana	405	>15	58.0	EISA/IFI	Diseño: edad, sexo
Sosa-Jurado F et al. 2003 (110)	México	Corte transversal	----	Poblacional	Rural	79	6-73	82.0	IFI/ELISA/PCR	Diseño: edad
Goldbaum M et al. 2004 (111)	Brasil	Corte transversal	1980	Poblacional	Urbana	921	15-50+	----	IF/HA/CFT	Diseño: edad, ocupación

Autor principal, año de publicación	País	Diseño*	Periodo	Ubicación	Área	Tamaño de muestra	Grupo de edad (Años) [†]	Mujeres (%)	Prueba de diagnóstico de ECh	Ajuste por confusores
Chaves AM et al. 2004 (112)	Colombia	Cohorte prospectiva*	1999-2004	Donantes de sangre	Urbana	2130	18-50	35.9	ELISA/IHA/IFI	Análisis: edad, estrato socioeconómico, FRC clásicos
Becerril-Flores M et al. 2007 (113)	México	Corte transversal	----	Poblacional	----	214	7-64	52.7	ELISA/IHA	No
Sánchez Sánchez Y et al. 2007 (114)	Perú	Corte transversal	2004-2005	Poblacional	Rural	75	>15	64	Serology	Diseño: edad, sexo
Williams-Blangero S et al. 2007 (50)	Brasil	Corte transversal	----	Poblacional	Rural	1389	41.9	50.3	ELISA/HA/IF	No
Medrano-Mercado N et al. 2008 (115)	Bolivia	Corte transversal	1995-1999	Poblacional	Urbana	1831	5-13	48.0	IHA/ELISA	No
Borges-Pereira J et al. 2008 (116)	Brasil	Corte transversal	Marzo 2000 y Abril 2002	Poblacional	Rural	34	0-70	52.9	IF/IHA/ELISA/XD/PCR	Diseño: edad, sexo
Da Silva E et al. 2010 (117)	Brasil	Corte transversal	Mayo-Agosto 2007	Poblacional	Rural	44	2-97	56.0	IHA/ELISA	Diseño: no especificado
Brum-Soares L et al. 2010 (118)	Brasil	Corte transversal	----	Poblacional	----	76	7-81	----	IF/ELISA/Immunoblot/DX/PCR	No
Moretti E et al. 2010 (119)	Argentina	Corte transversal	----	Poblacional	Rural/ Urbana	469	0-61+	----	ELISA/IHA	No
Ferreira et al. 2011 (120)	Brasil	Corte transversal	1977-1981	Poblacional	Rural	4240	0-59+	60.3	IFI	Diseño: edad, sexo
Monteon V et al. 2013 (121)	México	Corte transversal	----	Poblacional	Rural	128	47	85.9	ELISA/IFI	No
Ribeiro AL et al. 2013 (52)	Brasil	Cohorte prospectiva*	Julio 2008 y Octubre 2010	Poblacional/ Donantes de Sangre	Urbana	987	20-60+	49.1	ELISA/HA/IF	Diseño: sitio, sexo, edad, año de donación
Ribeiro AL et al. 2014 (122)	Brasil	Cohorte prospectiva*	Febrero-Mayo 1997	Poblacional	----	1462	63-74	60.9	IHA/ELISA	Análisis: edad, sexo, FRC convencionales
Molina-Garza Z et al. 2014 (56)	México	Corte transversal	Abril 2007 y Septiembre 2011	Poblacional	Rural/ Suburbana/ Urbana	70	17-79	59.3	ELISA/IHA	Diseño: edad, sexo, lugar de residencia
Yager J et al. 2015 (123)	Bolivia	Corte transversal	Enero 2009 y Mayo 2010	Poblacional	Rural/ Periurbana	604	20-60+	64.1	Immunochematogram/ ELISA/IHA	Análisis: edad, serostatus
Alroy K et al. 2015 (124)	Perú	Corte transversal	Diciembre 2009 y Octubre 2010	Poblacional	Rural	260	2-60+	58.5	ELISA/ Immunoblot (TESA-blot)	Diseño: edad, sexo

*Las alteraciones ECGs fueron reportadas a la línea de base de la cohorte; [†]Rango de edad o media/desviación estándar; ----: Información faltante; ECh: Enfermedad de Chagas; IFI: Inmunofluorescence Indirect; IHA: Indirect Haemagglutination; IF: Immuofluorescence; DA: Direct Agglutination; CFT: Complement Fixation Test; HA: Haemagglutination; ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay; XD: Xenodiagnostic; PCR: Polymerase Chain Reaction; FRC: Factores de riesgo cardiovascular.

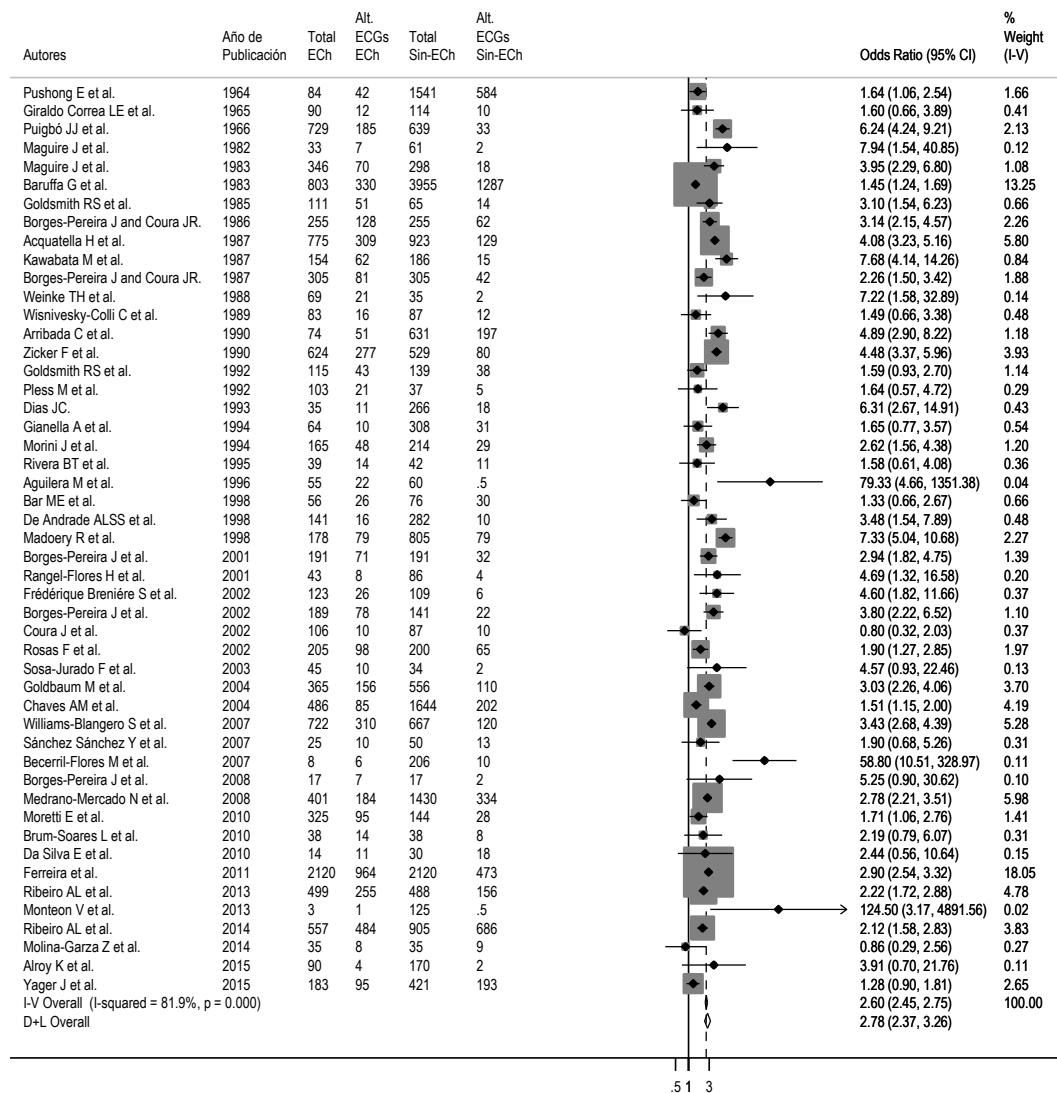
Tabla 8. Resumen de las características de los estudios y participantes incluidos en la revisión sistemática y metaanálisis.

Características	Número o n (%)
Estudios elegibles	
No. de estudios únicos	49
Participantes	
Total (Positivos y negativos)	34,023
Con Chagas (Positivos)	12,276
Sin Chagas (Negativos)	21,747
Rango de edad (años)	0-97
Proporción de mujeres (n=38)	54.4%
Año de publicación	
1964-1989	13 (26.53)
1990-2000	12 (24.49)
2001-2010	17 (34.69)
2011-2015	7 (14.29)
Ubicación	
Brasil	19 (38.78)
México	7 (14.29)
Argentina	6 (12.24)
Bolivia	6 (12.24)
Colombia	3 (6.12)
Chile	2 (4.08)
Perú	2 (4.08)
Venezuela	2 (4.08)
Otros (Ecuador y Nicaragua)	2 (4.08)
Diseño	
Corte transversal	43 (87.76)
Cohorte	6 (12.24)
Área	
Rural	22 (44.90)
Urbana	11 (22.45)
Rural/Urbana	5 (10.20)
Rural/Periurbana	2 (4.08)
Rural/Suburbana/Urbana	1 (2.04)
No especificada	8 (16.33)
Riesgo de sesgo	
Alto	11 (22.45)
Medio	28 (57.14)
Bajo	10 (20.41)

Alteraciones ECGs generales y específicas.

Las alteraciones ECGs generales fueron significativamente más prevalentes en los participantes con ECh (prevalencia (P) = 40.1%, IC del 95% 39.2 a 41.0%) en comparación con aquellos sin ECh (P= 24.1 %; IC del 95% 23.5 a 24.7%) (OR= 2.78; IC del 95% 2.37 a 3.26) (Figura 7 y Tabla 9).

Figura 7. Metaanálisis de alteraciones ECGs generales en participantes con y sin enfermedad de Chagas.



Abreviaciones: ECGs: Electrocardiográficas; Alt: Alteraciones; ECh: Enfermedad de Chagas.

Tabla 9. Metaanálisis de alteraciones ECGs generales en participantes con y sin enfermedad de Chagas según características de los estudios.

Características	Número de estudios	Alteraciones ECGs generales					Heterogeneidad		Cochran's Q Valor de p	Meta-regresión* Valor de p
		Total con ECh	Alt. ECGs en ECh	Total sin ECh	Alt. ECGs sin ECh	OR (IC 95%)	I ² (%)	Valor de p		
Todos los estudios	49	12,276	4,922	21,747	5,243	2.78 (2.37-3.26)	81.9	0.000	0.000	----
Año de publicación										
1964-1989	13	3,837	1,314	8,464	2,210	3.08 (2.12-4.48)	89.3	0.000	0.000	0.480
1990-2000	12	1,649	618	3,389	528	3.10 (2.11-4.57)	78.4	0.000		
2001-2010	17	3,303	1,179	5,630	986	2.64 (2.08-3.36)	68.6	0.000		
2011-2015	7	3,487	1,811	4,264	1,519	2.07 (1.48-2.90)	79.7	0.000		
Ubicación										
Brasil	19	7,360	3,280	11,191	3,156	2.82 (2.30-3.46)	81.8	0.000	0.000	0.065
México	7	360	127	690	77	4.12 (1.71-9.91)	76.6	0.000		
Bolivia	6	943	357	2,340	571	2.28 (1.42-3.66)	73.6	0.002		
Argentina	6	891	306	2,867	762	2.24 (1.22-4.12)	88.0	0.000		
Colombia	3	781	195	1,958	277	1.63 (1.30-2.03)	0.0	0.656		
Venezuela	2	1,504	494	1,562	162	4.90 (3.24-7.41)	70.4	0.066		
Chile	2	129	73	691	197	13.7 (0.98-191.4)	72.2	0.058		
Perú	2	115	14	220	15	2.29 (0.95-5.50)	0.0	0.478		
Ecuador	1	154	62	186	15	7.68 (4.14-14.26)	---	---		
Nicaragua	1	39	14	42	11	1.58 (0.61-4.08)	---	---		
Principal <i>T. cruzi</i> por país										
<i>T. cruzi</i> I (Colombia, México, Nicaragua y Venezuela)	13	2,684	830	4,252	527	2.87 (1.88-4.39)	84.6	0.000	0.373	0.549
<i>T. cruzi</i> II (Brasil)	19	7,360	3,280	11,191	3,156	2.82 (2.30-3.46)	81.8	0.000		
<i>T. cruzi</i> V (Argentina y Bolivia)	12	1,834	663	5,207	1,333	2.29 (1.60-3.30)	82.4	0.000		
Diseño										
Corte transversal	43	10,475	3,997	18,445	4,146	2.91(2.44-3.47)	82.5	0.000	0.000	0.182
Cohorte	6	1,801	925	3,302	1,098	2.01 (1.59-2.54)	47.9	0.087		
Área										
Rural	22	5,890	2,160	9,793	2,282	2.92 (2.24-3.80)	80.7	0.000	0.035	0.672
Urbana	11	3,382	1,335	6,555	1,119	3.15 (2.40-4.14)	84.1	0.000		

Características	Número de estudios	Alteraciones ECGs generales					Heterogeneidad		Cochran's Q Valor de p	Meta-regresión* Valor de p
		Total con ECh	Alt. ECGs en ECh	Total sin ECh	Alt. ECGs sin ECh	OR (IC 95%)	I ² (%)	Valor de p		
Número de participantes[†]										
≤100	8	246	81	307	65	2.12 (1.38-3.25)	6.7	0.378	0.410	0.701
101-1000	31	4,729	1,671	7,087	1,250	2.92 (2.34-3.64)	76.0	0.000		
≥1001	10	7,301	3,170	14,353	3,928	2.73 (2.06-3.63)	93.1	0.000		
Edad de los participantes										
Todas las edades	28	6,964	2,620	12,243	3,073	2.66 (2.13-3.32)	81.0	0.000	0.433	0.704
≥ 10 años	16	3,990	1,769	6,940	1,706	2.78 (2.08-3.71)	85.9	0.000		
Solo niños	3	597	222	1,772	344	3.88 (1.69-8.88)	63.9	0.062		
Sexo										
Mujeres	6	1,104	356	2,863	813	2.51 (1.66-3.81)	72.1	0.003	0.793	0.390
Hombres	6	893	336	2,213	603	3.77 (1.89-7.50)	84.9	0.000		
Definición de Alt. ECGs										
Especificada	40	10,355	4,137	17,130	4,015	2.95 (2.44-3.57)	84.2	0.000	0.394	0.202
No especificada/no clara	9	1,921	785	4,617	1,229	2.44 (1.94-3.08)	54.3	0.025		
Prueba para el diagnóstico de ECh										
1 prueba para ECh	9	4,630	1,754	9,402	2,496	2.77 (1.90-4.04)	91.4	0.000	0.006	0.970
Más de 1 prueba para ECh	40	7,646	3,168	12,345	2,748	2.78 (2.33-3.32)	76.4	0.000		
Ajuste por confundidores[‡]										
Si	18	4,550	1,873	5,008	1,021	2.53 (2.14-2.99)	40.2	0.040	0.419	0.370
No	31	7,726	3,049	16,739	4,222	2.97 (2.37-3.73)	87.3	0.000		
Riesgo de sesgo										
Alto	11	1,910	514	1,932	179	3.31 (2.14-5.10)	74.4	0.000	0.006	0.400
Medio	28	6,412	2,816	14,486	4,074	2.81 (2.24-3.52)	85.3	0.000		
Bajo	10	3,854	1,592	5,329	990	2.34 (1.79-3.04)	71.6	0.000		

*Valor de p obtenido de metarregresiones. [†]Total de participantes positivos y negativos para enfermedad de Chagas; [‡]Ajuste por confundidores como edad, sexo y entre otros en el diseño o análisis. **Abreviaciones:** ECh: Enfermedad de Chagas; ECGs: Electrocardiográficas; Alt.: Alteraciones; OR=Odds ratio.

La prevalencia de defectos de conducción ventricular se evaluó hasta en 30 estudios (rango 3 a 30), basados en un promedio $3,451 \pm 1,350$ participantes. La prevalencia del bloqueo completo de rama derecha (BCRD) (OR= 4.60; IC del 95% 2.97 a 7.11), BFAI (OR= 1.60; IC del 95% 1.21 a 2.13) y la combinación de BCRD y BFAI (OR= 3.34; IC del 95% 1.76 a 6.35) fue mayor en los participantes con ECh vs. sin ECh. Por otra parte, no hubo diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia del BRD incompleto (OR= 0.85; IC del 95% 0.63 a 1.16), bloqueo incompleto de rama izquierda (BRI) (OR= 0.63; IC del 95% 0.39 a 1.01), BRI completo (OR= 0.99; IC del 95% 0.62 a 1.58) y bloqueo fascicular posterior izquierdo (BFPI) (OR= 0.96; IC del 95% 0.35 a 2.62) (**Tabla 10**).

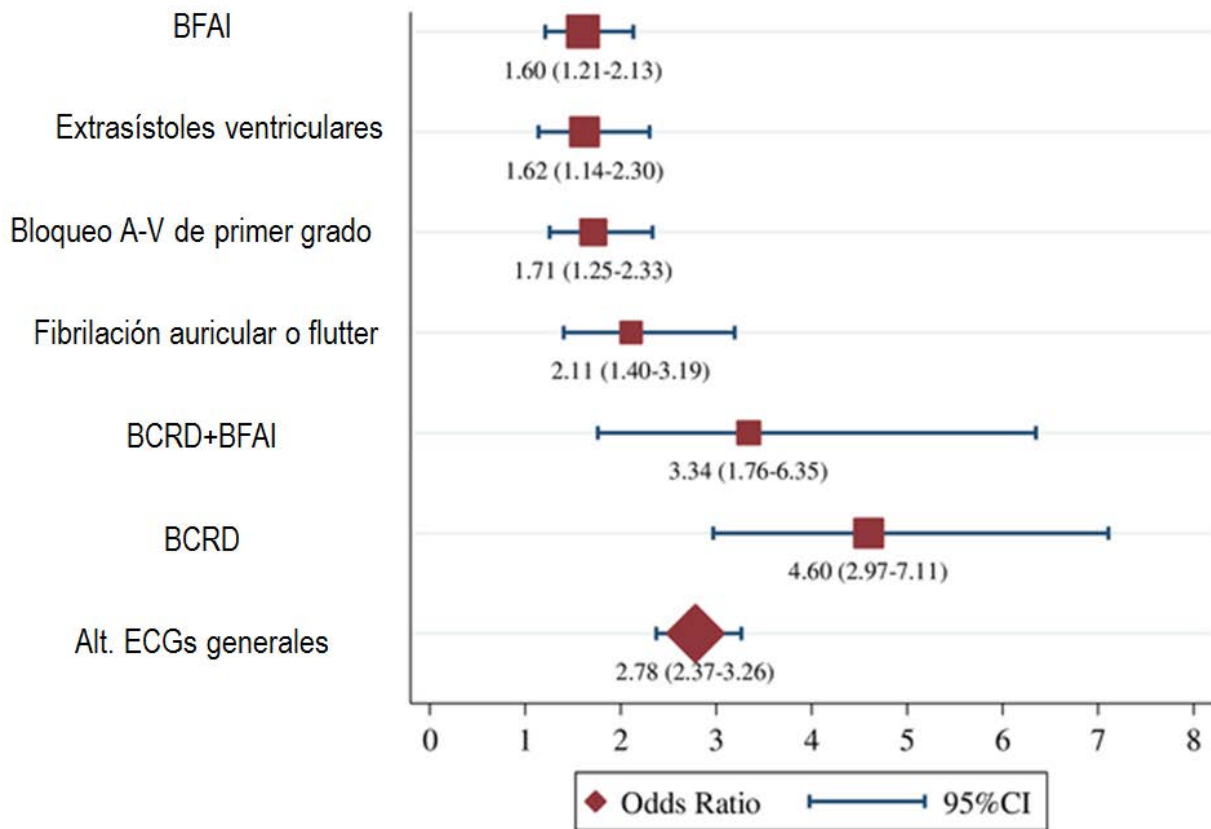
La prevalencia de bloqueos A-V fue evaluada en un rango de 5 a 21 estudios, que incluyeron en promedio $4,438 \pm 1,847$ participantes. La prevalencia de bloqueo A-V de primer grado fue mayor en los participantes con ECh en comparación con los no chagásicos (OR= 1.71; IC del 95% 1.25 a 2.33), mientras que no se encontraron diferencias en la prevalencia de bloqueo A-V de segundo grado (OR= 1.15; IC del 95% 0.33 a 4.06) y de tercer grado (OR= 2.10; IC del 95% 0.60 a 7.34). Asimismo, en un rango de 11 a 25 estudios basados en $4,848 \pm 1,591$ participantes, se comparó la prevalencia de arritmias, encontrando una prevalencia combinada de fibrilación o flutter auricular (OR= 2.11, IC del 95% 1.40 a 3.19) y extrasístoles ventriculares (VE) (OR= 1.62; IC del 95% 1.14 a 2.30) mayor en los participantes con ECh vs. sin ECh. En un análisis agrupado de 10 estudios (5,575 participantes), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de QRS de bajo voltaje (OR= 0.84; IC del 95% 0.47 a 1.50) (**Tabla 10**). En la **figura 8** se resumen las alteraciones ECGs en las cuales se encontró significancia estadística.

Tabla 10. Metaanálisis de alteraciones ECGs específicas en participantes con y sin enfermedad de Chagas.

Alteraciones ECGs específicas	Número de estudios	Alteraciones ECGs específicas				Heterogeneidad		Cochran's Q Valor de p	
		Total con ECh	Eventos ECh	Total sin ECh	Eventos sin ECh	OR (IC 95%)	I ² (%)		Valor de p
Defectos de conducción ventricular									
BRD incompleto	19	2,383	269	3,242	394	0.85 (0.63-1.16)	33.8	0.076	0.316
BCRD	24	2,636	710	3,360	169	4.60 (2.97-7.11)	64.5	0.000	0.000
BRI incompleto	3	691	27	827	56	0.63 (0.39-1.01)	0.0	0.929	0.055
BCRI	8	1,579	37	2,325	38	0.99 (0.62 -1.58)	19.1	0.278	0.958
BFAI	30	3,919	734	4,040	419	1.60 (1.21-2.13)	54.1	0.000	0.000
BFPI	7	1,317	9	1,002	12	0.96 (0.35-2.62)	6.9	0.375	0.933
BCRD + BFAI	15	1,891	167	1,608	34	3.34 (1.76-6.35)	35.9	0.082	0.000
Bloqueos auriculoventriculares									
Primer grado	21	3,112	161	3,457	77	1.71 (1.25-2.33)	10.9	0.317	0.001
Segundo grado	7	1,177	7	2,117	1	1.15 (0.33-4.06)	0.0	0.665	0.822
Tercer grado	5	1,275	9	2,176	2	2.10 (0.60-7.34)	0.0	0.923	0.246
Arritmias									
Fibrilación auricular	11	2,075	44	2,871	22	1.55 (0.86-2.78)	0.0	0.862	0.141
Fibrilación auricular o flutter	13	2,654	78	3,750	40	2.11 (1.40-3.19)	0.0	0.789	0.000
Extrasístoles ventriculares	25	3,142	588	3,749	366	1.62 (1.14-2.30)	59.5	0.000	0.000
Extrasístoles supraventriculares	12	2,004	73	2,525	91	1.14 (0.82-1.59)	2.8	0.417	0.428
Otras									
Bajo voltaje del QRS	10	2,426	45	3,149	79	0.84 (0.47-1.50)	28.6	0.181	0.421

Abreviaciones: ECGs: Electrocardiográficas; ECh: Enfermedad de Chagas; OR: Odds ratio; BRD: Bloqueo de rama derecha; BCRD: Bloqueo completo de rama derecha; BRI: Bloqueo de rama izquierdo; BCRI: Bloqueo completo de rama izquierda; BFAI: Bloqueo fascicular anterior izquierdo; BFPI: Bloqueo fascicular posterior izquierdo.

Figura 8. Resumen de alteraciones ECGs en los participantes con y sin enfermedad de Chagas con significancia estadística.



Abreviaciones: ECGs: Electrocardiográficas; BFAI: Bloqueo fascicular anterior izquierdo; A-V: Auriculoventricular; BCRD: Bloqueo completo de rama derecha; Alt: Alteraciones; 95%CI: Intervalo de confianza del 95%.

Calidad del estudio y evaluación del sesgo.

Con respecto a la calidad de los estudios, de los 49 estudios incluidos: 10 estudios se consideraron de bajo riesgo (20.41%), 28 medio (57.14%) y 11 estudios se evaluaron como alto riesgo de sesgo (22.45%) (**Tabla 9 y 11**).

Tabla 11. Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión sistemática y metaanálisis.

Autores/Año de publicación	Diseño	Estrellas			
		Selección	Comparabilidad	Desenlace/Exposición	Total
Pushong E et al. 1964 (85)	Corte transversal	****		**	6
Giraldo Correa LE et al. 1965 (86)	Corte transversal	***		*	4
Puigbó JJ et al. 1966 (87)	Corte transversal	***		*	4
Maguire J et al. 1982 (53)	Cohorte prospectiva*	****		*	5
Maguire J et al. 1983 (88)	Corte transversal	***		*	4
Baruffa G et al. 1983 (89)	Corte transversal	***		**	5
Goldsmith RS et al. 1985 (46)	Cohorte prospectiva*	****		***	7
Borges-Pereira and Coura JR. 1986 (90)	Corte transversal	****	*	*	6
Borges-Pereira J and Coura JR. 1987 (91)	Corte transversal	****	*	*	6
Acquatella H et al. 1987 (92)	Corte transversal	***		**	5
Kawabata M et al. 1987 (47)	Corte transversal	*		*	2
Weinke TH et al. 1988 (93)	Corte transversal	**		**	4
Wisnivesky-Colli C et al. 1989 (94)	Corte transversal	****		*	5
Arribada C et al. 1990 (95)	Corte transversal	***		**	5
Zicker F et al. 1990 (96)	Corte transversal	***	*	**	6
Pless M et al. 1992 (97)	Corte transversal	****		***	7
Goldsmith RS et al. 1992 (98)	Cohorte prospectiva*	**		***	5
Dias JC. 1993 (48)	Corte transversal	**		*	3
Morini J et al. 1994 (99)	Corte transversal	**		***	5
Gianella A et al. 1994 (100)	Corte transversal	***		**	5
Rivera BT et al. 1995 (49)	Corte transversal	****	*	***	8
Aguilera M et al. 1996 (101)	Corte transversal	**	**	***	7
Bar ME et al. 1998 (102)	Corte transversal	***		*	4
De Andrade ALSS et al. 1998 (103)	Corte transversal	****	**	***	9
Madoery et al. 1998 (104)	Corte transversal	***		**	5
Rangel-Flores H et al. 2001 (105)	Corte transversal	**	*	*	4
Borges-Pereira J et al. 2001 (106)	Corte transversal	***	*	**	6
Borges-Pereira J et al. 2002 (107)	Corte transversal	***		**	5
Frédérique Brenière S et al. 2002 (108)	Corte transversal	****		**	6
Coura J et al. 2002 (55)	Corte transversal	***	*	*	5

Autores/Año de publicación	Diseño	Estrellas			
		Selección	Comparabilidad	Desenlace/Exposición	Total
Rosas F et al. 2002 (109)	Corte transversal	***	*	*	5
Sosa-Jurado F et al. 2003 (110)	Corte transversal	**	*	**	5
Goldbaum M et al. 2004 (111)	Corte transversal	****	*	***	8
Chaves AM et al. 2004 (112)	Cohorte prospectiva*	***	**	***	8
Becerril-Flores M et al. 2007 (113)	Corte transversal	****		**	6
Sánchez Y et al. 2007 (114)	Corte transversal		*	***	4
Williams-Blangero S et al. 2007 (50)	Corte transversal	****		**	6
Medrano-Mercado N et al. 2008 (115)	Corte transversal	****		*	5
Borges-Pereira J et al. 2008 (116)	Corte transversal	****	*	*	6
Da Silva E et al. 2010 (117)	Corte transversal	****	*	*	6
Brum-Soares L et al. 2010 (118)	Corte transversal	**		**	4
Moretti E et al. 2010 (119)	Corte transversal	**		*	3
Ferreira et al. 2011 (120)	Corte transversal	***	*	***	7
Monteon V et al. 2013 (121)	Corte transversal	****		*	5
Ribeiro AL et al. 2013 (52)	Cohorte prospectiva [†]	***	**	**	7
Ribeiro AL et al. 2014 (122)	Cohorte prospectiva*	****		**	6
Molina-Garza Z et al. 2014 (56)	Corte transversal	****	*	***	8
Yager J et al. 2015 (123)	Corte transversal	***		***	6
Alroy K et al. 2015 (124)	Corte transversal	***	*	**	6

*Las alteraciones ECGs se informaron como una característica a la línea de base por lo tanto fueron evaluadas como un estudio de corte transversal; [†]Este fue evaluado con un estudio de caso y control.

Análisis de sensibilidad.

De 16 metaanálisis realizados, cinco demostraron ninguna heterogeneidad ($I^2=0$, $p > 0.05$ Cochrane χ^2), cuatro baja ($I^2 < 25\%$), seis moderada y uno alta heterogeneidad entre los estudios. En cuatro de ellos el I^2 fue superior al 50% (alteraciones ECGs generales, BCRD, BFAI y EV) (**Tabla 9-10 y Anexo 1**). Ninguna de las características de los estudios logró explicar la heterogeneidad observada en el metaanálisis de alteraciones ECGs generales (valor de p de la metarregresión ≥ 0.05). Adicionalmente, en la **figura 9** presentamos el metaanálisis de alteraciones ECGs generales excluyendo uno a uno cada estudio, sin evidencia de cambios importantes en el valor estimado. En el análisis estratificado por sexo y

edad, aunque se evidenció una mayor magnitud de la asociación en niños y hombres, los efectos no fueron significativamente diferentes entre las categorías: se observó un mayor OR en los niños (OR=3.88; IC del 95% 1.69 a 8.88; $I^2=63.9\%$) en comparación con la categoría todas las edades o ≥ 10 años; sin embargo, cuando se omitió un estudio de tamaño de muestra limitado, el OR de los niños fue similar a las otras categorías de edad y no se evidenció heterogeneidad (OR=2.83; IC del 95% 2.26 a 3.53; $I^2= 0.0\%$) sin ser estadísticamente significativo en el análisis (valor p de la metarregresión= 0.704); la comparación de las alteraciones ECGs según sexo, solo pudo ser cuantificada en un número limitado de estudios (12.2%) (Tabla 9 y Figuras 10-11). La heterogeneidad identificada en los metaanálisis de BCRD, BFAI y EV fue explicada en gran medida por la ubicación geográfica, el área de estudio, el número de participantes, el número de pruebas utilizadas para el diagnóstico de ECh, el ajuste por variables confusoras y el riesgo de sesgo (Anexo 1).

Figura 9. Metaanálisis de alteraciones ECGs generales, se omite el estudio mencionado.

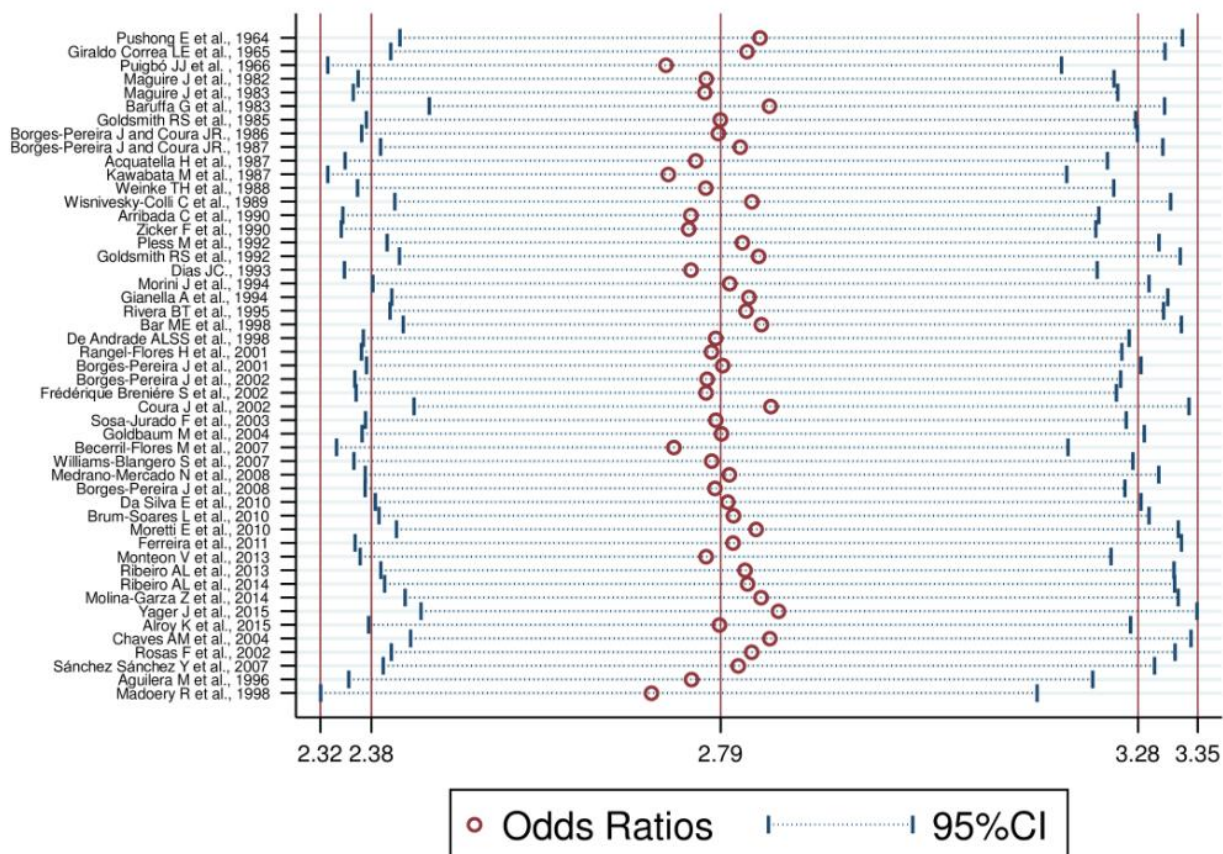
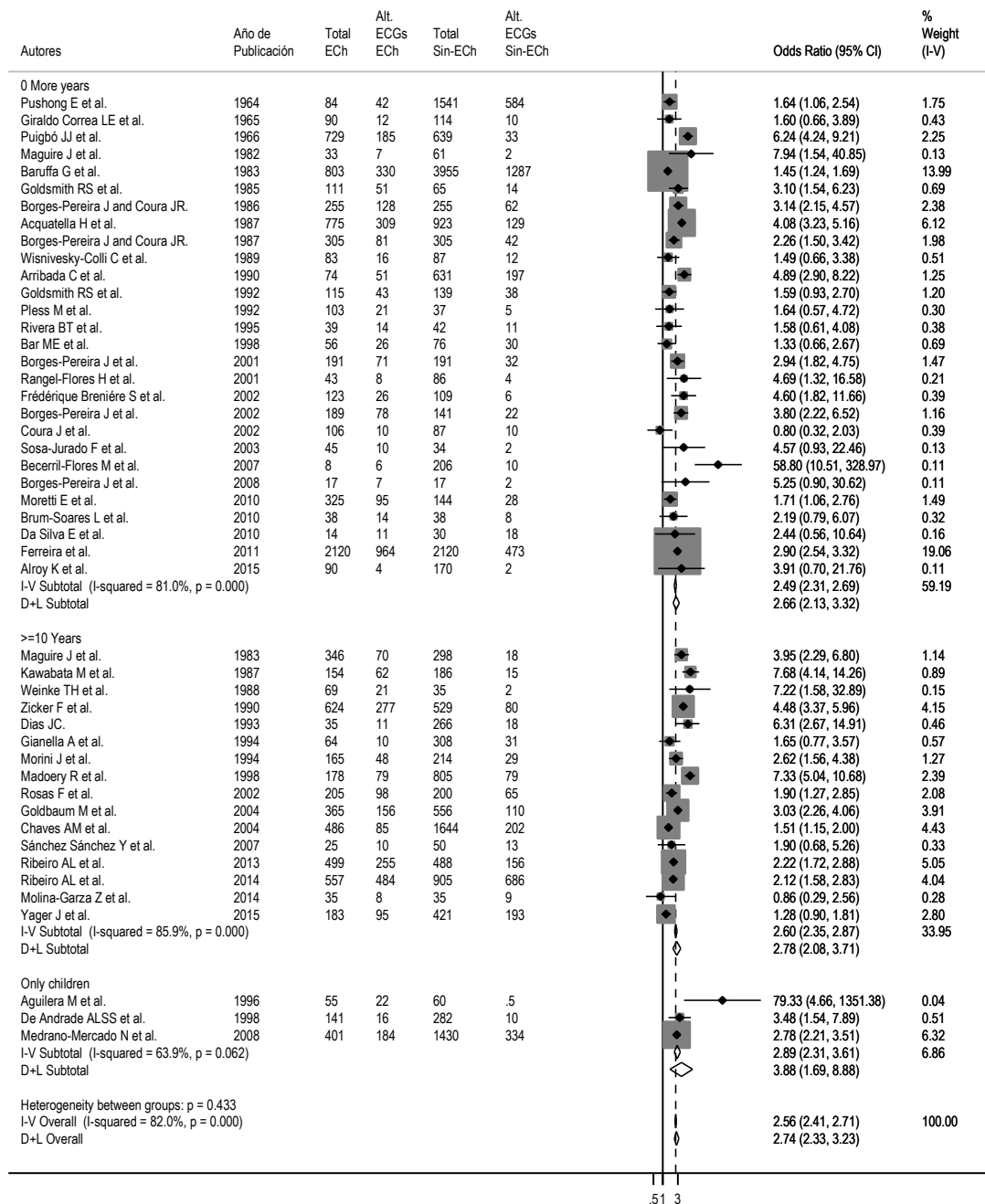
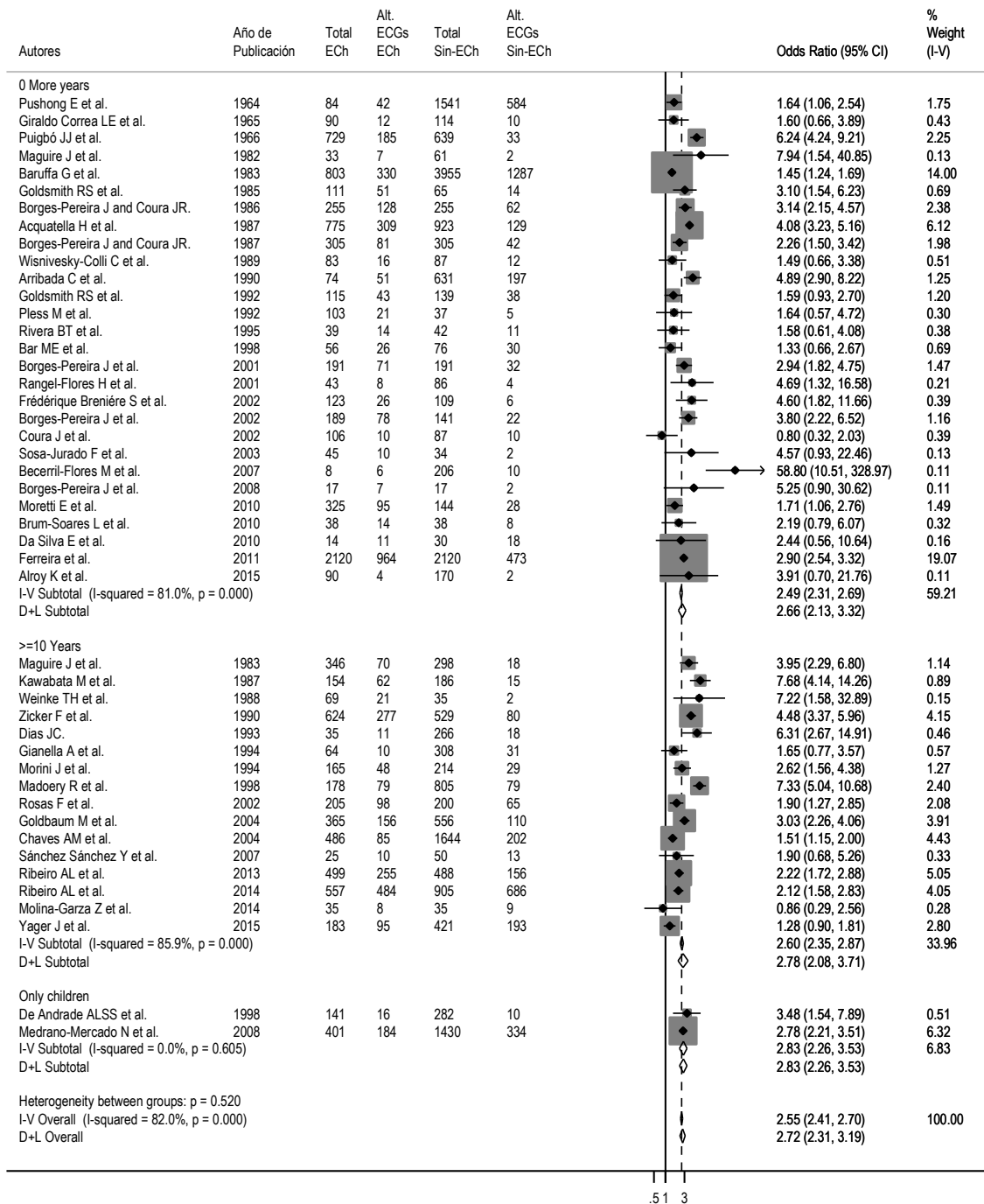


Figura 10. Metaanálisis de alteraciones ECGs generales en participantes con y sin enfermedad de Chagas según edad de los participantes.



Abreviaciones: ECGs: Electrocardiográficas; Alt: Alteraciones; ECh: Enfermedad de Chagas.

Figura 11. Metaanálisis de alteraciones ECGs generales en participantes con y sin enfermedad de Chagas según edad de los participantes (Excluyendo el estudio de Aguilera M et al. 1996).



Abreviaciones: ECGs: Electrocardiográficas; Alt: Alteraciones; ECh: Enfermedad de Chagas.

Sesgo de publicación.

El examen visual por medio de los gráficos de embudo para los estudios que evaluaban la prevalencia de alteraciones ECGs generales y específicas fueron simétricos, proporcionando evidencia de no sesgo de publicación. Esto fue respaldado por los resultados de las pruebas de Egger (valor de $p \geq 0.05$) (**Anexo 1**).

Capacidad discriminativa de ECG para el diagnóstico de enfermedad de Chagas.

La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de las alteraciones ECGs generales fueron del 40.09%, 75.89%, 48.42% y 69.18%, respectivamente. El valor predictivo de alteraciones ECGs específicas para el diagnóstico de ECh varió entre 61.64% y 83.08%, con dos alteraciones ECGs con valores superiores al 80%: BCRD (80.77%, IC del 95% 78.17 a 83.13%) y la combinación de BCRD y BFAI (83.08%; IC del 95% 77.36 a 87.59%) (**Tabla 12**).

Los resultados se complementan en el artículo “Electrocardiographic abnormalities in Chagas disease in the general population: A systematic review and meta-analysis” y su material suplementario (**Anexo 1**).

Tabla 12. Capacidad discriminativa de las alteraciones ECGs para el diagnóstico de enfermedad de Chagas.

Características	Número de estudio (n)	Verdadero positivo (n)	Falso positivo (n)	Falso negativo (n)	Verdadero negativo (n)	Sensibilidad (%) IC 95%	Especificidad (%) IC 95%	Valor predictivo positivo (%) IC 95%	Valor predictivo negativo (%) IC 95%
Alteraciones ECGs generales	49	4922	5243	7354	16504	40.09 (39.23 a 40.97)	75.89 (75.32 a 76.46)	48.42 (47.62 a 49.22)	69.18 (68.83 a 69.52)
Alteraciones ECGs específicas									
Extrasístoles ventriculares	25	588	366	2554	3383	18.71 (17.36 a 20.12)	90.24 (89.24 a 91.17)	61.64 (58.72 a 64.47)	56.98 (56.50 a 57.47)
BFAI	30	734	419	3185	3625	18.73 (17.52 a 19.99)	89.63 (88.65 a 90.55)	63.66 (61.04 a 66.20)	53.20 (52.75 a 53.66)
Fibrilación auricular o flutter	13	78	40	2576	3710	2.94 (2.33 a 3.65)	98.93 (98.55 a 99.24)	66.10 (57.20 a 74.00)	59.02 (58.84 a 59.20)
Bloqueo A-V de primer grado	21	161	77	2951	3380	5.17 (4.42 a 6.01)	97.77 (97.22 a 98.24)	67.65 (61.55 a 73.20)	53.39 (53.15 a 53.63)
BCRD	24	710	169	1926	3191	26.93 (25.25 a 28.67)	94.97 (94.18 a 95.68)	80.77 (78.17 a 83.13)	62.36 (61.79 a 62.93)
BCRD+ BFAI	15	167	34	1724	1574	8.83 (7.59 a 10.20)	97.89 (97.06 a 98.53)	83.08 (77.36 a 87.59)	47.73 (47.33 a 48.12)

Abreviaciones: IC 95%: Intervalo de confianza del 95%; ECGs: Electrocardiográficas; BFAI: Bloqueo fascicular anterior izquierdo; A-V: Auriculoventricular; BCRD: Bloqueo completo de rama derecha.

6.2 OBJETIVO ESPECÍFICO 2. Caracterizar múltiples parámetros ecocardiográficos, incluyendo el speckle-tracking (ST) y niveles de NT-proBNP en pacientes con diferentes estadios de la CMCh e identificar los puntos de corte de cambios tempranos en estos parámetros (estadio A vs. B, C, D).

Características generales de la población estudio.

Este estudio incluyó 273 participantes con diferentes estadios de ECh, distribuidos de la siguiente forma: 96 pacientes (estadio A), 50 (estadio B), 55 (estadio C) y 72 (estadio D). La mediana de edad fue 56 años (Q1=49; Q3=64) y el 52.01% eran mujeres. Se observó un aumento significativo en la edad (mediana de 51 vs. 55 vs. 59 vs. 64 años; $p=0.000$) y los niveles de NT-proBNP (mediana de 57 vs. 68 vs. 370 vs. 2192 pg/mL; $p=0.000$) de acuerdo con las etapas de severidad de la CMCh (**Tabla 13**).

Hallazgos ecocardiográficos.

La FEVI disminuyó a lo largo de los estadios de severidad de la CMCh (mediana de 62 vs. 60 vs. 47 vs. 28%; $p=0.000$). Cuatro parámetros de la función sistólica lograron distinguir el estadio A del B, C y D: el diámetro del tabique interventricular al final de la diástole, el diámetro de la pared posterior al final de la diástole y sístole e índice de masa del VI. Sin embargo, el patrón más claro fue para el índice de masa del VI, que aumentó en pacientes con estadios cardíacos más avanzados (mediana de 71 vs. 90 vs. 107 vs. 150 g/m²; $p=0.000$) (**Tabla 14 y Figura 12**).

En la función diastólica, la velocidad de flujo de E mitral y la relación E/A demostraron una disminución inicial y posteriormente un aumento. Por el contrario, la onda A y el tiempo de desaceleración tuvieron un incremento inicial y luego una disminución. Con respecto a la velocidad de e' lateral y la relación de E/e', se observó una disminución y un aumento progresivo, respectivamente, en relación con el avance en las etapas severidad de la CMCh. De otro modo, la duración de mitral A y la desaceleración de la onda E mitral mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los estadios A vs. C y D, pero no con el estadio B. La velocidad de flujo de E mitral fue la única variable capaz de distinguir el estadio A del B (mediana de 80 vs. 65 vs. 60 vs. 74 cm/s; $p=0.000$) (**Tabla 14 y Figura 12**).

Tabla 13. Características de los pacientes según estadios de severidad de la CMCh.

Variables	Todos (n=273)	Estadios				Valor de <i>p</i>
		A (n=96)	B (n=50)	C (n=55)	D (n=72)	
Sexo						
Mujeres	142 (52.01)	63 (44.37)	22 (15.49)	27 (19.01)	30 (21.13)	0.009
Hombres	131 (47.99)	33 (25.19)	28 (21.37)	28 (21.37)	42 (32.06)	
Edad (años)	56 (49-64)	51 (44-56)	55 (46-64)	59 (54-66)	64 (56-70)	0.000
IMC (kg/m²)	26 (23-29)	26 (23-30)	26 (23-30)	26 (23-28)	24 (22-27)	0.005
Clase funcional NYHA						
I-II	248 (90.84)	96 (38.71)	45 (18.15)	51 (20.56)	56 (22.58)	0.000
III-IV	25 (9.16)	0 (0.00)	5 (20.00)	4 (16.00)	16 (64.00)	
NT-proBNP (pg/mL)	159 (56-957)	57 (31-87)	68 (37-188)	370 (186-646)	2192 (1133-6283)	0.000
Medicamentos						
IECA o ARA II	128 (46.89)	5 (3.91)	18 (14.06)	42 (32.81)	63 (49.22)	0.000
Betabloqueadores	139 (50.92)	7 (5.04)	19 (13.67)	44 (31.65)	69 (49.64)	0.000
Antagonista de aldosterona	92 (33.70)	0 (0)	8 (8.70)	24 (26.09)	60 (65.22)	0.000
Diuréticos	72 (26.37)	2 (2.78)	8 (11.11)	15 (20.83)	47 (65.28)	0.000
Digoxina	26 (9.52)	0 (0)	1 (3.85)	5 (19.23)	20 (76.92)	0.000

Variables continuas son presentadas como medianas (Q1-Q3). Variables categóricas son presentadas como valores absolutos y %. Valor de *p* de pruebas Kruskal-Wallis, Chi²/Exacta Fisher test.

Abreviaciones: IMC: Índice de masa corporal; NYHA: New York Heart Association; NT-ProBNP: Fracción aminoterminal propéptido natriurético tipo B; IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina; ARA-II: Bloqueadores de los receptores de angiotensina II.

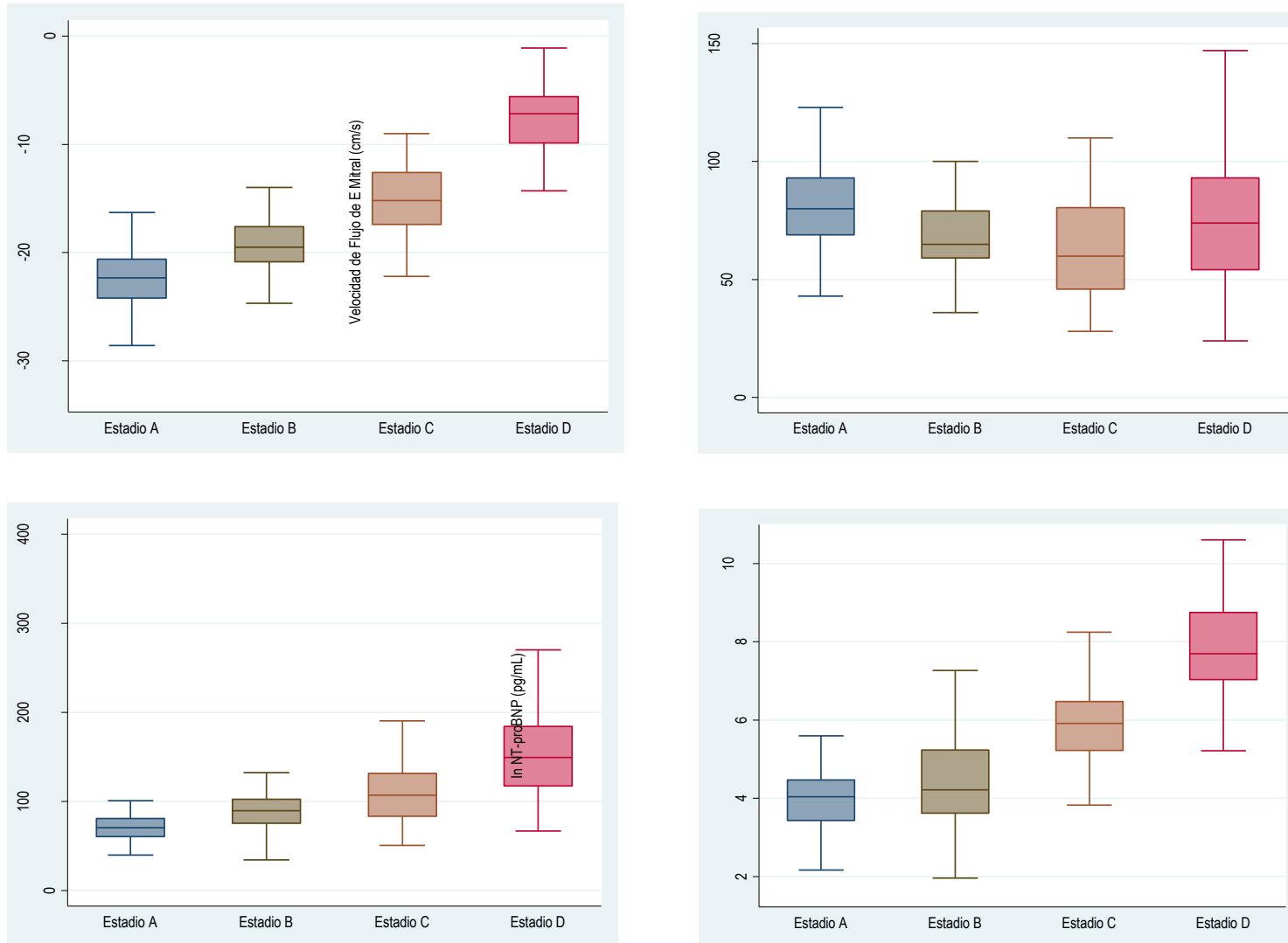
Tabla 14. Hallazgos ecocardiográficos según estadios de severidad de la CMCh.

Variables	Todos (n=273)	Estadios				Valor de p
		A (n=96)	B (n=50)	C (n=55)	D (n=72)	
Función sistólica						
FEVI (%)	55 (39-61)	62 (59-65) ^{CD}	60 (58-65) ^{CD}	47 (44-52) ^D	28 (20-35)	0.000
VI al final de diástole (mm)	53 (48-63)	49 (46-52) ^{CD}	51 (47-53) ^{CD}	57(52-62) ^D	68 (63-74)	0.000
VI al final de sístole (mm)	36 (30-50)	30 (27-32) ^{CD}	32 (30-36) ^{CD}	43 (37-47) ^D	59 (52-66)	0.000
SIV VI al final de diástole (mm)	9 (7-11)	8 (7-9) ^{BCD}	9 (8-11) ^{CD}	10 (8-12) ^D	10 (7-11)	0.000
SIV VI al final de sístole (mm)	13 (11-14)	13 (11-14)	13 (12-15) ^D	13 (11-14) ^D	11 (9-14)	0.000
Pared posterior del VI al final de diástole (mm)	8 (7-9)	8 (7-8) ^B	9 (7-10) ^D	8 (7-9)	7 (6-9)	0.000
Pared posterior del VI al final de sístole (mm)	12 (10-14)	13 (11-14) ^{BCD}	14 (13-15) ^{CD}	11 (9-14) ^D	9 (7-11)	0.000
Índice masa VI (g/m ²)	93 (71-125)	71 (61-81) ^{BCD}	90 (75-103) ^{CD}	107 (83-132) ^D	150 (118-184)	0.000
Grosor relativo de la pared VI	0.29 (0.23-0.35)	0.31 (0.27-0.35) ^D	0.35 (0.30-0.39) ^{CD}	0.29 (0.24-0.34) ^D	0.22 (0.17-0.26)	0.000
TAPSE (mm)	18.4±5.0	21.3±3.6 ^{CD}	20.7±3.7 ^{CD}	17.5±4.2 ^D	13.8±4.4	0.000
MAPSE (mm)	12 (8-14)	14 (12-15) ^{CD}	13 (11-15) ^{CD}	10 (8-12) ^D	7 (5-9)	0.000
Función diastólica						
Velocidad de flujo de E mitral (cm/s)	73 (56-89)	80 (69-93) ^{BC}	65 (59-79)	60 (46-81) ^D	74 (54-93)	0.000
Velocidad de flujo de A mitral (cm/s)	58 (44-73)	55 (46-71)	63 (43-75)	61 (53-73)	55 (30-74)	0.139
Relación E/A	1.2 (0.8-1.8)	1.4 (1.0-1.8) ^C	1.1 (0.8-1.5)	0.9 (0.6-1.2) ^D	1.7 (0.7-3.1)	0.000
Tiempo deceleración de la onda E mitral	199 (162-244)	196 (174-223) ^{CD}	224 (181-251) ^D	239 (192-280) ^D	161 (142-204)	0.000
Duración de A (ms)	155 (139-166)	144 (139-161) ^{CD}	155 (144-166)	161 (144-177)	161 (144-177)	0.012

Variables	Todos (n=273)	Estadios				Valor de p
		A (n=96)	B (n=50)	C (n=55)	D (n=72)	
Velocidad e' lateral (cm/s)	10 (7-13)	13 (11-16) ^{CD}	12 (9-15) ^{CD}	8 (6-11)	7 (5-9)	0.000
Velocidad a' lateral (cm/s)	10.7±3.7	11.9±3.4 ^D	12.1±3.1 ^D	10.9±3.3 ^D	7.8±3.3	0.000
Relación E/e' lateral	6.8 (5.2-9.3)	5.8 (5.0-7.2) ^{CD}	5.8 (4.3-7.6) ^{CD}	7.8 (5.7-9.7) ^D	9.9 (7.8-13.3)	0.000
Función diastólica						
Normal	150 (58.59)	90 (93.75)	36 (75.00)	19 (37.25)	5 (8.20)	***
I	45 (17.58)	5 (5.21)	8 (16.67)	17 (33.33)	15 (24.59)	
II	31 (12.11)	0 (0.0)	2 (4.17)	13 (25.49)	16 (26.23)	
III-IV	30 (11.72)	1 (1.04)	2 (4.17)	2 (3.92)	25 (40.98)	
Grado de insuficiencia aórtica						
Normal (no insuficiencia)	233 (86.30)	92 (95.83)	45 (90.00)	44 (81.48)	52 (74.29)	0.001
I-II	23 (8.52)	2 (2.08)	5 (10.00)	5 (9.26)	11 (15.71)	
III-IV	14 (5.19)	2 (2.08)	0 (0.00)	5 (9.26)	7 (10.00)	
Grado de insuficiencia mitral						
Normal (no insuficiencia)	185 (68.01)	93 (96.88)	42 (84.00)	35 (63.64)	15 (21.13)	0.000
I-II	41 (15.07)	3 (3.13)	8 (16.00)	14 (25.45)	16 (22.54)	
III-IV	46 (16.91)	0 (0.00)	0 (0.00)	6 (10.91)	40 (56.34)	
Otros parámetros						
Índice de volumen de la AL (ml/m ²)	34 (25-51)	27 (23-31) ^{CD}	31 (23-39) ^{CD}	41 (31-55) ^D	59 (43-82)	0.000

Variables continuas son presentadas como media (desviación estándar) o medianas (Q1-Q3). Valor de p de pruebas ANOVA/Kruskal-Wallis. Los valores con letras superíndices son significativamente diferentes de cada uno de los grupos indicados en base de las pruebas de comparación múltiple de Bonferroni ($p < 0.05$). **Abreviaciones:** FEVI: Fracción eyección del ventrículo izquierdo; VI: Ventrículo izquierdo; SIV: Septum interventricular; TAPSE: Excursión sistólica del plano anular tricúspide. MAPSE: Excursión sistólica del plano anular mitral; AL: Aurícula izquierda.

Figura 12. Diagramas de caja del SLG VI, velocidad de flujo E mitral, índice de masa VI y NT-proBNP según estadios de severidad de la CMCh.



Abreviaciones: SLG: Strain longitudinal global; VI: Ventriculo izquierdo; NT-ProBNP: Fracción aminoterminal propéptido natriurético tipo B; CMCh: Cardiopatía Chagásica.

El SLG VI demostró una tendencia decreciente estadísticamente significativa a través de los estadios (mediana de -22.4 vs. -19.5 vs. -15.2 vs. -7.2%; $p=0.000$). Asimismo, se evidenció un compromiso segmentario progresivo, evaluado por ST al comparar cada una de las etapas de la enfermedad cardíaca chagásica (**Tabla 15 y Figura 13**).

Capacidad discriminativa de los parámetros ecocardiográficos y el NT-proBNP para distinguir el estadio A vs. B, C, D.

El AUC-ROC más alto fue para el SLG VI (92.88%), seguido por los niveles de NT-proBNP (91.27%), índice de masa VI (86.72%) y la velocidad E mitral (77.71%) ajustados por edad, sexo e IMC. La sensibilidad y la especificidad para detectar diferencias entre el estadio A vs. B, C y D para SLG VI (punto de corte $> -20.5\%$) fueron de 80.85% y 86.67% respectivamente, mientras que para el NT-proBNP (punto de corte <39.0 pg/mL), la sensibilidad fue de 83.33% y la especificidad de 83.05%. No se encontraron diferencias significativas en el AUC-ROC entre SLG VI y los niveles de NT-proBNP (AUC 92.88 vs. 91.27%, $p= 0.186$). Todas las AUC-ROC mejoraron su desempeño cuando fueron adicionalmente ajustadas por NT-proBNP: SLG VI (94.44%), velocidad de E mitral (93.44%) e índice de masa VI (92.36%) (**Tabla 16 y Figura 14-15**).

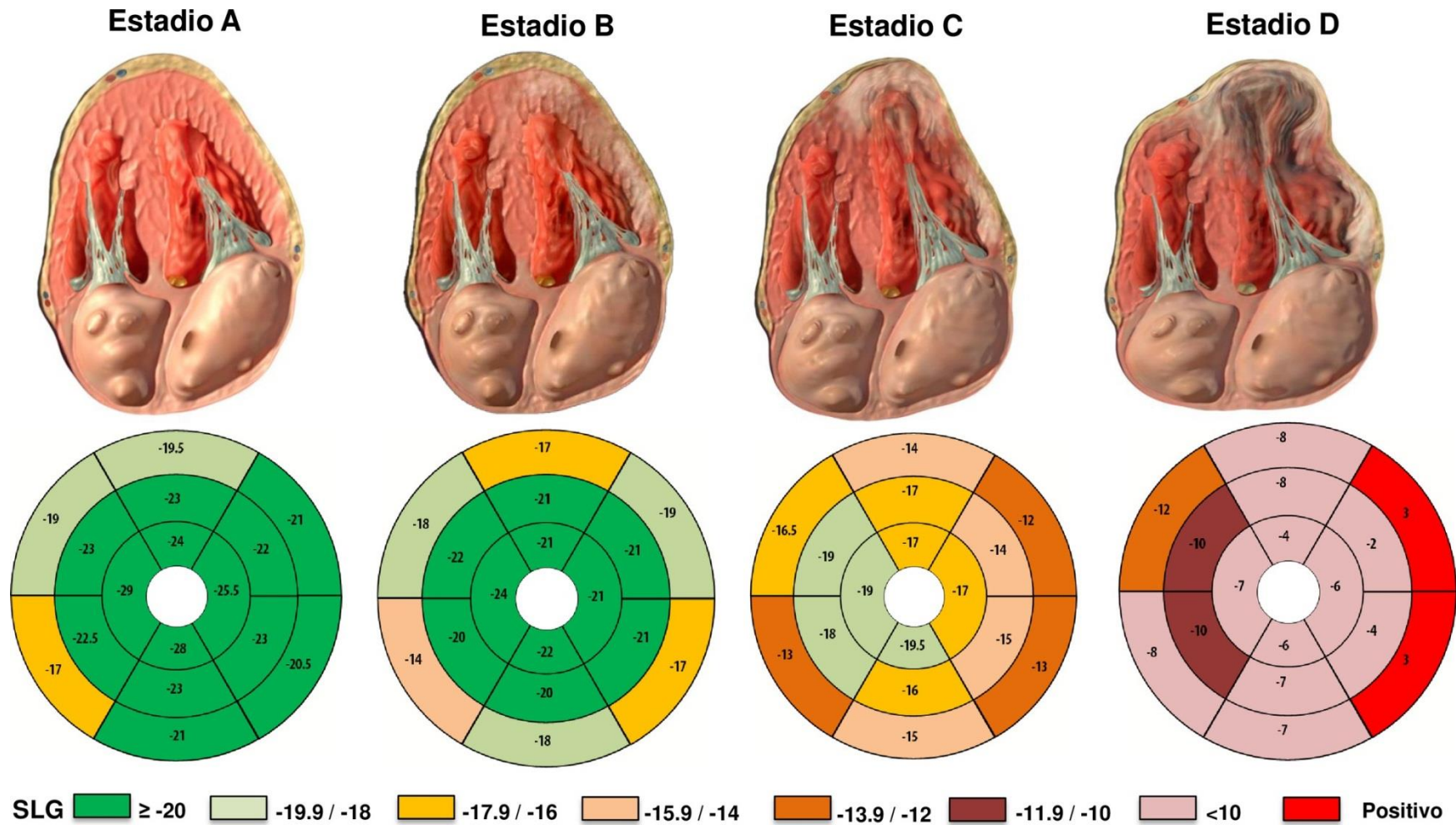
Los resultados de este objetivo específico se encuentran en proceso de publicación “Echocardiographic parameters, speckle tracking and brain natriuretic peptide levels as indicators of progression of indeterminate stages to Chagas cardiomyopathy” (**Anexo 2**).

Tabla 15. Strain longitudinal global y regional del ventrículo izquierdo según estadios de severidad de la CMCh.

Variables		Todos (n=273)	Estadios				Valor p
			A (n=96)	B (n=50)	C (n=55)	D (n=72)	
SLG VI (%)		-18.9 (-21.6;-11.1)	-22.4 (-24.2; -20.6) ^{BCD}	-19.5 (-20.9; -17.6) ^{CD}	-15.2 (-17.4; -12.6) ^D	-7.2 (-9.9; -5.6)	0.000
Paredes							
Septal	Base (%)	-14 (-17;-10)	-17 (-19; -15) ^{BCD}	-14 (-17; -11) ^D	-13 (-16; -8.5) ^D	-8 (-11; -5)	0.000
	Medio (%)	-19 (-22; -13)	-22.5 (-25;-20) ^{BCD}	-20 (-22; -18) ^D	-18 (-20; -14) ^D	-10 (-13; -5)	0.000
	Ápex (%)	-22 (-29; -13)	-29 (-32; -27) ^{BCD}	-24 (-27; -21) ^{CD}	-19 (-23.5; -16) ^D	-7 (-12; 2)	0.000
Lateral	Base (%)	-16 (-21; -4)	-21 (-24; -18) ^{CD}	-19 (-22; -16) ^{CD}	-12 (-16; -3.5) ^D	3 (-7; 7)	0.000
	Medio (%)	-18.5 (-22; -7)	-22 (-25; -20) ^{CD}	-21 (-22; -18) ^{CD}	-14 (-18; -10) ^D	-2 (-6; 4)	0.000
	Ápex (%)	-19 (-25; -9)	-25.5 (-29; -22) ^{BCD}	-21 (-24; -17) ^{CD}	-17 (-20; -9.5) ^D	-6 (-10; 0)	0.000
Inferior	Base (%)	-16 (-21; -11)	-21 (-24; -18) ^{CD}	-18 (-21; -15) ^{CD}	-15 (-17.5; -12) ^D	-7 (-12; -2)	0.000
	Medio (%)	-19 (-23; -12)	-23 (-25; -21) ^{BCD}	-20 (-22; -17) ^D	-16 (-19; -14) ^D	-7 (-11; -4)	0.000
	Ápex (%)	-22 (-27; -13)	-28 (-31; -25) ^{BCD}	-22 (-27; -20) ^D	-19.5 (-22.5; -14.5) ^D	-6 (-12; 4)	0.000
Anterior	Base (%)	-16 (-20; -11)	-19.5 (-23; -16) ^{CD}	-17 (-20; -15) ^{CD}	-14 (-18; -11) ^D	-8 (-12; -1)	0.000
	Medio (%)	-18 (-23; -13)	-23 (-24; -19) ^{CD}	-21 (-23; -18) ^{CD}	-17 (-20; -15) ^D	-8 (-13; -4)	0.000
	Ápex (%)	-18 (-24; -9)	-24 (-28; -20) ^{BCD}	-21 (-23; -17) ^D	-17 (-20; -10) ^D	-4 (-9; 0)	0.000
Inferolateral	Base (%)	-15 (-20; -4)	-20.5 (-23; -17) ^{CD}	-17 (-21; -14) ^{CD}	-13 (-16; 4.5) ^D	3 (-6; 6)	0.000
	Medio (%)	-19 (-23; -9)	-23 (-25; -20) ^{BCD}	-21 (-23; -18) ^{CD}	-15 (-21; -10) ^D	-4 (-8; 4)	0.000
Anteroseptal	Base (%)	-17 (-20; -12)	-19 (-23; -16) ^{CD}	-18 (-21; -16) ^D	-16.5 (-20; -11) ^D	-12 (-15; -8)	0.000
	Medio (%)	-20 (-23; -13)	-23 (-25; -20) ^{CD}	-22 (-23; -18) ^D	-19 (-21.5; -15) ^D	-10 (-14; -7)	0.000

Variables continuas son presentada como medianas (Q1-Q3). Valor de p de pruebas Kruskal-Wallis. Los valores con letras superíndices son significativamente diferentes de cada uno de los grupos indicados en base de las pruebas de comparación múltiple de Bonferroni ($p < 0.05$). **Abreviaciones:** CMCh: Cardiomiopatía Chagásica; SLG: Strain longitudinal global; VI: Ventrículo izquierdo.

Figura 13. Gráficos de ojo de Buey del ventrículo izquierdo según estadios de severidad de la CMCh.



Valores del SLG para cada segmento con tres círculos concéntricos que representan el ápex (círculo interno), medio (círculo medio) y base (círculo externo). Estadio A: Pacientes con ECG normal y FEVI >55%; Estadio B: Pacientes con alteraciones ECGs consistentes con CMCh y FEVI >55%; Estadio C: Pacientes con alteraciones ECGs consistentes con CMCh y FEVI 40-55%; Estadio D: Pacientes con alteraciones ECGs consistentes con CMCh y FEVI <40%. Los datos son presentados como medianas. **Abreviaciones:** CMCh: Cardiomiopatía chagásica; SLG: Strain longitudinal global; ECG: Electrocardiograma; ECGs: Electrocardiográficas; FEVI: Fracción de eyección ventricular izquierda.

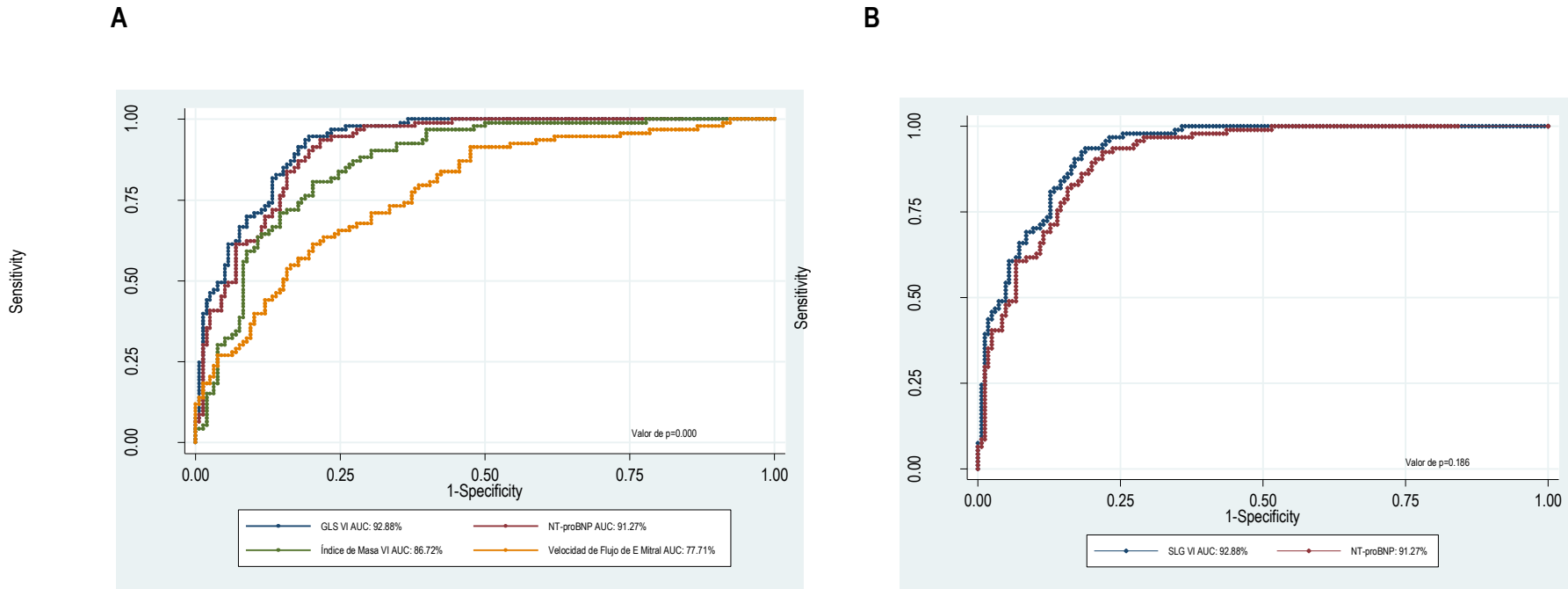
Tabla 16. Curvas AUC-ROC de parámetros ecocardiográficos y niveles de NT-ProBNP para discriminar la severidad de la CMCh (estadios A vs. B,C,D).

Parámetros	AUC-ROC* (%)	IC 95%	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Correctamente clasificado (%)
SLG VI (%)*	92.88	89.91 - 95.85	-20.5	80.85	86.67	84.56
NT-proBNP (pg/mL)*	91.27	87.88 - 94.66	39.1	83.33	83.05	83.15
Índice masa VI (g/m ²)	86.72	82.29 - 91.14	62.6	70.53	86.21	80.67
Velocidad de flujo de E Mitral (cm/s)*	77.71	71.86 - 83.55	87.0	49.47	85.29	72.45
SLG VI (%)†	94.44	91.79 - 97.09	-20.0	89.36	87.88	88.42
Velocidad de flujo de E Mitral (cm/s)†	93.44	90.49 - 96.39	75.0	82.11	87.06	85.28
Índice masa VI (g/m ²)†	92.36	89.23 - 95.48	64.9	84.21	84.48	84.39

*AUC-ROC para cada variable ajustada por edad, sexo y índice de masa corporal; †AUC-ROC para cada variable ajustada por edad, sexo, índice de masa corporal y NT-proBNP.

Abreviaciones: AUC-ROC: Área bajo la curva receptor operador; NT-ProBNP: Fracción aminoterminal propéptido natriurético tipo B; CMCh: Cardiomiopatía Chagásica; SLG: Strain longitudinal global; VI: Ventrículo izquierdo.

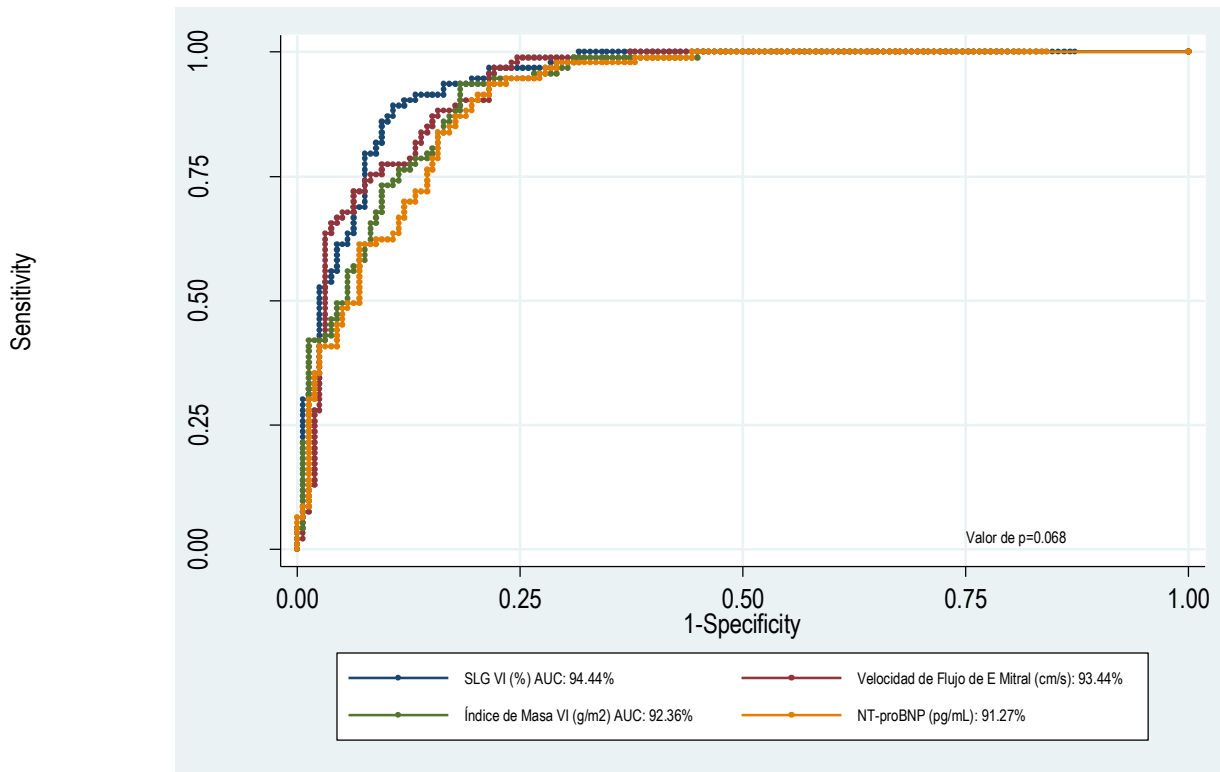
Figura 14. AUC-ROC. Las curvas comparan los estadios A vs. B,C,D de la CMCh ajustadas por edad, sexo e índice de masa corporal.



A. AUR-ROC para cada parámetro ecocardiográfico y NT-proBNP; **B.** AUR-ROC del SLG del VI comparado con NT-proBNP

Abreviaciones: AUC-ROC: Área bajo la curva receptor operador; CMCh: Cardiomiopatía Chagásica; NT-proBNP: Fracción aminoterminal propéptido natriurético tipo B; SLG: Strain longitudinal global; VI: Ventrículo izquierdo.

Figura 15. AUC-ROC para cada parámetro ecocardiográfico y niveles de NT-proBNP. Las curvas comparan los estadios A vs. B,C,D de la CMCh ajustadas por edad, sexo, índice de masa corporal y NT-proBNP.



Abreviaciones: AUC-ROC: Área bajo la curva receptor operador; NT-proBNP: Fracción aminoterminal propéptido natriurético tipo B; CMCh: Cardiomiopatía Chagásica; SLG: Strain longitudinal global; VI: Ventrículo izquierdo.

6.3 OBJETIVO ESPECÍFICO 3. Examinar el valor diagnóstico de un panel de biomarcadores cardiovasculares para distinguir la severidad de la CMCh.

Características de la población estudio.

De los 100 participantes incluidos, 26 se encontraban en estadio B de la CMCh, 29 en el estadio C y 45 en estadio D. La edad de los participantes varió entre 29 y 79 años. No se encontraron diferencias significativas por sexo o clase funcional en los estadios de severidad de la CMCh. Por su parte, la edad tendió a incrementar a través de las etapas de gravedad de la CMCh ($p=0.014$). Se observó una disminución significativa de la FEVI (mediana de 61 vs. 47 vs. 25%; $p=0.000$), IMC (mediana 27.2 vs 25.7

vs 23.8 kg/m²; $p=0.008$) y eTFG (61 vs. 61 vs. 55 mL/min/1.73m²; $p=0.000$) a medida que aumentaba el estadio de severidad (Tabla 17).

Tabla 17. Características sociodemográficas y clínicas según estadios de severidad de la CMCh.

Variables	Estadio B (n=26)	Estadio C (n=29)	Estadio D (n=45)	Valor de p
Sexo				
Mujeres	13	13	19	0.817
Hombres	13	16	26	
Edad (años)	55 (46-64)	61 (56-67)	65 (56-74)	0.014*
Clase funcional NYHA				
I-II	22	24	29	0.105
II-IV	4	5	16	
FEVI (%)	61 (59-65)	47 (43-52)	25 (20-31)	0.000*
IMC (kg/m²)	27.2 (24.5-32.0)	25.7 (23.3-27.7)	23.8 (21.3-27.5)	0.008*
eTFG (mL/min/1.73m²)	61 (61-61)	61 (56-61)	55 (43-61)	0.000*
Medicamentos				
IECA o ARA II	7	24	40	0.000*
Betabloqueadores	9	25	43	0.000*
Antagonistas de aldosterona	3	15	40	0.000*
Digoxina	0	2	15	0.000*
Diuréticos	4	11	35	0.000*
Antiplaquetarios	6	14	9	0.024*

La tabla contiene % para las variables categóricas y medianas (Q1-Q3) para variables continuas.

Abreviaciones: CMCh: Cardiomiopatía Chagásica; NYHA = New York Heart Association; FEVI: Fracción de eyección ventrículo izquierdo; IMC: Índice de masa corporal; eTFG: Tasa de filtración glomerular estimada; IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina; ARA-II: Bloqueadores de los receptores de angiotensina II.*Valores de $p < 0.05$ de pruebas chi2, exacta de Fisher o Kruskal–Wallis.

Biomarcadores y severidad de la CMCh.

La media de las concentraciones de NT-proBNP (4.35 vs. 6.14 vs. 7.99 pg/mL), Hs-cTnT (1.59 vs. 2.43 vs. 3.15 ng/L), NGAL (4.25 vs. 4.40 vs. 4.94 ng/mL) y cistatina C (-0.08 vs. 0.05 vs. 0.036 mg/L) aumentó a través de los estadios de gravedad de la CMCh. Las concentraciones de NT-proBNP y Hs-cTnT fueron estadísticamente diferentes entre todas las etapas de severidad (estadio B vs. C; B vs. D y C vs. D). Por el contrario, no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de otros biomarcadores en estadios intermedios (B y C) (**Tabla 18**).

Tabla 18. Biomarcadores cardiovasculares según estadios de severidad de la CMCh.

Variables	Estadio B (n=26)	Estadio C (n=29)	Estadio D (n=45)	Valor de p*
NT-proBNP (pg/mL)	4.35 ± 1.22	6.14 ± 1.28	7.99 ± 1.17	B vs. C: <0.000; B vs. D: <0.000; C vs. D: <0.000
Hs-cTnT (ng/L)	1.59 ± 0.52	2.43 ± 0.90	3.15 ± 0.94	B vs. C: <0.001; B vs. D: <0.000; C vs. D: <0.002
ST2 soluble (ng/mL)	3.07 ± 0.35	3.07 ± 0.32	3.49 ± 0.66	B vs. D: <0.003; C vs. D: <0.002
Galectina 3 (ng/mL)	2.55 ± 0.19	2.56 ± 0.39	2.83 ± 0.48	B vs. D: <0.016; C vs. D: <0.014
NGAL (ng/mL)	4.25 ± 0.38	4.40 ± 0.43	4.94 ± 0.46	B vs. D: <0.000; C vs. D: <0.000
Cistatina C (mg/L)	-0.08 ± 0.15	0.05 ± 0.21	0.36 ± 0.29	B vs. D: <0.000; C vs. D: <0.000

Todos los biomarcadores fueron utilizados como una transformación logarítmica natural. Esta tabla contiene medias y desviaciones estándar. *Valor de p pruebas ANOVA y Bonferroni.

Abreviaciones: CMCh: Cardiomiopatía Chagásica; NT-proBNP: Fracción aminoterminal propéptido natriurético tipo B; Hs-cTnT: Troponina T cardíaca de alta sensibilidad; NGAL: Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos.

En modelos de regresión logística multivariados ajustados por IMC, edad, sexo y eTFG mayores concentraciones de NT-proBNP transformada logarítmicamente (por aumento de 1 unidad, OR = 7.224; $p=0.000$), Hs-cTnT (OR=6.327; $p=0.001$), NGAL (OR=6.047; $p=0.016$) y cistatina C (OR=111.97; $p=0.017$) se asociaron con el aumento de la probabilidad de tener estadio C/D vs. B. El ajuste adicional por el uso de medicamentos para la FC no cambió sustancialmente las asociaciones de Hs-cTnT y NT-proBNP con la severidad de la CMCh, pero abolió las asociaciones con NGAL y cistatina C. No se encontraron asociaciones entre los niveles de sST2 y Gal-3 con la gravedad de la CMCh (**Tabla 19**).

Tabla 19. Asociación entre biomarcadores y estadios de severidad de la CMCh (estadios C, D vs. B).

Biomarcadores	Modelo 1			Modelo 2			Modelo 3		
	OR	IC 95%	Valor p	OR	IC 95%	Valor p	OR	IC 95%	Valor p
NT-proBNP (pg/mL)	4.128	2.321 - 7.342	0.000	7.224	2.534 - 20.592	0.000	5.558	1.650 - 18.720	0.006
Hs-cTnT (ng/L)	9.539	3.730 - 24.391	0.000	6.327	2.185 - 18.317	0.001	7.115	1.410 - 35.909	0.018
ST2 soluble (ng/mL)	2.938	1.050 - 8.223	0.040	2.261	0.559 - 9.138	0.252	1.313	0.155 - 11.076	0.802
Galectina 3 (ng/mL)	2.796	0.891 - 8.776	0.078	0.649	0.133 - 3.161	0.593	0.200	0.023 - 1.747	0.146
NGAL (ng/mL)	10.389	2.902 - 37.195	0.000	6.047	1.404 - 26.032	0.016	2.729	0.307 - 24.199	0.367
Cistatina C (mg/L)	424.72	23.73 - 7601.05	0.000	111.97	2.34 - 5346.47	0.017	14.51	0.07 - 3016.97	0.326

Todos los biomarcadores fueron utilizados como una transformación logarítmica natural. Modelo 1: Odds ratio (OR) crudo; Modelo 2: OR ajustado por índice de masa corporal, edad, sexo y tasa de filtración glomerular estimada; Modelo 3: Modelo 2+ ajuste adicional por inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina o bloqueadores de los receptores de angiotensina II, betabloqueadores, antagonistas de aldosterona y diuréticos.

Abreviaciones: CMCh: Cardiomiopatía Chagásica; OR: Odds ratio; NT-proBNP: Fracción aminoterminal propéptido natriurético tipo B; Hs-cTnT: Troponina T cardíaca de alta sensibilidad; NGAL: Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos.

Capacidad discriminativa de los biomarcadores para distinguir el estadios C/D vs. B.

El AUC-ROC más alto fue para el NT-proBNP (96.8%), seguido de Hs-cTnT (95.6%), cistatina C (94.4%), NGAL (94.4%), sST2 (93.8%) y Gal-3 (93.5%). La sensibilidad y especificidad para detectar la gravedad de la CMCh para NT-proBNP (punto de corte >4.49 pg/mL) fue de 93.24% y 76.92% respectivamente; mientras que para Hs-cTnT (punto de corte >2.66 ng/L), la sensibilidad fue de 95.95% y la especificidad de 73.08% (**Tabla 20**). No se encontraron diferencias significativas en el AUC-ROC entre NT-proBNP y Hs-cTnT (AUC-ROC 96.8% vs. 95.6%; $p=0.424$) (**Figura 16**).

Además, al comparar la evaluación individual de NT-proBNP y Hs-cTnT con la combinación de diferentes biomarcadores no se observó ningún valor de diagnóstico adicional para distinguir los estadios de severidad de la CMCh. El uso de los valores originales de los biomarcadores (sin transformación logarítmica) proporcionó resultados similares. Se observó que niveles más altos de NT-proBNP, Hs-cTnT, ST2, NGAL y cistatina C se asociaron con disminución de la FEVI (todos los valores de $p < 0.002$). No se encontró asociación entre la Gal-3 y la FEVI (**Anexo 3**).

Los resultados de este objetivo específico dieron origen al artículo “Profiles of cardiovascular biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy” y su material suplementario (**Anexo 3**).

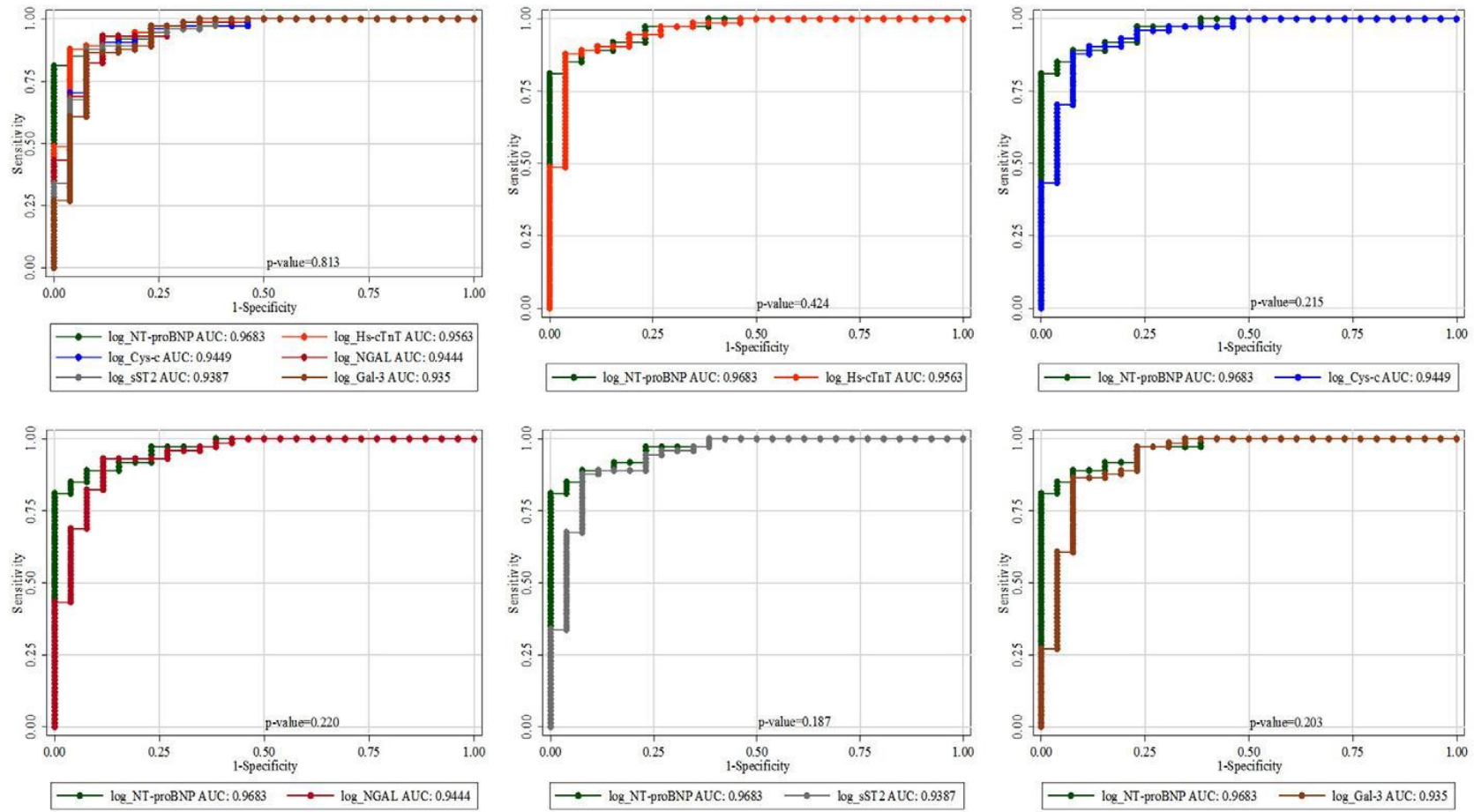
Tabla 20. AUC-ROC de biomarcadores cardiovasculares para discriminar la severidad de la CMCh (estadios C, D vs. B).

Biomarcadores	AUC-ROC*	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Correctamente clasificado (%)
NT-proBNP (pg/mL)	0.9683	4.49	93.24	76.92	89.00
Hs-cTnT (ng/L)	0.9563	2.66	95.95	73.08	90.00
ST2 soluble (ng/mL)	0.9387	2.54	95.95	73.08	90.00
Galectina 3 (ng/mL)	0.9350	2.28	97.30	76.92	92.00
NGAL (ng/mL)	0.9444	4.56	94.59	73.08	89.00
Cistatina C (mg/L)	0.9449	0.03	95.95	73.08	90.00

Todos los biomarcadores fueron utilizados como una transformación logarítmica natural.*AUC-ROC ajustadas por índice de masa corporal, edad, sexo, tasa de filtración glomerular estimada, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina o bloqueadores de los receptores de angiotensina II, betabloqueadores, antagonistas de aldosterona y diuréticos.

Abreviaciones: AUC-ROC: Área bajo la curva receptor operador; CMCh: Cardiomiopatía Chagásica; NT-proBNP: Fracción aminoterminal propéptido natriurético tipo B; Hs-cTnT: Troponina T cardíaca de alta sensibilidad; NGAL: Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos.

Figura 16. AUC-ROC para cada biomarcador cardiovascular. Las curvas comparan los estadios C,D vs. B de la CMCh.



Todos los biomarcadores fueron utilizados como una transformación logarítmica natural. AUC-ROC ajustadas por índice de masa corporal, edad, sexo, tasa de filtración glomerular estimada, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina o bloqueadores de los receptores de angiotensina II, betabloqueadores, antagonistas de aldosterona y diuréticos.

Abreviaciones: AUC-ROC: Área bajo la curva receptor operador; CMCh: Cardiomiopatía Chagásica; NT-proBNP: Fracción aminoterminal propéptido natriurético tipo B; Hs-cTnT: Troponina T cardíaca de alta sensibilidad; Cys-c: Cistatina C; NGAL: Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos; sST2: ST2 soluble; Gal-3: Galectina 3.



7. DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

En 1910 Carlos Chagas comenzó la construcción científica de la enfermedad cardíaca crónica de Chagas, identificando la presencia de arritmias cardíacas en la valoración física de pacientes con ECh crónica. Además, describió un caso de FC asociada a inflamación miocárdica y a nidos de parásitos en la autopsia. Entre 1911-1912 documentó la muerte súbita cardíaca relacionada con arritmias y bloqueo A-V completo. En 1916 demostró la presencia de fibrosis miocárdica subyacente al cuadro clínico de CMCh y en 1922 presentó una caracterización de los aspectos clínicos (2).

En 1928, Chagas detectó fibrosis del sistema conductor y señaló la presencia de una marcada cardiomegalia en la radiografía de tórax asociada con una mínima sintomatología. Después de la muerte de Chagas, en 1936 se puso en práctica clínica el uso de la reacción serológica que junto con el ECG en 1945 reveló la importancia epidemiológica de la CMCh. En 1953, se estableció el largo período entre la infección inicial y la aparición de la CMCh y en 1956 se determinó su incidencia anual. Asimismo entre 1965 y 1995, se adicionaron otros aspectos clínicos fundamentales según lo descrito previamente por Chagas, derivados de pruebas diagnósticas como el cateterismo cardíaco, prueba de esfuerzo con ejercicio, monitoreo Holter, pruebas electrofisiológicas, ecocardiografía, la biopsia endomiocárdica y la resonancia magnética (2).

A pesar de los múltiples aportes que los investigadores han hecho al conocimiento de la CMCh, aún existen aspectos del curso clínico de esta enfermedad por esclarecer. En la actualidad, los médicos se basan en criterios no específicos para el diagnóstico de la CMCh, que incluyen una relación cardiorácica superior al 50% o alteraciones detectadas en el ECG (BRD y arritmias) y ECO. Del mismo modo, no se conocen biomarcadores que permitan predecir con certeza qué pacientes positivos para *T. cruzi* evolucionarán a CMCh. Se ha sugerido que un nuevo método de cribado basado en las concentraciones de péptido natriurético cerebral y la función diastólica, podría detectar de forma temprana la afectación cardíaca en la ECh crónica, superando potencialmente las limitaciones de los métodos de diagnóstico tradicionales que pueden clasificar erróneamente a los pacientes (125). Sin embargo, se requieren más estudios al respecto, que permitan dilucidar los predictores de la transición de la fase indeterminada a la

determinada (biomarcadores y/o ayudas diagnósticas) que orienten el diagnóstico temprano de dicha conversión, con el propósito de prevenir o disminuir la carga de enfermedad por ECh.

En consecuencia, se han desarrollado los objetivos específicos con metodologías independientes, pero unidos por aspectos clínicos comunes que aportan al conocimiento de la CMCh. Como resultados de esta tesis, hemos logrado cuantificar y sintetizar de una forma más precisa las alteraciones ECGs generales y específicas atribuidas a la ECh a nivel poblacional. De igual forma, se han identificado potenciales variables ECOs y biomarcadores cardiovasculares capaces de distinguir el inicio temprano del compromiso cardíaco en pacientes seropositivos para la ECh. A continuación, se profundizará en la interpretación de los hallazgos de cada uno de los estudios desarrollados, las potenciales relaciones conceptuales, el contraste con otras investigaciones sobre el tema, así como sus respectivas fortalezas y limitaciones e implicaciones para la práctica clínica y futuros estudios.

7.1 DISCUSIÓN GENERAL

En el primer objetivo específico, hemos revisado sistemáticamente la evidencia actual de la prevalencia de alteraciones ECGs generales y específicas en individuos con ECh a nivel poblacional. En general, encontramos que los sujetos con ECh comparados con los participantes sin ECh, tienen casi tres veces una mayor prevalencia de alteraciones ECGs: con una mayor prevalencia de BCRD, BFAI, bloqueo A-V de primer grado, EV, la combinación de FA más flutter y la combinación de BCRD más BFAI. Además, la prevalencia de alteraciones del ECGs en los niños fue similar a la de los adultos, sugiriendo una aparición más temprana de enfermedad cardíaca.

Este estudio complementa y amplía los hallazgos de una revisión sistemática previa (126) que informó una mayor prevalencia de la combinación BRD y BFAI en pacientes con CMCh en comparación con etiologías no chagásicas. Asimismo, la FA fue significativamente más prevalente en el grupo de pacientes chagásicos comparado con los no chagásicos, sin embargo no fue significativamente diferente entre grupos cuando el análisis incluyó solo pacientes con cardiomiopatía. Con respecto a la revisión anterior, la

nuestra incluyó 34,023 vs. 17,238 participantes con 19 artículos adicionales (49 vs. 30 estudios) y, con un solapamiento de solo 10 estudios (20.4%).

Además, contrariamente al esfuerzo actual, el trabajo previo consideró casos clínicos y comunitarios, con controles principalmente de la población general, mientras que nuestro estudio únicamente incluyó estudios poblacionales que comparaban las alteraciones ECGs compatibles con ECh en sujetos seropositivos y seronegativos reclutados en entornos no clínicos. Los estudios que utilizan casos de un entorno clínico y controles de la población general, tienden a sobreestimar la prevalencia de alteraciones ECGs.

Por otra parte, Cardoso y Col. (126) no encontraron datos disponibles para calcular la prevalencia de bloqueo A-V de primer y segundo grado en individuos con y sin ECh, mientras que nuestro estudio cuantificó la prevalencia de estas alteraciones ECGs, documentando una mayor prevalencia de bloqueo A-V de primer grado. Nuestros hallazgos amplían los resultados previos al proporcionar la prevalencia general y específica de alteraciones ECGs, informando una mayor prevalencia de la combinación de FA más flutter y EV entre los pacientes chagásicos en comparación con los participantes sin ECh. Por el contrario, no se observaron diferencias en el bloqueo completo e incompleto de rama izquierda (BRI), bloqueo fascicular posterior izquierdo (BFPI), bloqueo A-V de segundo y tercer grado, extrasístoles supraventriculares (ES) y bajo voltaje del QRS.

Finalmente, pese a que las alteraciones cardíacas en la niñez son poco comunes y se considera que éstas tardan décadas en manifestarse en los adultos infectados por *T. cruzi* (25, 34, 115), nuestros datos indican que la ECh se asocia con una mayor prevalencia de alteraciones ECGs tanto en niños como en adultos. Adicionalmente, nuestros hallazgos sobre la alta frecuencia de alteraciones ECGs en niños (5-13 años) sugieren manifestaciones tempranas de su progresión cuando la infección por *T. cruzi* es adquirida a una edad más temprana (103, 115, 127).

Un estudio clinicopatológico previo basado en registros médicos y autopsias, llevado a cabo en 19 niños y adolescentes (6-17 años) determinó una prevalencia de contracciones ventriculares prematuras del 58%, BFAI 45%, bloqueo A-V de primer grado 28%, BCRD 11% y FA 11%. Los autores concluyeron que, en esta población adolescente, la ECh muestra peculiaridades relevantes, como la rápida evolución hacia la muerte (tan corta como 128 días), la dificultad diagnóstica relacionada con la ocurrencia de regurgitación mitral (61% de diagnóstico inicial erróneo) y la baja frecuencia de BRD, sugiriendo que la ECh crónica en este rango de edad puede ser de un tipo particular, y por lo tanto podría ser útil aclarar el mecanismo patogénico de la enfermedad (128).

Aunque la etiología de las alteraciones cardíacas en los pacientes con ECh sigue siendo poco clara, se han propuesto una serie de mecanismos biológicamente plausibles. Se caracterizan por el desarrollo de un infiltrado celular difuso y cambios en la microcirculación que conducen a la fibrosis (129). La evidencia sugiere que una baja persistencia parasitaria desencadena una respuesta inmune específica del *T. cruzi* en el corazón, y que al menos algunas de las células que componen el infiltrado son específicas del parásito (129). Simões-Barbosa y Col. informan que la infección por *T. cruzi* puede afectar la expresión génica en células del huésped humano a través de la LINE-1 de retrotransposomas, los cuales pueden desempeñar un papel importante en la patogénesis de la afectación cardíaca en la ECh (130, 131).

La infección por *T. cruzi* también altera la inervación parasimpática predisponiendo a una sobreactivación simpática la cual puede conducir a un mayor daño cardíaco y arritmogénesis (132, 133). La persistencia del *T. cruzi* puede iniciar directamente el daño de las células endoteliales vasculares o provocar alteraciones en la microvasculatura a través de sus efectos sobre el infiltrado inflamatorio, así como sobre varios lípidos bioactivos como el tromboxano A y la prostaglandina F₂α, potentes vasoconstrictores con efecto trombogénico (129). En resumen, múltiples mecanismos pueden ser responsables del desarrollo de las alteraciones cardíacas en individuos infectados con *T. cruzi*, incluyendo características específicas tanto del huésped como del parásito que requieren una mayor investigación.

En relación con el segundo objetivo específico, el principal hallazgo fue identificar la progresión en varios marcadores de la función ventricular sistólica y diastólica que claramente se correlacionan con la severidad

y evolución de la ECh. Hemos encontrado tres marcadores funcionales y un biomarcador capaces de identificar la progresión dentro de los diferentes estadios de la CMCh, todos ellos con un alto rendimiento diagnóstico.

Como es bien sabido, uno de los principales desafíos en la ECh es la identificación temprana de individuos infectados que finalmente desarrollarán la CMCh. Las causas fisiopatológicas que ocasionan el deterioro progresivo en la CMCh siguen siendo inciertas. La infección persistente de bajo grado parece desencadenar una respuesta autoinmune que conduce a la pancarditis crónica (134, 135). También se han descrito alteraciones microvasculares que inducen isquemia en las áreas distales de las arterias coronarias, predominantemente en el ápex y las paredes inferiores e inferolaterales (136-138). Garcia-Alvarez A y Col. (139) también han informado una disfunción diastólica precoz asociada con un empeoramiento de la función contráctil, al igual que una disminución de la velocidad de la torsión que contribuye a la disfunción ventricular.

De otro modo, Tassi EM y Col. (140) sugirieron la posible presencia de fibrosis endomiocárdica en las fases iniciales de la ECh en pacientes sin disfunción diastólica. Adicionalmente, los pacientes con ECh con anormalidades en el movimiento de las paredes segmentarias y FEVI preservada tienen peor pronóstico. La alteración regional de SLG apoya la hipótesis fisiopatológica de una fibrosis endomiocárdica focal predominante, como una característica inherente de la ECh que conduce a la remodelación aneurismática de los segmentos basales inferolaterales, laterales y todos los segmentos apicales (26, 140-143).

Midiendo el ST globalmente, radialmente y circunferencialmente, otros investigadores (139), demostraron una tendencia decreciente significativa entre los grupos, con valores más bajos del SLG en el grupo con CMCh comparado con el grupo control (sin ECh) en los segmentos mediolateral, basal-septal, basal-anterior y medioanterior. No encontraron diferencias en el SLG entre los pacientes indeterminados y el grupo control. Barbosa et al. (144) usando un ST longitudinal 2D, hallaron un ST más bajo en la pared basal-inferior e inferoseptal, así como en el segmento apical de la pared inferolateral, en comparación con el grupo control. El SLG no difirió entre los controles y los pacientes chagásicos, sin embargo, los pacientes chagásicos con anormalidades contráctiles focales tenían un ST más bajo que los controles

sanos (144). Por el contrario, nosotros observamos una tendencia decreciente significativa del SLG a través de los estadios.

En nuestro estudio, el índice de masa del VI se relacionó con la severidad de la CMCh e incrementó en los pacientes con estadios más avanzados. Este marcador fue capaz de diferenciar la progresión a través de las etapas. Nuestros hallazgos concuerdan con los de Nascimento y Col. (145) quienes observaron diferencias significativas a lo largo de los estadios de severidad de la CMCh en el índice de masa del VI. Sin embargo, difieren con el estudio de Lima y Col. (146), quienes no encontraron diferencias en este parámetro ecocardiográfico en 8 individuos con forma indeterminada de la ECh, 13 con CMCh y 21 controles sanos.

Previamente, otros investigadores (147) describieron alteraciones significativas en la función diastólica en la fase indeterminada en comparación con los controles sanos. Barros y Col. (148), reportaron la progresión de la disfunción diastólica relacionada con el deterioro de la función sistólica. Garcia-Alvarez y Col. (149) encontraron una correlación de estos cambios en la relajación del VI con la fibrosis endomiocárdica en la resonancia magnética cardíaca con un mejoramiento tardío, sugiriendo que el mecanismo fundamental podría ser la fibrosis endomiocárdica. Sin embargo, no todos los pacientes desarrollan disfunción diastólica en la ECh (150).

Nuestros resultados sugieren que la disfunción ventricular derecha no se afectó significativamente en las etapas tempranas de la ECh y los cambios de la función ventricular derecha evaluados por medio de TAPSE (un sustituto poderoso de la función del ventrículo derecho), ocurrieron de forma tardía y solo se alteraron significativamente en la fase final de la enfermedad, cuando la función ventricular izquierda está muy deteriorada. Lo anterior es consistente con los resultados de Nunes y Col. (151, 152), quienes concluyen que el compromiso ventricular derecho se asoció con una previa dilatación severa del VI sin hallar una insuficiencia cardíaca derecha aislada en estadios tempranos.

En resumen, el ECO demostró un deterioro progresivo y significativo de la FEVI, así como un incremento del diámetro ventricular izquierdo tanto al final de sístole como diástole y un incremento gradual del índice de masa del VI con una progresión hacia la hipertrofia, predominantemente excéntrica. Los índices que evalúan la función ventricular diastólica evidenciaron un deterioro de la misma hacia grados 2 y 3, dado principalmente por la marcada disminución de la velocidad e' lateral, incremento en la velocidad de flujo de E mitral y la relación E/A. Además, ST demostró un deterioro progresivo global a medida que los estadios de la enfermedad avanzaban.

Según lo esperado, los niveles de NT-ProBNP aumentaron significativamente a medida que la función cardíaca empeoraba. Garcia-Alvarez y Col. (149) sugieren que la combinación de la función diastólica y los niveles de BNP puede mejorar la estratificación de los pacientes con ECh. Nuestras AUC-ROC de los parámetros ECOs mejoraron cuando se ajustaron por NT-proBNP. Actualmente, las guías de FC recomiendan la evaluación del NT-proBNP para establecer el diagnóstico primario y orientar el tratamiento de la insuficiencia cardíaca, dada su objetividad, reproducibilidad y amplia disponibilidad (62, 153, 154). Lo anterior, de acuerdo con nuestros hallazgos podría ser aplicable a los pacientes con CMCh.

La comparabilidad de los hallazgos ECOs con otros autores es limitada debido a que no se incluyeron participantes sanos seronegativos, ni medimos la tensión radial y circunferencial. Las diferencias encontradas respecto a otros estudios podrían explicarse por un bajo poder estadístico debido a un limitado tamaño de muestra, diferencias con respecto a las características particulares de la población estudiada o diversidad en la metodología ecocardiográfica utilizada, pero principalmente por la heterogeneidad en la clasificación de los grupos de comparación, entre otros.

Para el tercer objetivo específico sólo se incluyeron pacientes con CMCh, encontrando que el NT-proBNP, Hs-cTnT, NGAL y cistatina C se asociaron con su severidad. Además, se observó que los biomarcadores con el más alto valor diagnóstico para diferenciar la severidad de la CMCh fueron el NT-ProBNP y la Hs-cTnT.

En nuestro estudio, el NT-proBNP, un marcador de diagnóstico para la severidad de la FC, se asoció con la gravedad de la CMCh y tuvo una alta precisión en la discriminación de los estadios B vs. C/D. De manera similar, Muñoz y Col. (155) reportaron diferencias estadísticas en los niveles de NT-proBNP a lo largo de los estadios de severidad de la CMCh en comparación con pacientes con ECh crónica asintomática. De igual forma, en otro estudio de 183 individuos con ECh, los niveles de NT-proBNP tendieron a incrementar con la severidad de la CMCh, pero no distinguieron la CMCh de otras cardiomiopatías (40). El mismo estudio reportó un AUC-ROC de 0.78 para el NT-proBNP en la discriminación de los estadios AB y CD (40). En el presente estudio, se observó que el NT-proBNP puede discriminar a los pacientes con CMCh en estadio B, y por consiguiente sin disfunción ventricular, de aquellos que progresaron al estadio C/D, con función sistólica ventricular izquierda deteriorada que requieren terapia antiremodelación.

Los péptidos natriuréticos están disponibles en tres tipos, conocidos como ANP (péptidos natriuréticos auriculares), BNP (péptido natriurético de tipo B o péptido natriurético cerebral) y CNP (péptido natriurético de tipo C). El ANP es secretado principalmente desde la aurícula, el BNP en los ventrículos cardíacos y el CNP se localiza en el endotelio. Éstos se producen en respuesta al estiramiento de la fibra miocárdica en el contexto de procesos fisiológicos y patológicos, y en el caso de una tensión aumentada de la pared ventricular, el proBNP se sintetiza en ambos ventrículos. La producción de proBNP por mecanismos neurohormonales tiene efectos antiproliferativos en el músculo liso, disminuye la natriuresis, la diuresis y la fibrosis miocárdica (156). Se ha demostrado que los péptidos natriuréticos son marcadores robustos de la disfunción ventricular en fases tempranas de la enfermedad cardiovascular y que los puntos de corte para sus concentraciones orientan la toma de decisiones terapéuticas (68, 157).

Aunque en otros estudios de cardiomiopatías de diferentes etiologías se ha observado una elevación temprana de los péptidos natriuréticos, las características de la CMCh que involucran un compromiso precoz de la función cardíaca (estadio B), previo al deterioro temprano de la función sistólica (estadio C), hacen particularmente importante que se determine si estos biomarcadores pueden tener implicaciones terapéuticas en este grupo de pacientes.

Nuestros resultados sobre la Hs-cTnT son similares a lo descrito por Saravia y Col. (158), quienes reportaron valores más bajos de Hs-cTnT en pacientes con cardiomiopatía leve o moderada (mediana 1.5 ng/L; rango, 1.5-25.1 ng/L) comparados con cardiomiopatía severa (mediana 3.0 ng/L; rango, 1.5-35.9 ng/L). La Hs-cTnT es un marcador de lesión miocárdica, asociado con el pronóstico de la enfermedad cardíaca isquémica (69). Además, su elevación en la cardiomiopatía dilatada ha sido ligada con el pronóstico desde hace más de una década (70, 71). Nuestros hallazgos sugieren que las concentraciones de Hs-cTnT tienen un alto valor diagnóstico para discriminar la severidad de la CMCh y éste es similar al del NT-proBNP. Se necesitan estudios adicionales para corroborar estos resultados y evaluar si los niveles de Hs-cTnT tienen implicaciones terapéuticas.

Según nuestro conocimiento, éste es el primer estudio que examina el papel del NGAL, cistatina C, sST2 y Gal-3 en la CMCh. Estos biomarcadores se han estudiado en FC de otras etiologías, pero se sabe muy poco sobre su rol en la CMCh. El NGAL, un marcador de lesión renal aguda, se ha asociado con un mayor riesgo de eventos cardiovasculares y mortalidad en pacientes con insuficiencia cardíaca, así como en aquellos con una función renal normal (159-161). Además, evidencia reciente demuestra una expresión sistémica y miocárdica aumentada del NGAL después de un infarto agudo de miocardio (162).

La cistatina C también es un marcador temprano de insuficiencia renal y sus concentraciones tienen valor pronóstico en los resultados adversos a largo plazo en FC aguda y crónica (163, 164). Por su parte, Gal-3, una lectina de unión a β -galactósidos parece ser un mediador de la fibrosis cardíaca y se ha asociado con la función renal, el incremento de las concentraciones plasmáticas del NT-proBNP y mortalidad en individuos con FC (67, 165). Finalmente, el sST2 es un nuevo biomarcador que integra inflamación, fibrosis y estrés cardíaco. A pesar de no ser un marcador valioso para el diagnóstico de FC, se ha asociado fuertemente con indicadores de severidad y desenlaces desfavorables, incluyendo la muerte, en insuficiencia cardíaca aguda y crónica (66). En nuestro estudio, NGAL, sST2, Gal-3 y cistatina C no se asociaron con la severidad de la CMCh después de ajustar por el tratamiento.

7.2 FORTALEZAS Y LIMITACIONES

Nuestro metaanálisis es el más grande realizado y publicado hasta la fecha en la literatura médica en el tópico de hallazgos ECGs en la ECh. Este análisis incluyó 34,023 participantes seropositivos y seronegativos para Chagas e investigó una amplia gama de alteraciones ECGs. Adicionalmente, solo se incluyeron estudios basados en sujetos reclutados a través de encuestas comunitarias y bancos de sangre (de base poblacional), con el fin de evitar la sobreestimación de las medidas de efecto que puede surgir por la inclusión de poblaciones clínicas.

Al igual que en otras revisiones sistemáticas, somos propensos al sesgo de publicación. Sin embargo, hubo poca evidencia de sesgo de publicación y, por lo tanto, la probabilidad de que los estudios con hallazgos negativos no se publiquen es baja (bajas prevalencias). Realizamos una extensa estrategia de búsqueda en varias bases de datos para identificar todos los estudios relevantes en el tema. No obstante, la mayoría de los estudios se realizaron en América Latina y debido a que no se emplearon términos en portugués y español, no excluimos la posibilidad de omitir algunos estudios relevantes. Pese a lo anterior, la estrategia de búsqueda utilizada incluyó el término "Chagas" que no tiene traducción y es obligatorio en búsquedas sistemáticas de este tópico, por lo que consideramos que no se incurrió en sesgo de selección y, en caso de hacerlo, tendría un impacto menor. Además, la baja y moderada calidad de los estudios individuales publicados e incluidos en este metaanálisis fue limitada.

La variación en el estudio con respecto a los criterios de inclusión y exclusión y las diversas poblaciones incluidas en los estudios, contribuyeron a la heterogeneidad de los hallazgos observados en los metaanálisis realizados. Es probable que otras fuentes de heterogeneidad dadas por los métodos de diagnóstico de la ECh y los criterios aplicados para la definición de alteraciones ECGs hubiesen influido también, pese a no ser estadísticamente significativos. Sin embargo, no se observó heterogeneidad en 5 de los 16 metaanálisis, ni en el metaanálisis basado solo en niños.

En el segundo estudio, se caracterizaron varios parámetros ECOs en un gran número de pacientes con diferentes estadios de severidad de la CMCh. Hemos excluido otras patologías que pueden alterar los parámetros ECOs examinados, lo que fortalece nuestros hallazgos. Para nuestro conocimiento, es el

primer estudio que determina los puntos de corte de los cambios tempranos de estas variables ECOs capaces de distinguir los diferentes estadios de severidad de la CMCh. Sin embargo, es importante considerar algunas limitaciones; 1) el diseño de corte transversal utilizado sólo permite establecer asociación, y no relación causal entre los parámetros ECOs y los estadios de severidad de la CMCh; 2) las mediciones y análisis fueron realizados por un solo sonógrafo y cardiólogo con experiencia, y la variabilidad intraobservador no fue evaluada; lo que limita la reproducibilidad de las medidas reportadas y 3) finalmente, no incluimos participantes sanos sero-negativos (libres de ECh) para fines de comparación, ni medimos el strain radial y circunferencial.

Las fortalezas del tercer estudio incluyen las medidas extensas de un panel de biomarcadores circulantes en pacientes con CMCh. Adicionalmente, los pacientes con hipertensión no controlada, diabetes mellitus, antecedentes de enfermedad coronaria y estenosis mitral fueron excluidos, debido a que estas condiciones pueden alterar las concentraciones de los biomarcadores examinados.

No obstante, se deben considerar algunas limitaciones importantes. En primer lugar, dado el diseño (corte transversal) no es posible establecer una relación causal entre los biomarcadores y los estadios de severidad de la CMCh. Además, debido al limitado tamaño de la muestra, para optimizar el desempeño de los modelos, los análisis se basaron principalmente en dos categorías (FEVI baja vs. alta) de los estadios de severidad de la CMCh. Adicionalmente, no se incluyeron pacientes en estadio A de la ECh (positivo para *T. cruzi* con ECG y ECO normales), que pudieron ser útiles para examinar el rol de los biomarcadores seleccionados en pacientes en fase indeterminada. Finalmente, aunque nuestro estudio proporciona datos sobre el valor diagnóstico de estos biomarcadores en la CMCh, no provee ninguna información pronóstica, por lo tanto se requieren más investigaciones en este tópico.

7.3 IMPLICACIONES PARA LA PRÁCTICA CLÍNICA

La ECh es reconocida por la Organización Mundial de la Salud como una enfermedad tropical desatendida que, históricamente no ha recibido el suficiente interés de la salud pública o de la investigación, ni de recursos gubernamentales a nivel mundial. Los costos de la ECh en América Latina se estiman hasta en 662.000 años de vida ajustados por discapacidad al 2008, y el costo económico total atribuido a la

enfermedad cada año es estimado en más de \$ 7 mil millones de dólares, con más del 10% de este costo incurrido en los Estados Unidos y Canadá. Eminentes científicos han etiquetado a la ECh como "El nuevo VIH/SIDA de las Américas", y se proyecta que el 20-30% de las personas infectadas desarrollarán una miocardiopatía potencialmente mortal en el transcurso de su vida. Actualmente no existe una vacuna o tratamiento médico altamente efectivo disponible para cerca de 10 millones de personas infectadas con *T. cruzi* (1).

En etapas iniciales, las manifestaciones cardíacas en sujetos infectados con *T. cruzi*, incluyen cambios ECGs específicos como BCRD y BFAI, y a medida que avanza la enfermedad, se producen bloqueos A-V, EV y fibrilación/flutter auricular (13, 28). Estos hallazgos pueden ser relevantes para fines diagnósticos y epidemiológicos, ya que una vez establecidas las alteraciones cardíacas, el pronóstico de estos sujetos disminuye rápidamente. También, esta información contribuye a precisar los signos que deben ser considerados por parte de los clínicos, tanto de lugares endémicos como no endémicos.

Asimismo, estos hallazgos pueden tener implicaciones importantes para los países no endémicos, cuya prevalencia de ECh en los migrantes latinoamericanos es del 4.2% (IC del 95% 2.2 a 6.7%) (166), y menos del 1% de la prevalencia esperada de la CMCh ha sido reportada, sugiriendo un subdiagnóstico y una conciencia médica no óptima (167). Las alteraciones ECGs específicas como BRD asociado con BFAI, bloqueo A-V de primer grado, fibrilación/flutter auricular y EV, deberían alertar a los clínicos que encuentren pacientes originarios de regiones endémicas de Chagas, asintomáticos o con insuficiencia cardíaca o cardiomiopatía de etiología desconocida, para que consideren obtener pruebas serológicas que descarten o confirmen la infección por *T. cruzi* (58).

7.4 IMPLICACIONES PARA FUTURAS INVESTIGACIONES

En términos de salud pública, nuestros hallazgos proporcionan una actualización y síntesis de la carga de la enfermedad cardíaca en pacientes con Chagas, y complementan resultados previos sobre el exceso de mortalidad en estos individuos. Cucunuba ZM y Col (34) reportan un incremento en la mortalidad debida a la ECh, tanto en poblaciones asintomáticas como sintomáticas. Además, nuestros resultados proporcionan datos importantes que podrían ser útiles para que futuros estudios estimen con mayor precisión la carga

de enfermedad y económica de la ECh en Latinoamérica. Al respecto, entender la morbi-mortalidad en pacientes con Chagas a nivel poblacional, como lo evidencia este estudio y Cucunuba ZM y Col.(34), proporcionan una mejor comprensión del impacto de la enfermedad y resalta la necesidad de optimizar la detección, diagnóstico, tratamiento y manejo de las poblaciones afectadas (168).

Nuestros hallazgos también alertan sobre la alta prevalencia de alteraciones ECGs en niños, similar a la de los adultos, que al parecer está avanzando de una forma más rápida y hasta la fecha, se había documentado que las manifestaciones cardíacas tardaban décadas en aparecer (10-30 años). Lo anterior debe motivar a la realización de futuras investigaciones para corroborar estos hallazgos y evaluar si los biomarcadores que hemos encontrado útiles en adultos, también pueden serlo en niños.

El SLG VI, la velocidad de flujo de E mitral, el índice de masa del VI, los niveles de NT-proBNP y la Hs-cTnT podrían ser marcadores valiosos para la detección, el tratamiento y el pronóstico de pacientes seropositivos con alto riesgo de deterioro cardíaco por *T. cruzi*. Su uso como variables de monitorización y seguimiento de la implementación de tratamientos con efecto directo contra el tripanosoma y la FC puede ser relevante para prevenir o limitar la progresión de la CMCh. Sin embargo, se requieren estudios longitudinales con seguimientos prolongados para validar estos hallazgos.



8. CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación, permiten extraer las siguientes conclusiones:

- ❖ La prevalencia de alteraciones ECGs en pacientes chagásicos a nivel poblacional fue del 40.1% (IC del 95% 39.2 a 41.0%) vs. (24.1%; IC del 95% 23.5 a 24.7), siendo 2.78 veces más frecuentes en pacientes chagásicos versus no chagásicos (OR=2.78; IC del 95% 2.37 a 3.26).
- ❖ La prevalencia de alteraciones ECGs generales fue similar en niños, al compararla con otros grupos de edades en personas seropositivas y seronegativas para la ECh: niños (OR=2.83; IC del 95% 2.26 a 3.53) vs. mayores de 10 años (OR=2.78; IC del 95% 2.08 a 3.71) y vs. todas las edades (OR=2.66; IC del 95% 2.13 a 3.32).
- ❖ Nuestros hallazgos también alertan sobre la alta prevalencia de alteraciones ECGs en niños, similar a la de los adultos. Lo anterior debe motivar a la realización de futuras investigaciones para corroborar estos hallazgos y evaluar si los biomarcadores que hemos encontrado útiles en adultos, también pueden serlo en niños.
- ❖ En pacientes provenientes de regiones endémicas, las alteraciones ECGs específicas que permiten al médico y al personal de salud sospechar del diagnóstico de ECh, según la magnitud del efecto son las siguientes: bloqueo completo de rama derecha (BCRD) (OR=4.60; IC del 95% 2.97 a 7.11), combinación de BCRD y bloqueo fascicular anterior izquierdo (BFAI) (OR=3.34; IC del 95% 1.76 a 6.35), fibrilación/flutter auricular (OR=2.11; IC del 95% 1.40 a 3.19), bloqueo A-V de primer grado (OR=1.71; IC del 95% 1.25 a 2.33), extrasístoles ventriculares (OR=1.62; IC del 95% 1.14 a 2.30) y BFAI (OR=1.60; IC del 95% 1.21 a 2.13).

- ❖ El BCRD y la combinación de BCRD+BFAI fueron las alteraciones ECGs con mayor valor predictivo positivo (>80%), indicando que para un paciente proveniente de una zona endémica de ECh con un BCRD o BCRD+BFAI la probabilidad de ser positivo para *T. cruzi* es del 80.77% (IC del 95% 78.17 a 83.13%) y 83.08% (IC del 95% 77.36 a 87.59%), respectivamente.

- ❖ Las alteraciones ECGs específicas como BRD asociado con BFAI, bloqueo A-V de primer grado, fibrilación/flutter auricular y EV, deberían alertar a los clínicos que encuentren pacientes originarios de regiones endémicas de Chagas, asintomáticos o con insuficiencia cardíaca o cardiomiopatía de etiología desconocida, para que consideren obtener pruebas serológicas que descarten o confirmen la infección por *T. cruzi*.

- ❖ El SLG, la velocidad del flujo mitral E, el índice de masa del VI, las concentraciones de NT-proBNP y la Hs-cTnT podrían ser variables diagnósticas útiles para identificar el inicio temprano del compromiso miocárdico en pacientes seropositivos para la ECh (distinguir la forma indeterminada de la afectación cardíaca). Sin embargo, estos hallazgos requieren ser confirmados en futuros estudios longitudinales.



9. BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Bonney KM. Chagas disease in the 21st century: a public health success or an emerging threat? *Parasite*. 2014;21:11.
2. Bestetti RB, Restini CB, Couto LB. Carlos Chagas Discoveries as a Drop Back to Scientific Construction of Chronic Chagas Heart Disease. *Arq Bras Cardiol*. 2016;107(1):63-70.
3. Benziger CP, do Carmo GAL, Ribeiro ALP. Chagas Cardiomyopathy: Clinical Presentation and Management in the Americas. *Cardiol Clin*. 2017;35(1):31-47.
4. Dias JC. Evolution of Chagas disease screening programs and control programs: historical perspective. *Glob Heart*. 2015;10(3):193-202.
5. Sousa GR, Costa HS, Souza AC, Nunes MC, Lima MM, Rocha MO. Health-related quality of life in patients with Chagas disease: a review of the evidence. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015;48(2):121-8.
6. Tanowitz HB, Machado FS, Spray DC, Friedman JM, Weiss OS, Lora JN, et al. Developments in the management of Chagas cardiomyopathy. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2015;13(12):1393-409.
7. Rocha MO, Teixeira MM, Ribeiro AL. An update on the management of Chagas cardiomyopathy. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2007;5(4):727-43.
8. Ribeiro AL, Nunes MP, Teixeira MM, Rocha MO. Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. *Nat Rev Cardiol*. 2012;9(10):576-89.
9. Nunes M, Beaton A, Acquatella H, Bern C, Bolger A, Echeverría L, et al. Chagas cardiomyopathy: an update of current clinical knowledge and management: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2018;0:CIR.0000000000000599.
10. Rassi A, Jr., Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet*. 2010;375(9723):1388-402.
11. Organization. WH. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. *Wkly Epidemiol Rec*. 2015;90(6):33-43.
12. Bern C. Chagas' Disease. *N Engl J Med*. 2015;373(5):456-66.
13. Perez-Molina JA, Molina I. Chagas disease. *Lancet*. 2018;391(10115):82-94.
14. Nunes MC, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL, Council on Chagas Disease of the Interamerican Society of C. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(9):767-76.

15. Requena-Mendez A, Aldasoro E, de Lazzari E, Sicuri E, Brown M, Moore DA, et al. Prevalence of Chagas disease in Latin-American migrants living in Europe: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(2):e0003540.
16. Ciapponi A, Alcaraz A, Calderon M, Matta MG, Chaparro M, Soto N, et al. Burden of Heart Failure in Latin America: A Systematic Review and Meta-analysis. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2016;69(11):1051-60.
17. Biolo A, Ribeiro AL, Clausell N. Chagas cardiomyopathy--where do we stand after a hundred years? *Progress in cardiovascular diseases*. 2010;52(4):300-16.
18. Lidani KCF, Bavia L, Ambrosio AR, de Messias-Reason IJ. The Complement System: A Prey of *Trypanosoma cruzi*. *Frontiers in microbiology*. 2017;8:607.
19. Groom ZC, Protopapas AD, Zochios V. Tropical diseases of the myocardium: a review. *Int J Gen Med*. 2017;10:101-11.
20. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis*. 2001;1(2):92-100.
21. Howard EJ, Xiong X, Carlier Y, Sosa-Estani S, Buekens P. Frequency of the congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: a systematic review and meta-analysis. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2014;121(1):22-33.
22. Filigheddu MT, Gorgolas M, Ramos JM. Orally-transmitted Chagas disease. *Medicina clinica*. 2017;148(3):125-31.
23. Bonney KM, Engman DM. Autoimmune pathogenesis of Chagas heart disease: looking back, looking ahead. *Am J Pathol*. 2015;185(6):1537-47.
24. Bocchi EA, Bestetti RB, Scanavacca MI, Cunha Neto E, Issa VS. Chronic Chagas Heart Disease Management: From Etiology to Cardiomyopathy Treatment. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(12):1510-24.
25. Rassi A, Jr., Rassi A, Rassi SG. Predictors of mortality in chronic Chagas disease: a systematic review of observational studies. *Circulation*. 2007;115(9):1101-8.
26. Nunes MCP, Badano LP, Marin-Neto JA, Edvardsen T, Fernandez-Golfín C, Bucciarelli-Ducci C, et al. Multimodality imaging evaluation of Chagas disease: an expert consensus of Brazilian Cardiovascular Imaging Department (DIC) and the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI). *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2017.
27. Malik LH, Singh GD, Amsterdam EA. The Epidemiology, Clinical Manifestations, and Management of Chagas Heart Disease. *Clin Cardiol*. 2015;38(9):565-9.

28. Bestetti RB. Chagas Heart Failure in Patients from Latin America. *Card Fail Rev.* 2016;2(2):90-4.
29. Morillo CA, Marin-Neto JA, Avezum A, Sosa-Estani S, Rassi A, Jr., Rosas F, et al. Randomized Trial of Benznidazole for Chronic Chagas' Cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 2015;373(14):1295-306.
30. Andrade JP, Marin Neto JA, Paola AA, Vilas-Boas F, Oliveira GM, Bacal F, et al. I Latin American Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas' heart disease: executive summary. *Arq Bras Cardiol.* 2011;96(6):434-42.
31. Barbosa MM, Nunes MC. Risk stratification in Chagas disease. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2012;65 Suppl 2:17-21.
32. Viotti R, Vigliano C, Lococo B, Petti M, Bertocchi G, Alvarez MG, et al. Clinical predictors of chronic chagasic myocarditis progression. *Rev Esp Cardiol.* 2005;58(9):1037-44.
33. Nunes MC, Carmo AA, Rocha MO, Ribeiro AL. Mortality prediction in Chagas heart disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2012;10(9):1173-84.
34. Cucunuba ZM, Okuwoga O, Basanez MG, Nouvellet P. Increased mortality attributed to Chagas disease: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors.* 2016;9:42.
35. Kuschnir E, Sgammini H, Castro R, Evequoz C, Ledesma R, Brunetto J. Evaluation of cardiac function by radioisotopic angiography, in patients with chronic Chagas cardiopathy. *Arq Bras Cardiol.* 1985;45(4):249-56.
36. Ministerio da Saude. Secretaria de Vigilancia em S. Brazilian Consensus on Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38 Suppl 3:7-29.
37. Dias JC, Ramos AN, Jr., Gontijo ED, Luquetti A, Shikanai-Yasuda MA, Coura JR, et al. 2 nd Brazilian Consensus on Chagas Disease, 2015. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2016;49Suppl 1(Suppl 1):3-60.
38. Carrasco HA, Barboza JS, Inglessis G, Fuenmayor A, Molina C. Left ventricular cineangiography in Chagas' disease: detection of early myocardial damage. *Am Heart J.* 1982;104(3):595-602.
39. Hunt SA, American College of C, American Heart Association Task Force on Practice G. ACC/AHA 2005 guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure). *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(6):e1-82.
40. Okamoto EE, Sherbuk JE, Clark EH, Marks MA, Gandarilla O, Galdos-Cardenas G, et al. Biomarkers in *Trypanosoma cruzi*-infected and uninfected individuals with varying severity of cardiomyopathy in Santa Cruz, Bolivia. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(10):e3227.

41. Acquatella H, Asch FM, Barbosa MM, Barros M, Bern C, Cavalcante JL, et al. Recommendations for Multimodality Cardiac Imaging in Patients with Chagas Disease: A Report from the American Society of Echocardiography in Collaboration With the InterAmerican Association of Echocardiography (ECOSIAC) and the Cardiovascular Imaging Department of the Brazilian Society of Cardiology (DIC-SBC). *J Am Soc Echocardiogr*. 2018;31(1):3-25.
42. Bern C, Montgomery SP, Herwaldt BL, Rassi A, Jr., Marin-Neto JA, Dantas RO, et al. Evaluation and treatment of chagas disease in the United States: a systematic review. *JAMA*. 2007;298(18):2171-81.
43. Rassi A, Jr., Rassi A, Little WC, Xavier SS, Rassi SG, Rassi AG, et al. Development and validation of a risk score for predicting death in Chagas' heart disease. *N Engl J Med*. 2006;355(8):799-808.
44. Ribeiro AL, Rocha MO, Terranova P, Cesarano M, Nunes MD, Lombardi F. T-wave amplitude variability and the risk of death in Chagas disease. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2011;22(7):799-805.
45. Costa SA, Rassi S, Freitas E, Gutierrez NDS, Boaventura FM, Sampaio L, et al. Prognostic Factors in Severe Chagasic Heart Failure. *Arq Bras Cardiol*. 2017;108(3):246-54.
46. Goldsmith RS, Zarate RJ, Zarate LG, Kagan I, Jacobson LB. Clinical and epidemiologic studies of Chagas' disease in rural communities in Oaxaca State, Mexico, and a seven-year follow-up: I. Cerro del Aire. *Bull Pan Am Health Organ*. 1985;19(2):120-38.
47. Kawabata M, Uchiyama T, Mimori T, Hashiguchi Y, de Coronel VV. Association of electrocardiographic abnormalities with seropositivity to *Trypanosoma cruzi* in Ecuador. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1987;81(1):7-10.
48. Dias JC. The clinical, social and occupational aspects of Chagas disease in an endemic area under the control of the state of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1993;26(2):93-9.
49. Rivera T, Palma-Guzman R, Morales W. Seroepidemiological and clinical study of Chagas' disease in Nicaragua. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1995;37(3):207-13.
50. Williams-Blangero S, Magalhaes T, Rainwater E, Blangero J, Corrêa-Oliveira R, VandeBerg JL. Electrocardiographic characteristics in a population with high rates of seropositivity for *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77(3):495-9.
51. Silva EM, Rocha MO, Silva RC, Paixao Gdo C, Buzzati H, Santos AN, et al. Clinic and epidemiological study on Chagas disease in the Serra Azul district of Mateus Leme, central-western region of the State of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010;43(2):178-81.

52. Ribeiro AL, Sabino EC, Marcolino MS, Salemi VM, Ianni BM, Fernandes F, et al. Electrocardiographic abnormalities in *Trypanosoma cruzi* seropositive and seronegative former blood donors. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(2):e2078.
53. Maguire JH, Mott KE, Hoff R, Guimaraes A, Franca JT, Almeida de Souza JA, et al. A three-year follow-up study of infection with *Trypanosoma cruzi* and electrocardiographic abnormalities in a rural community in northeast Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 1982;31(1):42-7.
54. Gontijo ED, Rocha MO, Torquato de Oliveira U. Clinico-epidemiologic profile of Chagas disease patients attending an ambulatory referral center and proposal of a model of care for the Chagas patient under the perspective of a comprehensive health care. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1996;29(2):101-8.
55. Coura JR, Junqueira AC, Boia MN, Fernandes O, Bonfante C, Campos JE, et al. Chagas disease in the Brazilian Amazon: IV. a new cross-sectional study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2002;44(3):159-65.
56. Molina-Garza ZJ, Rosales-Encina JL, Mercado-Hernandez R, Molina-Garza DP, Gomez-Flores R, Galaviz-Silva L. Association of *Trypanosoma cruzi* infection with risk factors and electrocardiographic abnormalities in northeast Mexico. *BMC Infect Dis*. 2014;14:117.
57. Traina M, Meymandi S, Bradfield JS. Heart Failure Secondary to Chagas Disease: an Emerging Problem in Non-endemic Areas. *Curr Heart Fail Rep*. 2016;13(6):295-301.
58. Traina MI, Hernandez S, Sanchez DR, Dufani J, Salih M, Abuhamidah AM, et al. Prevalence of Chagas Disease in a U.S. Population of Latin American Immigrants with Conduction Abnormalities on Electrocardiogram. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(1):e0005244.
59. Ribeiro AL, Cavalvanti PS, Lombardi F, Nunes Mdo C, Barros MV, Rocha MO. Prognostic value of signal-averaged electrocardiogram in Chagas disease. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2008;19(5):502-9.
60. Lescure FX, Le Loup G, Freilij H, Develoux M, Paris L, Brutus L, et al. Chagas disease: changes in knowledge and management. *Lancet Infect Dis*. 2010;10(8):556-70.
61. Moreira HT, Volpe GJ, Marin-Neto JA, Ambale-Venkatesh B, Nwabuo CC, Trad HS, et al. Evaluation of Right Ventricular Systolic Function in Chagas Disease Using Cardiac Magnetic Resonance Imaging. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2017;10(3).
62. Shen L, Ramires F, Martinez F, Bodanese LC, Echeverria LE, Gomez EA, et al. Contemporary Characteristics and Outcomes in Chagasic Heart Failure Compared With Other Nonischemic and Ischemic Cardiomyopathy. *Circ Heart Fail*. 2017;10(11).
63. Moreira HT, Volpe GJ, Marin-Neto JA, Nwabuo CC, Ambale-Venkatesh B, Gali LG, et al. Right Ventricular Systolic Dysfunction in Chagas Disease Defined by Speckle-Tracking Echocardiography: A

Comparative Study with Cardiac Magnetic Resonance Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2017;30(5):493-502.

64. Cardinalli-Neto A, Greco OT, Bestetti RB. Automatic implantable cardioverter-defibrillators in Chagas' heart disease patients with malignant ventricular arrhythmias. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2006;29(5):467-70.

65. Acquatella H. Echocardiography in Chagas heart disease. *Circulation.* 2007;115(9):1124-31.

66. Dieplinger B, Mueller T. Soluble ST2 in heart failure. *Clin Chim Acta.* 2015;443:57-70.

67. Stoltze Gaborit F, Bosselmann H, Kistorp C, Iversen K, Kumler T, Gustafsson F, et al. Galectin 3: association to neurohumoral activity, echocardiographic parameters and renal function in outpatients with heart failure. *BMC Cardiovasc Disord.* 2016;16:117.

68. Suzuki M, Yamamoto K, Watanabe S, Iwata T, Hamada M, Hiwada K. Association between elevated brain natriuretic peptide levels and the development of left ventricular hypertrophy in patients with hypertension. *Am J Med.* 2000;108(8):627-33.

69. Thygesen K, Mair J, Katus H, Plebani M, Venge P, Collinson P, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J.* 2010;31(18):2197-204.

70. Ohman EM, Armstrong PW, Christenson RH, Granger CB, Katus HA, Hamm CW, et al. Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial ischemia. GUSTO IIA Investigators. *N Engl J Med.* 1996;335(18):1333-41.

71. Setsuta K, Seino Y, Takahashi N, Ogawa T, Sasaki K, Harada A, et al. Clinical significance of elevated levels of cardiac troponin T in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol.* 1999;84(5):608-11, A9.

72. Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, Olkin I, Williamson GD, Rennie D, et al. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group. *JAMA.* 2000;283(15):2008-12.

73. Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol.* 2010;25(9):603-5.

74. DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials.* 1986;7(3):177-88.

75. Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ.* 2003;327(7414):557-60.

76. Thompson SG, Sharp SJ. Explaining heterogeneity in meta-analysis: a comparison of methods. *Stat Med.* 1999;18(20):2693-708.

77. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ*. 1997;315(7109):629-34.
78. Echeverria LE, Rojas LZ, Calvo LS, Roa ZM, Rueda-Ochoa OL, Morillo CA, et al. Profiles of cardiovascular biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy. *Int J Cardiol*. 2017;227:577-82.
79. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, et al. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 2010;23(7):685-713; quiz 86-8.
80. Parada H, Carrasco HA, Anez N, Fuenmayor C, Inglessis I. Cardiac involvement is a constant finding in acute Chagas' disease: a clinical, parasitological and histopathological study. *Int J Cardiol*. 1997;60(1):49-54.
81. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, Byrd BF, 3rd, Dokainish H, Edvardsen T, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2016;17(12):1321-60.
82. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, Byrd BF, 3rd, Dokainish H, Edvardsen T, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr*. 2016;29(4):277-314.
83. Flachskampf FA, Biering-Sorensen T, Solomon SD, Duvernoy O, Bjerner T, Smiseth OA. Cardiac Imaging to Evaluate Left Ventricular Diastolic Function. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2015;8(9):1071-93.
84. Hu K, Liu D, Herrmann S, Niemann M, Gaudron PD, Voelker W, et al. Clinical implication of mitral annular plane systolic excursion for patients with cardiovascular disease. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2013;14(3):205-12.
85. Pushong E, Lopez F, Pellegrini C, Gracia J. Epidemiological investigation of the prevalence of Chagas Disease. *Bol Oficina Sanit Panam*. 1964;56:357-67.
86. Giraldo Correa LE, Bernal Tirado J, Corredor Arjona A. Comparative study of the electrocardiographic changes in 2 regions with different incidences of chagasic infections. *Rev Fac Med Univ Nac Colomb*. 1965;33(3):115-25.

87. Puigbo JJ, Rhode JR, Barrios HG, Suarez JA, Yopez CG. Clinical and epidemiological study of chronic heart involvement in Chagas' disease. *Bull World Health Organ.* 1966;34(5):655-69.
88. Maguire JH, Mott KE, Lehman JS. Relationship of electrocardiographic abnormalities and seropositivity to *Trypanosoma cruzi* within a rural community in Northeast Brazil. *Am Heart J.* 1983;105(2):287-94.
89. Baruffa Giovanni, Alcantara Filho Alcino, JO AN. Correlação sorológica eletrocardiográfica para a doença de Chagas em populações rurais não selecionadas do Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1983;16(3):130-8.
90. Pereira J, Coura J. Morbidade da doença de Chagas: estudo seccional em uma área endêmica, Virgem da Lapa, Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1986;19(3):139-48.
91. Pereira J, Coura J. Morbidade da doença de Chagas em populações urbanas do sertão da Paraíba. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1987;20(2):101-7.
92. Acquatella H, Cataliotti F, Gomez-Mancebo JR. Long-term control of Chagas disease in Venezuela: Effects on serologic findings, electrocardiographic abnormalities, and clinical outcome. *Circulation.* 1987;76(3):556-62.
93. Weinke T, Ueberreiter K, Alexander M. Cardiac morbidity due to Chagas' disease in a rural community in Bolivia. *Epidemiol Infect.* 1988;101(3):655-60.
94. Wisnivesky-Colli C, Ruiz AM, Gurtler RE, Solarz ND, Lazzari J, Ledesma O, et al. Dynamics of transmission of *Trypanosoma cruzi* in a rural area of Argentina. IV. Serologic, parasitologic and electrocardiographic study of the human population. *Medicina (B Aires).* 1989;49(4):341-50.
95. Arribada A, Apt W, Aguilera X, Solari A, Arribada A, Sandoval J. Chagas cardiopathy in the first region of Chile. Clinical, epidemiologic, and parasitologic study. *Rev Med Chil.* 1990;118(8):846-54.
96. Zicker F, Caetano de Almeida Netto J, Zicker EMS, Oliveira RM, Smith PG. *Trypanosoma cruzi* infection and electrocardiographic findings among active manual workers. A population-based study in central Brazil. *Int J Epidemiol.* 1990;19(1):182-6.
97. Pless M, Juranek D, Kozarsky P, Steurer F, Tapia G, Bermudez H. The epidemiology of Chagas' disease in a hyperendemic area of Cochabamba, Bolivia: A clinical study including electrocardiography, seroreactivity to *Trypanosoma cruzi*, xenodiagnosis, and domiciliary triatomine distribution. *Am J Trop Med Hyg.* 1992;47(5):539-46.

98. Goldsmith RS, Zarate RJ, Zarate LG, Morales G, Kagan I, Drickey R, et al. Clinical and epidemiologic studies of Chagas' disease in rural communities of Oaxaca, Mexico, and an eight-year followup: II. Chila. *Bull Pan Am Health Organ.* 1992;26(1):47-59.
99. Morini JC, Berra H, Dávila HO, Pividori JF, Bottasso OA. Electrocardiographic alteration among first degree relatives with serologic evidence of *Trypanosoma cruzi* infection. A sibship study. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1994;89(3):371-5.
100. Gianella A, von Poser B, Zamora P. Chagas' infection in university students of Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. A serologic-electrocardiographic study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1994;36(6):515-8.
101. Aguilera Martín X, Arribada Contreras A, Apt Baruch W, Zulantay Alfaro I, Rodríguez T J. Detección de cardiopatía en escolares chagásicos y no chagásicoa de Combarbalá, IV región, Chile. *Rev Chil Pediatr.* 1996;67(3):104-8.
102. Bar ME, Pozzer DL, Alvarez BM, Vallejos JA, Storino RA. Clinical cross-sectional and epidemiologic study of Chagas disease in a rural area of the Argentinian northeast. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1998;31(2):199-206.
103. De Andrade ALSS, Zicker F, Rassi A, Rassi AG, Oliveira RM, Silva SA, et al. Early electrocardiographic abnormalities in *Trypanosoma cruzi*- seropositive children. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;59(4):530-4.
104. Madoery RJ, Lúquez H, De Loredo L, Reyes ME, De Roiter H, Lombardelli S, et al. Enfermedad de Chagas: indicador serológico y electrocardiografía convencional en un área urbana de región endémica (Deán Funes, Córdoba, Argentina). *Rev Argent Cardiol.* 1998;66(4):413-22.
105. Rangel-Flores H, Sánchez B, Mendoza-Duarte J, Barnabé C, Brenière FS, Ramos C, et al. Serologic and parasitologic demonstration of *Trypanosoma cruzi* infections in an urban area of central Mexico: Correlation with electrocardiographic alterations. *Am J Trop Med Hyg.* 2001;65(6):887-95.
106. Borges-Pereira J, Zauza PL, Galhardo MC, Nogueira J, Pereira GR, Cunha RV. Chagas' disease in a urban population of the health district of Rio Verde, Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001;34(5):459-66.
107. Borges-Pereira J, De Castro JAF, Furtado Campos JH, De Souza Nogueira J, Lago Zauza P, Marques P, et al. Study of the infection and morbidity of Chagas' disease in municipality of Jaão Costa - National Park Serra da Capivara, Piauí, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002;35(4):315-22.

108. Brenière SF, Bosseno MF, Noireau F, Yacsik N, Liegeard P, Aznar C, et al. Integrate study of a Bolivian population infected by *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(3):289-95.
109. Rosas F, Guhl F, Velasco V, Jumbo L, Jaramillo C, Rodriguez D, et al. Morbilidad de la enfermedad de Chagas en fase crónica en Colombia. Detección de pacesintes chagásicos con cardiopatía en un área endémica del departamento de Boyacá. *Rev Col Cardiol*. 2002;9(5):349-59.
110. Sosa-Jurado F, Mazariego-Aranda M, Hernández-Becerril N, Garza- Murillo V, Cárdenas M, Reyes PA, et al. Electrocardiographic findings in Mexican chagasic subjects living in high and low endemic regions of *Trypanosoma cruzi* infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003;98(5):605-10.
111. Goldbaum M, Ajimura FY, Litvoc J, De Carvalho SA, Eluf-Neto J. American trypanosomiasis and electrocardiographic alterations among industrial workers in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2004;46(6):299-302.
112. Chávez AM, Villar JC, Herrera M, Martínez LX, Cardona SR, Casadiego G. Electrocardiographic study in subjects with positive and negative serology for *Tripanosoma Cruzi*. *Rev Col Cardiol*. 2004;11(5):246-50.
113. Becerril-Flores MA, Rangel-Flores E, Imbert-Palafox JL, Gómez-Gómez JV, Figueroa-Gutiérrez AH. Human infection and risk of transmission of Chagas disease in Hidalgo State, Mexico. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;76(2):318-23.
114. Sánchez Sánchez Y, Córdova Benzaquen E, Vásquez Huerta L, Bocangel Bravo C, Velásquez Talavera R, Delgado Díaz F, et al. Estudio comparativo de alteraciones electrocardiográficas, frecuencia cardiaca y presión arterial entre seropositivos y seronegativos para *Trypanosoma cruzi* en el valle de Vitor, Arequipa-Perú. *Acta Méd Peru*. 2007;24(2):6-10.
115. Medrano-Mercado N, Ugarte-Fernandez R, Butrón V, Uber-Busek S, Guerra H, Araújo-Jorge T, et al. Urban transmission of Chagas disease in Cochabamba, Bolivia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008;103(5):423-30.
116. Borges-Pereira J, Sarquis O, Zauza PL, Britto C, Lima MM. Epidemiology of Chagas disease in four rural localities in Jaguaruana, State of Ceará. Seroprevalence of infection, parasitemia and clinical characteristics. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008;41(4):345-51.
117. Da Silva EM, Rocha MOC, Silva RC, Paixão GC, Buzzati H, Santos AN, et al. Clinic and epidemiological study on Chagas disease in the Serra Azul district of Mateus Leme, central-western region of the State of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010;43(2):178-81.

118. Brum-Soares LM, Xavier SS, Silvestre de Sousa A, Borges-Pereira J, Marcos Bemfica Barbosa Ferreira J, Costa IR, et al. Morbidity of Chagas disease among autochthonous patients from the Rio Negro microregion, State of Amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(2):170-7.
119. Moretti E, Castro I, Franceschi C, Basso B. Chagas disease: Serological and electrocardiographic studies in Wichí and Creole communities of Misión Nueva Pompeya, Chaco, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2010;105(5):621-6.
120. Ferreira Gonçalves J, Prata A, Dias JCP, Macêdo V. O inquérito eletrocardiográfico. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011;44(SUPPL. 2):40-6.
121. Monteon V, Alducin C, Hernandez J, Ramos-Ligonio A, Lopez R. High frequency of human blood in *Triatoma dimidiata* captured inside dwellings in a rural community in the Yucatan Peninsula, Mexico, but low antibody seroprevalence and electrocardiographic findings compatible with Chagas disease in humans. *Am J Trop Med Hyg.* 2013;88(3):566-71.
122. Ribeiro AL, Marcolino MS, Prineas RJ, Lima-Costa MF. Electrocardiographic abnormalities in elderly Chagas disease patients: 10-year follow-up of the Bambuí Cohort Study of Aging. *J Am Heart Assoc.* 2014;3(1):e000632.
123. Yager JE, Lozano Beltran DF, Torrico F, Gilman RH, Bern C. Prevalence of Chagas Heart Disease in a Region Endemic for *Trypanosoma cruzi* Evidence from a Central Bolivian Community. *Glob Heart.* 2015;10(3):145-50.
124. Aloy KA, Huang C, Gilman RH, Quispe-Machaca VR, Marks MA, Ancca-Juarez J, et al. Prevalence and Transmission of *Trypanosoma cruzi* in People of Rural Communities of the High Jungle of Northern Peru. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9(5).
125. Gonzalez-Alcaide G, Salinas A, Ramos JM. Scientometrics analysis of research activity and collaboration patterns in Chagas cardiomyopathy. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018;12(6):e0006602.
126. Cardoso R, Garcia D, Fernandes G, He LI, Lichtenberger P, Viles-Gonzalez J, et al. The Prevalence of Atrial Fibrillation and Conduction Abnormalities in Chagas' Disease: A Meta-Analysis. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2016;27(2):161-9.
127. Salazar-Schettino P, Cabrera-Bravo M, Vazquez-Antona C, Zenteno E, Alba-Alvarado M, Gutierrez E, et al. Chagas Disease in Mexico: Report of 14 Cases of Chagasic Cardiomyopathy in Children *Tohoku J Exp Med.* 2016;240(3):243-9.
128. Correa de Araujo R, Bestetti RB, Godoy RA, Oliveira JS. Chronic Chagas' heart disease in children and adolescents: a clinicopathologic study. *Int J Cardiol.* 1985;9(4):439-55.

129. Bonney KM, Engman DM. Chagas heart disease pathogenesis: one mechanism or many? *Curr Mol Med*. 2008;8(6):510-8.
130. Simoes-Barbosa A, Arganaraz ER, Barros AM, Rosa Ade C, Alves NP, Louvandini P, et al. Hitchhiking *Trypanosoma cruzi* minicircle DNA affects gene expression in human host cells via LINE-1 retrotransposon. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006;101(8):833-43.
131. Muka T, Koromani F, Portilla E, O'Connor A, Bramer WM, Troup J, et al. The role of epigenetic modifications in cardiovascular disease: A systematic review. *Int J Cardiol*. 2016;212:174-83.
132. Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simoes MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation*. 2007;115(9):1109-23.
133. Davila DF, Rossell O, de Bellabarba GA. Pathogenesis of chronic chagas heart disease: parasite persistence and autoimmune responses versus cardiac remodelling and neurohormonal activation. *Int J Parasitol*. 2002;32(1):107-9.
134. Cossio PM, Diez C, Szarfman A, Kreutzer E, Candiolo B, Arana RM. Chagasic cardiopathy. Demonstration of a serum gamma globulin factor which reacts with endocardium and vascular structures. *Circulation*. 1974;49(1):13-21.
135. Schmunis GA, Cossio PM, Szarfman A, Coarasa L, Arana RM. Tissue-reacting antibodies (EVI antibodies) in nifurtimox-treated patients with Chagas's disease. *J Infect Dis*. 1978;138(3):401-4.
136. Rochitte CE, Oliveira PF, Andrade JM, Ianni BM, Parga JR, Avila LF, et al. Myocardial delayed enhancement by magnetic resonance imaging in patients with Chagas' disease: a marker of disease severity. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(8):1553-8.
137. Rossi MA, Tanowitz HB, Malvestio LM, Celes MR, Campos EC, Blefari V, et al. Coronary microvascular disease in chronic Chagas cardiomyopathy including an overview on history, pathology, and other proposed pathogenic mechanisms. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4(8).
138. Simoes MV, Pintya AO, Bromberg-Marin G, Sarabanda AV, Antloga CM, Pazin-Filho A, et al. Relation of regional sympathetic denervation and myocardial perfusion disturbance to wall motion impairment in Chagas' cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2000;86(9):975-81.
139. Garcia-Alvarez A, Sitges M, Regueiro A, Poyatos S, Jesus Pinazo M, Posada E, et al. Myocardial deformation analysis in Chagas heart disease with the use of speckle tracking echocardiography. *J Card Fail*. 2011;17(12):1028-34.

140. Tassi EM, Continentino MA, Nascimento EM, Pereira Bde B, Pedrosa RC. Relationship between fibrosis and ventricular arrhythmias in Chagas heart disease without ventricular dysfunction. *Arq Bras Cardiol.* 2014;102(5):456-64.
141. Pazin-Filho A, Romano MM, Almeida-Filho OC, Furuta MS, Viviani LF, Schmidt A, et al. Minor segmental wall motion abnormalities detected in patients with Chagas' disease have adverse prognostic implications. *Braz J Med Biol Res.* 2006;39(4):483-7.
142. Terzi FV, Siqueira Filho AG, Nascimento EM, Pereira Bde B, Pedrosa RC. Regional left ventricular dysfunction and its association with complex ventricular arrhythmia, in chagasic patients with normal or borderline electrocardiogram. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(5):557-61.
143. Taleb MM. An Infrequent Cause of Apical Ventricular Aneurysm in the United States. *Heart Views.* 2017;18(2):54-7.
144. Barbosa MM, Costa Rocha MO, Vidigal DF, Bicalho Carneiro Rde C, Araujo RD, Palma MC, et al. Early detection of left ventricular contractility abnormalities by two-dimensional speckle tracking strain in Chagas' disease. *Echocardiography.* 2014;31(5):623-30.
145. Nascimento CA, Gomes VA, Silva SK, Santos CR, Chambela MC, Madeira FS, et al. Left atrial and left ventricular diastolic function in chronic Chagas disease. *J Am Soc Echocardiogr.* 2013;26(12):1424-33.
146. Lima MS, Voos MC, Mathias W, Jr., Tsutsui JM. Indeterminate form of Chagas disease: is left ventricular torsional mechanics a clue to subclinical myocardial abnormalities? *J Echocardiogr.* 2017;15(1):6-12.
147. Cianciulli TF, Lax JA, Saccheri MC, Papantoniou A, Morita LA, Prado NG, et al. Early detection of left ventricular diastolic dysfunction in Chagas' disease. *Cardiovasc Ultrasound.* 2006;4:18.
148. Barros MV, Machado FS, Ribeiro AL, Rocha MO. Diastolic function in Chagas' disease: an echo and tissue Doppler imaging study. *Eur J Echocardiogr.* 2004;5(3):182-8.
149. Garcia-Alvarez A, Sitges M, Pinazo MJ, Regueiro-Cueva A, Posada E, Poyatos S, et al. Chagas cardiomyopathy: the potential of diastolic dysfunction and brain natriuretic peptide in the early identification of cardiac damage. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4(9):e826.
150. Pazin-Filho A, Romano MM, Gomes Furtado R, de Almeida Filho OC, Schmidt A, Marin-Neto JA, et al. Left ventricular global performance and diastolic function in indeterminate and cardiac forms of Chagas' disease. *J Am Soc Echocardiogr.* 2007;20(12):1338-43.
151. Nunes Mdo C, Barbosa Mde M, Brum VA, Rocha MO. Morphofunctional characteristics of the right ventricle in Chagas' dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2004;94(1):79-85.

152. Nunes Mdo C, Rocha MO, Ribeiro AL, Colosimo EA, Rezende RA, Carmo GA, et al. Right ventricular dysfunction is an independent predictor of survival in patients with dilated chronic Chagas' cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2008;127(3):372-9.
153. Yang F, Wang Q, Zhi G, Zhang L, Huang D, Shen D, et al. The application of lung ultrasound in acute decompensated heart failure in heart failure with preserved and reduced ejection fraction. *Echocardiography.* 2017;34(10):1462-9.
154. M FP. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice : The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts). *Int J Behav Med.* 2017;24(3):321-419.
155. Munoz Saravia SG, Haberland A, Bartel S, Araujo R, Valda G, Reynaga DD, et al. Combined measurement of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and highly sensitive cardiac troponin T for diagnosis and monitoring of heart injury in chronic Chagas' disease. *Clin Biochem.* 2013;46(15):1615-8.
156. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail.* 2016;18(8):891-975.
157. Nadir MA, Gandy S, Ireland S, MacDonald T, Dow E, Houston G, et al. An increased B-type natriuretic peptide in the absence of a cardiac abnormality identifies those whose left ventricular mass will increase over time. *JACC Heart Failure.* 2015;3(1):87-93.
158. Saravia SG, Haberland A, Bartel S, Araujo R, Valda G, Reynaga DD, et al. Cardiac troponin T measured with a highly sensitive assay for diagnosis and monitoring of heart injury in chronic Chagas disease. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135(2):243-8.
159. Villacorta H, Santos RA, Marroig MA, Pereira GP, Xavier AR, Kanaan S. Prognostic value of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with heart failure. *Rev Port Cardiol.* 2015;34(7-8):473-8.
160. Minana G, Rumiz E, Palau P, Valero E, Bodi V, Nunez E, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin and long-term mortality in patients with acute heart failure and normal renal function. *Int J Cardiol.* 2016;214:51-3.

161. Palazzuoli A, Ruocco G, Beltrami M, Franci B, Pellegrini M, Lucani B, et al. Admission plasma neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) predicts worsening renal function during hospitalization and post discharge outcome in patients with acute heart failure. *Acute Card Care*. 2014;16(3):93-101.
162. Cruz DN, Gaiao S, Maisel A, Ronco C, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of cardiovascular disease: a systematic review. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(9):1533-45.
163. Shlipak MG, Katz R, Fried LF, Jenny NS, Stehman-Breen C, Newman AB, et al. Cystatin-C and mortality in elderly persons with heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(2):268-71.
164. Lassus J, Harjola VP, Sund R, Siirila-Waris K, Melin J, Peuhkurinen K, et al. Prognostic value of cystatin C in acute heart failure in relation to other markers of renal function and NT-proBNP. *Eur Heart J*. 2007;28(15):1841-7.
165. Chen YS, Gi WT, Liao TY, Lee MT, Lee SH, Hsu WT, et al. Using the galectin-3 test to predict mortality in heart failure patients: a systematic review and meta-analysis. *Biomark Med*. 2016;10(3):329-42.
166. Neiderud CJ. How urbanization affects the epidemiology of emerging infectious diseases. *Infect Ecol Epidemiol*. 2015;5:27060.
167. Guerri-Guttenberg RA, Grana DR, Ambrosio G, Milei J. Chagas cardiomyopathy: Europe is not spared! *Eur Heart J*. 2008;29(21):2587-91.
168. Connors EE, Vinetz JM, Weeks JR, Brouwer KC. A global systematic review of Chagas disease prevalence among migrants. *Acta Trop*. 2016;156:68-78.



10. ANEXOS

Anexo 1. Artículo “Electrocardiographic abnormalities in Chagas disease in the general population: A systematic review and meta-analysis” y material suplementario.

Título: Electrocardiographic abnormalities in Chagas disease in the general population: A systematic review and meta-analysis

Autores: Lyda Z. Rojas, Marija Glisic, Laura Pletsch-Borba, Luis E. Echeverría, Wichor M. Bramer, Arjola Bano, Najada Stringa, Asija Zaciragic, Bledar Kraja, Eralda Asllanaj, Rajiv Chowdhury, Carlos A. Morillo, Oscar L. Rueda-Ochoa, Oscar H. Franco, Taulant Muka

Revista: PLOs Neglected Tropical Diseases. 2018; 12 (6): e0006567.

Factor de Impacto 2017-2018: 4.367, Q1

DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006567>

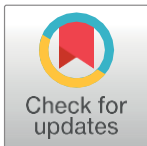
RESEARCH ARTICLE

Electrocardiographic abnormalities in Chagas disease in the general population: A systematic review and meta-analysis

Lyda Z. Rojas^{1,2,3*}, Marija Glisic², Laura Pletsch-Borba², Luis E. Echeverría^{3,4}, Wichor M. Bramer⁵, Arjola Bano², Najada Stringa², Asija Zaciragic², Bledar Kraja², Eralda Asllanaj², Rajiv Chowdhury⁶, Carlos A. Morillo^{7,8}, Oscar L. Rueda-Ochoa^{9,2}, Oscar H. Franco^{2,10}, Taulant Muka²

1 Department of Paediatrics, Obstetrics & Gynaecology and Preventative Medicine, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain, **2** Department of Epidemiology, Erasmus MC, University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, the Netherlands, **3** Grupo de Estudios Epidemiológicos y Salud Pública-FCV, Fundación Cardiovascular de Colombia, Floridablanca, Colombia, **4** Heart Failure and Heart Transplant Clinic, Fundación Cardiovascular de Colombia, Floridablanca, Colombia, **5** Medical Library, Erasmus MC, University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, the Netherlands, **6** Department of Public Health & Primary Care, Cardiovascular Epidemiology Unit, University of Cambridge, Cambridge, United Kingdom, **7** Department of Cardiac Sciences, Cumming School of Medicine, University of Calgary, Alberta, Canada, **8** Department of Medicine, Cardiology Division, McMaster University, PHRI-HHSC, Hamilton, Ontario, Canada, **9** Electrocardiography Research Group, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia, **10** Institute of Social and Preventive Medicine (ISPM), University of Bern, Bern, Switzerland

* l.rojassanchez@erasmusmc.nl, lydarojas@fcv.org



OPEN ACCESS

Citation: Rojas LZ, Glisic M, Pletsch-Borba L, Echeverría LE, Bramer WM, Bano A, et al. (2018) Electrocardiographic abnormalities in Chagas disease in the general population: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 12(6): e0006567. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006567>

Editor: Andrea Angheben, Sacro Cuore Hospital, ITALY

Received: February 27, 2018

Accepted: May 29, 2018

Published: June 13, 2018

Copyright: © 2018 Rojas et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: LZR and LEE are supported by the Colombian government through Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación-COLCIENCIAS (project code 656665740365, CT 648-2014); URL: <http://www.colciencias.gov.co/>. The funders had no role in

Abstract

Background

Chagas disease (CD) is a major public health concern in Latin America and a potentially serious emerging threat in non-endemic countries. Although the association between CD and cardiac abnormalities is widely reported, study design diversity, sample size and quality challenge the information, calling for its update and synthesis, which would be very useful and relevant for physicians in non-endemic countries where health care implications of CD are real and neglected. We performed to systematically review and meta-analyze population-based studies that compared prevalence of overall and specific ECG abnormalities between CD and non-CD participants in the general population.

Methods

Six databases (EMBASE, Ovid Medline, Web of Science, Cochrane Central, Google Scholar and Lilacs) were searched systematically. Observational studies were included. Odds ratios (OR) were computed using random-effects model.

Results

Forty-nine studies were selected, including 34,023 (12,276 CD and 21,747 non-CD). Prevalence of overall ECG abnormalities was higher in participants with CD (40.1%; 95% CIs=39.2-41.0) compared to non-CD (24.1%; 95% CIs=23.5-24.7) (OR=2.78; 95%

study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

CI=2.37-3.26). Among specific ECG abnormalities, prevalence of complete right bundle branch block (RBBB) (OR=4.60; 95%CI=2.97-7.11), left anterior fascicular block (LAFB) (OR=1.60; 95%CI=1.21-2.13), combination of complete RBBB/LAFB (OR=3.34; 95%CI=1.76-6.35), first-degree atrioventricular block (A-V B) (OR=1.71; 95%CI=1.25-2.33), atrial fibrillation (AF) or flutter (OR=2.11; 95%CI=1.40-3.19) and ventricular extrasystoles (VE) (OR=1.62; 95%CI=1.14-2.30) was higher in CD compared to non-CD participants.

Conclusions

This systematic review and meta-analysis provides an update and synthesis in this field. This research of observational studies indicates a significant excess in prevalence of ECG abnormalities (40.1%) related to *T. cruzi* infection in the general population from Chagas endemic regions, being the most common ventricular (RBBB and LAFB), and A-V B (first-degree) node conduction abnormalities as well as arrhythmias (AF or flutter and VE). Also, prevalence of ECG alterations in children was similar to that in adults and suggests earlier onset of cardiac disease.

Author summary

Chagas disease (CD) is a major public health concern in Latin America and a potentially serious emerging threat in non-endemic countries. Although the association between CD and cardiac abnormalities is widely reported, study design diversity, sample size and quality challenge the information, calling for its update and synthesis, which would be very useful and relevant for physicians in non-endemic countries where health care implications of CD are real and neglected. We systematically reviewed and meta-analyzed population-based studies that compared prevalence of ECG abnormalities between Chagas disease (CD) and non-CD participants. Forty-nine studies were selected, including 34,023 unique participants. Our meta-analysis of observational studies indicates CD presented almost a threefold increase prevalence of ECG abnormalities than non-CD participants in the general population from Chagas endemic regions, being the most common ventricular (RBBB and LAFB), and A-V B (first-degree) node conduction abnormalities as well as arrhythmias (AF or flutter and VE).

Introduction

Chagas disease (CD), is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*[1]. It affects individuals from more than 21 countries, being a major public health concern in Latin Americas and a potentially serious emerging threat to a number of non-endemic countries[2]. In Latin American countries, there are currently 8-10 million people having CD, with an additional 300,000 individuals in the United States and 45,000-67,000 in Europe[3-6].

Infection with *T. cruzi* has two phases: acute and chronic, separated by an indeterminate period, in which the patient is relatively asymptomatic[7, 8]. Chronically infected patients ultimately develop cardiomyopathy, which is the most important and severe manifestation of CD, and is characterized by left ventricular systolic dysfunction, wall motion abnormalities, brady and tachyarrhythmia, heart failure and sudden cardiac death[9-18]. CD alterations are classified in four stages A, B, C, and D. Stage A corresponds to asymptomatic patients with normal

ECG, whereas presence of electrocardiographic abnormalities implies progression towards stage B and deterioration of systolic function is observed in stages C/D, associated with heart failure symptoms. Of note, sudden cardiac death may occur at any moment, including early phases[10, 16].

The association between CD and cardiac abnormalities (stages B or more) is widely reported, however, the information is challenged by the diverse design, sample size and quality of the studies[19–24]. This information is largely based on outdated individual studies, and reports vary substantially among the population based studies making the scientific interpretation challenging[8, 20, 25–28]. Furthermore, it is known that the prevalence of different types of ECG abnormalities such as intraventricular conduction abnormalities, atrioventricular block, and arrhythmias, is higher in subjects with CD as compared to non-CD subjects, calling for its update and synthesis, which would be very useful and relevant for physicians in non-endemic countries where health care implications of CD are real and neglected[29]. Given the spread of CD, a need exists for an adequate, comprehensive assessment of CD in association with ECG abnormalities[6, 29, 30].

We conducted a systematic review and meta-analysis to (i) determine the overall prevalence of ECG abnormalities in seropositive and seronegative CD individuals in the general population; (ii) quantify the prevalence of subtypes of ECG abnormalities in this population; and (iii) characterize these estimates by age, sex and region of origin, and (iv) evaluate the discriminatory capacity of ECG abnormalities, both general and specific to classify patients as either CD or non-CD.

Methods

Data sources and search strategy

This review was conducted in accordance with MOOSE guideline[31] and, we followed the protocol strictly without deviation from it. An extensive literature search of articles published up to March 2017 was conducted with the assistance of a medical librarian in six electronic databases (EMBASE, Ovid Medline, Web of Science, Cochrane Central, Google Scholar and Lilacs) without any language restriction. Search combined terms related to CD (Chagas Disease, *Trypanosoma cruzi*), with terms related to seroepidemiology (Seroepidemiologic Studies, Seroprevalence, Seroepidemiology) (S1 Appendix). Reference lists of selected studies and reviews identified on the topic were searched to identify additional publications.

Study selection and eligibility criteria

Studies were eligible if they: (i) selected cases and controls from the general population (surveys and blood donors); (ii) were cross-sectional, case-control and cohort studies; (iii) reported CD status based on any techniques for the detection of antibodies; and (iv) reported the prevalence of ECG abnormalities in CD participants and non-CD participants, based on electrocardiographic diagnosis. To avoid overestimation of the effect estimates, we did not include studies using cases and controls from a clinical setting. Two independent reviewers screened the titles and abstracts of all initially identified studies according to the selection criteria. Full texts were retrieved from studies that fulfilled all selection criteria. Any disagreements were resolved through consensus or consultation with a third independent reviewer.

Data extraction

The data collection form included questions on qualitative aspects of the studies (such as author, date of publication, country, design, period, setting, area and sample size), participant

characteristics (such as age, sex and serological test of CD) and information on the reported exposure/outcome (such as measure definition of ECG abnormalities, number of patients seropositive/seronegative CD, number of patients with general and specific ECG abnormalities and confounders adjustment). For cohort studies, only the information from the baseline assessment was extracted.

Assessing the risk of bias

Study quality was assessed by two independent reviewers based on the nine-star Newcastle-Ottawa Scale (NOS) using three predefined domains, namely: selection of participants (population representativeness), comparability (adjustment for confounders) and ascertainment of outcomes of interests[32]. The NOS assigns a maximum of four or five points for selection, one or two points for comparability and three points for outcome, depending on study design (cross-sectional or cohort). We used the NOS scale adapted for cross-sectional studies and the NOS for case-control studies while for cohort studies we used the NOS for a cross-sectional design (S2 Appendix). Studies that received a score of nine to seven stars were judged to be at low risk of bias; studies that scored five or six stars were considered at medium risk, and those that scored four or less were considered at high risk of bias.

Statistical analysis

Narrative synthesis and construction of descriptive summary tables were performed for the studies included. For this meta-analysis, we used odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (CIs), to assess the association between presence of CD, and overall and specific ECG abnormalities. Also, we calculated the pooled prevalence (P) of ECG abnormalities for CD and non-CD participants. The inverse variance weighted method was used to combine summary measures using random-effects models to minimize the effect of between-study heterogeneity [33]. Heterogeneity was assessed using the Cochrane χ^2 statistic and the I^2 statistic and was categorized as low ($I^2 \leq 25\%$), moderate ($I^2 > 25\%$ and $< 75\%$), or high ($I^2 \geq 75\%$)[34]. Sensitivity analyses were performed to assess the influence of study-level characteristics including publication year, geographical location (according to the number of study in each country and by the prevalence of *Trypanosoma cruzi* genotype), design, area, number and age of participants, sex, definition of ECG abnormalities, test for CD diagnoses, level of adjustment and risk of bias, which were pre-specified as characteristics for assessment of heterogeneity and were evaluated using stratified analysis and random-effects meta-regression[35]. Publication bias was evaluated through funnel plots and Egger's regression symmetry tests[36]. All tests were 2-tailed; p -value ≤ 0.05 was considered statistically significant. Stata release 15 (StataCorp) was used for all analyses. Additionally, we evaluated the discriminatory capacity of ECG abnormalities, both general and specific: sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) to classify patients as either CD or non-CD.

Results

Study identification and selection

The database searches identified 5,396 citations. After screening the titles and abstracts, 252 articles were selected for detailed evaluation of full texts. Of these, 49 articles met our inclusion criteria and were included in the review (Fig 1, S3 Appendix and S1–S3 Tables).

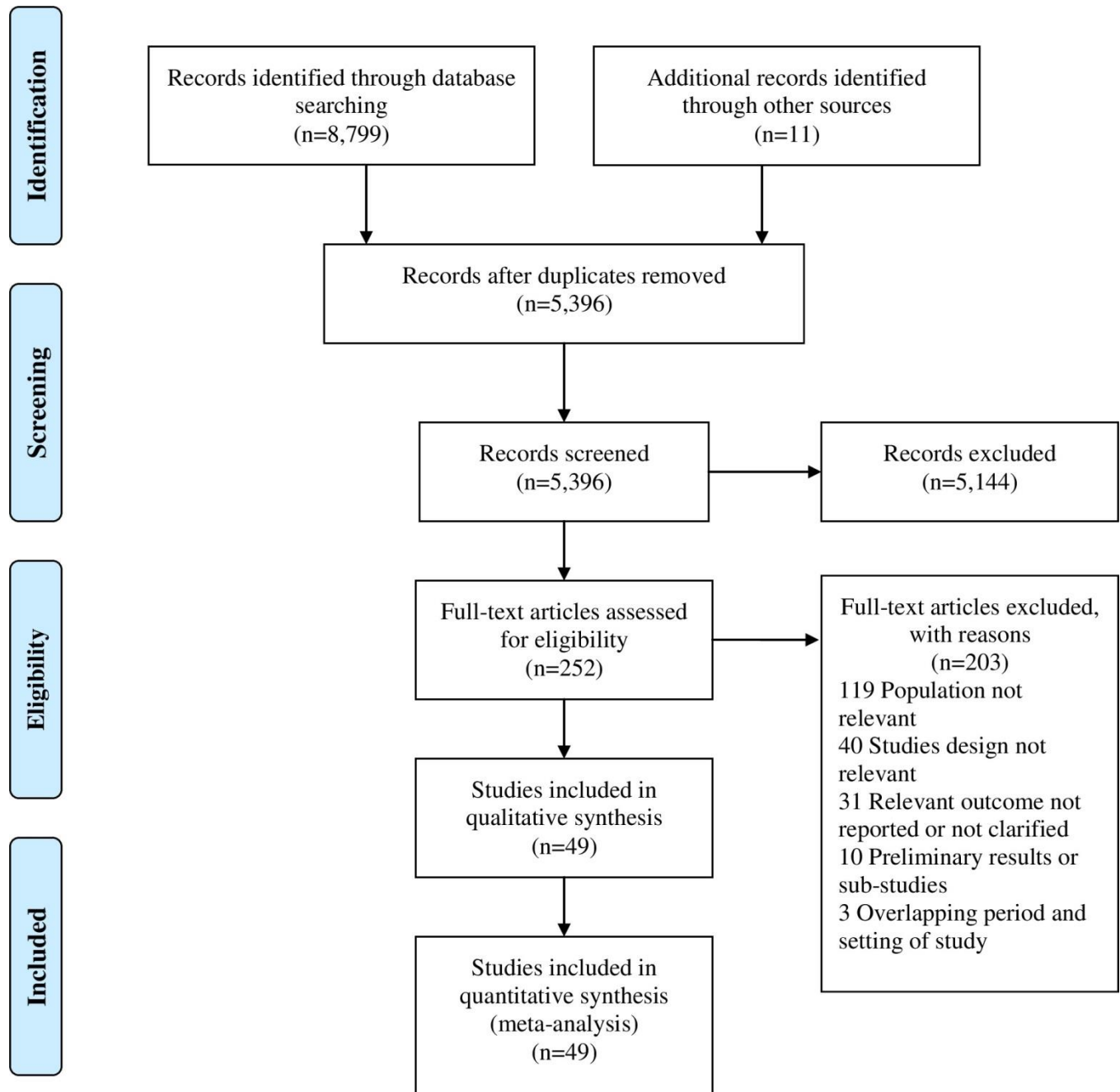


Fig 1. PRISMA flow diagram of selection process of eligible studies. From a total of 5,396 eligible studies, and 49 were included in meta-analysis.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006567.g001>

General characteristics of included studies

General characteristics of included studies are shown in [S1–S3 Tables](#) summarize the key characteristics of the included studies. Of 49 included studies, 43 were cross-sectional and 6 cohort population-based studies and were published between 1964 and 2015. Studies were based on data from 10 Latin America countries. The majority of studies was conducted in Brazil (38.7%), collected data between 2001 and 2010 (34.6%), and included participants from rural areas (44.9%). In aggregate, 34,023 participants (12,276 CD and 21,747 non-CD) were

included in this review. The age range of the participants was 0-97 years and 54.4% of participants were women (reported by 38 articles). The majority of studies (81.6%) used two or more different diagnostic tests for *T. cruzi* infection.

Overall and specific ECG abnormalities

In the meta-analysis of 34,023 participants and 12,276 CD participants, overall ECG abnormalities were significantly more prevalent in participants with CD (Prevalence (P)=40.1%; 95% CIs=39.2-41.0) compared to those without CD (P=24.1%; 95% CIs=23.5-24.7) (OR=2.78; 95% CIs=2.37-3.26) ([Fig 2](#) and [Table 1](#)).

Up to 30 studies (range 3 to 30), based on $3,451 \pm 1,350$ participants, examined prevalence of ventricular conduction defects in CD and non-CD participants ([Table 2](#)). In the pooled analysis, prevalence of complete right bundle branch block (RBBB) (OR=4.60; 95% CIs=2.97-7.11), left anterior fascicular block (LAFB) (OR=1.60; 95% CIs=1.21-2.13) and the combination of complete RBBB and LAFB (OR=3.34, 95% CIs=1.76-6.35) was higher in CD participants compared to non-CD participants ([Fig 3](#)), while no difference in prevalence of incomplete RBBB (OR=0.85; 95% CIs=0.63-1.16), incomplete left bundle branch block (LBBB) (OR=0.63; 95% CIs=0.39-1.01), complete LBBB (OR=0.99; 95% CIs=0.62-1.58) and left posterior fascicular block (LPFB) (OR=0.96, 95% CIs=0.35-2.62) was found between CD and non-CD individuals ([Table 2](#) and [S1-S7 Figs](#)). Prevalence of AV-B in CD and non-CD participants was examined by 21 studies (range 5 to 21), including $4,438 \pm 1,847$ participants. Pooled prevalence first degree AV-B (OR=1.71; 95% CIs=1.25-2.33) was higher in CD participants compared to non-CD ([Fig 3](#)), while no difference in prevalence of second-degree AV-B (OR=1.15; 95% CIs=0.33-4.06) and third-degree AV-B (OR=2.10; 95% CIs=0.60-7.34) was found between CD and non-CD participants ([Table 2](#) and [S8-S10 Figs](#)). Twenty-five studies (range 11 to 25 studies), based on $4,848 \pm 1,591$ participants, compared prevalence of arrhythmias between CD and non-CD participants. Pooled prevalence of AF or flutter (OR=2.11, 95% CIs=1.40-3.19) and ventricular extrasystoles (VE) (OR=1.62; 95% CIs=1.14-2.30) was higher in CD participants ([Table 2](#), [Fig 3](#) and [S11-S14 Figs](#)). In a pooled analysis of 10 studies, comprising 5,575 individuals, no statistically significant difference in prevalence of other ECG abnormalities (Low voltage QRS, OR=0.84; 95% CIs=0.47-1.50) was found between CD and non-CD ([Table 2](#) and [S15 Fig](#)).

Study quality and assessment of bias

Regarding of study quality and assessment bias, among the 49 included studies, 10 studies were judged to be at low risk of bias, 28 were at medium risk, and 11 studies were evaluated to be at high risk of bias ([Table 1](#), [S2 Appendix](#), [S3 Table](#) and [S16 Fig](#)).

Sensitivity analysis

In the sensitivity analysis, of 16 meta-analyses, while five showed no heterogeneity ($I^2=0$, $p>0.05$ for the Cochrane χ^2 statistic), four showed low ($I^2<25\%$), six moderate and one high between-study heterogeneity, four of which with an I^2 estimate exceeding 50% (overall ECG abnormalities, complete RBBB, LAFB and VE) ([Fig 2](#), [Tables 1](#) and [2](#) and [S4-S6 Tables](#)). No study characteristics could explain the heterogeneity observed in overall ECG abnormalities (p-value of meta-regression ≤ 0.05) ([Table 1](#) and [S17](#) and [S27 Figs](#)). Additionally, [S28 Fig](#) shows meta-analyses estimates of overall ECG abnormalities excluding single studies one by one, with no evidence of change in the pooled. Similarly, the stratified analysis by sex and age, although showed higher magnitudes of the association in children and men, the effects were not significantly different between sex and age strata: higher OR was observed in children

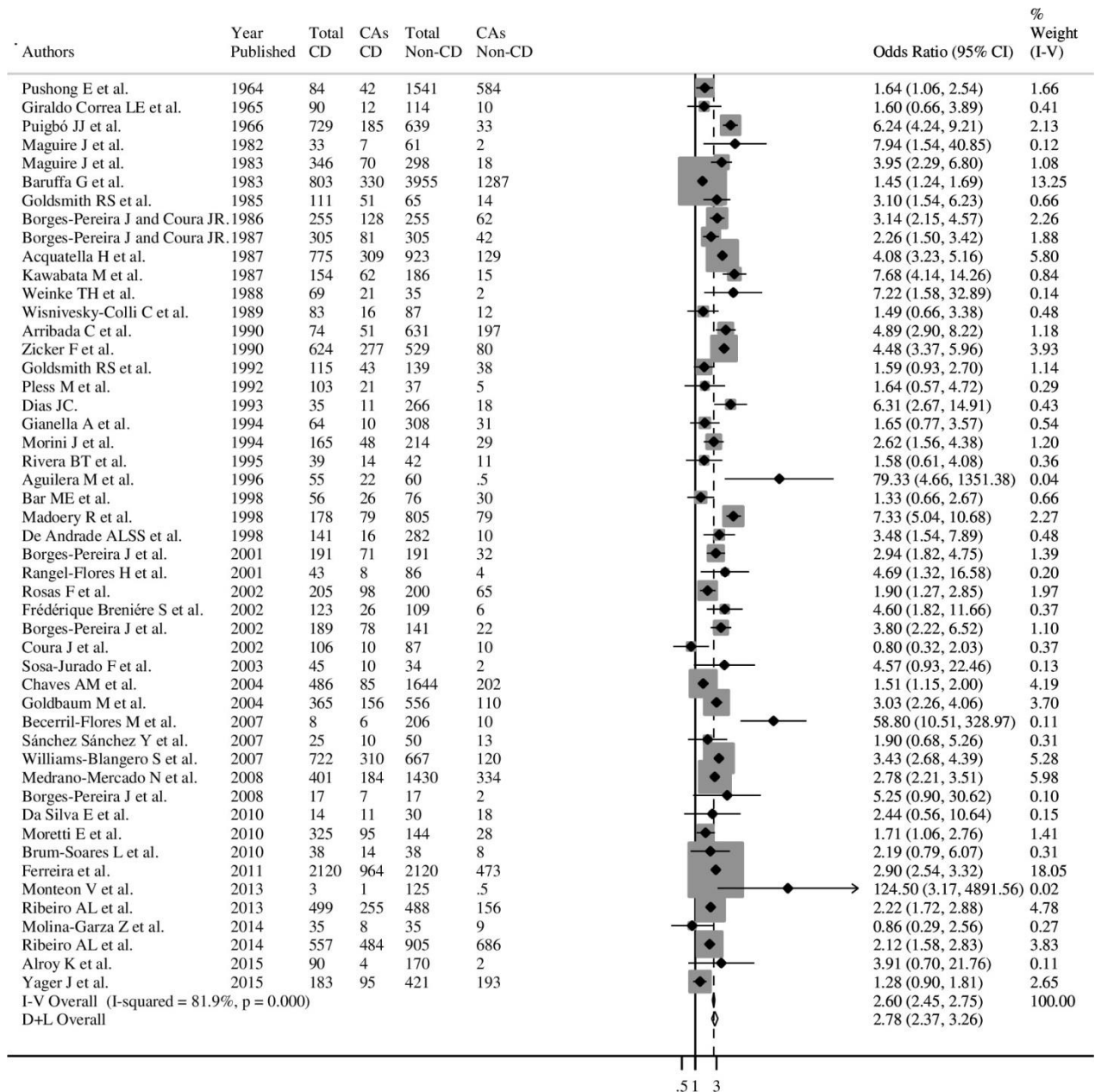


Fig 2. Meta-analyses of overall ECG abnormalities in Chagas and Non-Chagas disease. The box are proportional to the weight of each study in the analysis, and the lines represent their 95% confidence intervals (CIs). The open diamond represents the pooled odds ratio, and its width represents its 95% CI. Abbreviations: CD=Chagas disease; CAs=ECG abnormalities.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006567.g002>

(OR=3.88; 95% CIs=1.69-8.88; I²=63.9%) compared with all ages or ≤ 10 years categories; however, when a small-sample study was omitted, the OR of children was similar to that of the other categories (OR=2.83; 95% CIs=2.26-3.53; I²=0.0%) without being statistically significant in the meta-regression analysis (p-value of meta-regression=0.704), and comparison of overall ECG abnormalities by sex, could be quantified only in a limited number of studies (12.2%) (Table 1, S25, S26 and S29 Figs). For the studies on the association between CD, complete RBBB, LAFB and VE, the identified heterogeneity was largely explained by geographic

Table 1. Meta-analysis of overall ECG abnormalities in CD and Non-CD by characteristics of studies.

Characteristics	Number of studies	Pooled ECG Abnormalities					Heterogeneity		p-value Cochran's Q	p-value Meta-regression ^a
		Total CD	CAs in CD	Total Non-CD	CAs in Non-CD	OR (95% CI)	I ² (%)	p-value		
Overall studies	49	12,276	4,922	21,747	5,243	2.78 (2.37-3.26)	81.9	0.000	0.000	—
Publication year										
1964-1989	13	3,837	1,314	8,464	2,210	3.08 (2.12-4.48)	89.3	0.000	0.000	0.480
1990-2000	12	1,649	618	3,389	528	3.10 (2.11-4.57)	78.4	0.000		
2001-2010	17	3,303	1,179	5,630	986	2.64 (2.08-3.36)	68.6	0.000		
2011-2015	7	3,487	1,811	4,264	1,519	2.07 (1.48-2.90)	79.7	0.000		
Location										
Brazil	19	7,360	3,280	11,191	3,156	2.82 (2.30-3.46)	81.8	0.000	0.000	0.065
Mexico	7	360	127	690	77	4.12 (1.71-9.91)	76.6	0.000		
Bolivia	6	943	357	2,340	571	2.28 (1.42-3.66)	73.6	0.002		
Argentina	6	891	306	2,867	762	2.24 (1.22-4.12)	88.0	0.000		
Colombia	3	781	195	1,958	277	1.63 (1.30-2.03)	0.0	0.656		
Venezuela	2	1,504	494	1,562	162	4.90 (3.24-7.41)	70.4	0.066		
Chile	2	129	73	691	197	13.7 (0.98-191.4)	72.2	0.058		
Perú	2	115	14	220	15	2.29 (0.95-5.50)	0.0	0.478		
Ecuador	1	154	62	186	15	7.68 (4.14-14.26)	—	—		
Nicaragua	1	39	14	42	11	1.58 (0.61-4.08)	—	—		
Primarily <i>T. cruzi</i> by country										
<i>T. cruzi</i> I (Colombia, Mexico, Nicaragua and Venezuela)	13	2,684	830	4,252	527	2.87 (1.88-4.39)	84.6	0.000	0.373	0.549
<i>T. cruzi</i> II (Brazil)	19	7,360	3,280	11,191	3,156	2.82 (2.30-3.46)	81.8	0.000		
<i>T. cruzi</i> V (Argentina and Bolivia)	12	1,834	663	5,207	1,333	2.29 (1.60-3.30)	82.4	0.000		
Design										
Cross-sectional	43	10,475	3,997	18,445	4,146	2.91(2.44-3.47)	82.5	0.000	0.000	0.182
Cohort	6	1,801	925	3,302	1,098	2.01 (1.59-2.54)	47.9	0.087		
Area										
Rural	22	5,890	2,160	9,793	2,282	2.92 (2.24-3.80)	80.7	0.000	0.035	0.672
Urban	11	3,382	1,335	6,555	1,119	3.15 (2.40-4.14)	84.1	0.000		
Number of participants^b										
≤100	8	246	81	307	65	2.12 (1.38-3.25)	6.7	0.378	0.410	0.701
101-1000	31	4,729	1,671	7,087	1,250	2.92 (2.34-3.64)	76.0	0.000		
≤1001	10	7,301	3,170	14,353	3,928	2.73 (2.06-3.63)	93.1	0.000		

(Continued)

Table 1. (Continued)

Characteristics	Number of studies	Pooled ECG Abnormalities					Heterogeneity		p-value Cochran's Q	p-value Meta-regression ^a
		Total CD	CAs in CD	Total Non-CD	CAs in Non-CD	OR (95% CI)	I ² (%)	p-value		
Age of participants										
All ages	28	6,964	2,620	12,243	3,073	2.66 (2.13-3.32)	81.0	0.000	0.433	0.704
≤ 10 years	16	3,990	1,769	6,940	1,706	2.78 (2.08-3.71)	85.9	0.000		
Only children	3	597	222	1,772	344	3.88 (1.69-8.88)	63.9	0.062		
Sex										
Women	6	1,104	356	2,863	813	2.51 (1.66-3.81)	72.1	0.003	0.793	0.390
Men	6	893	336	2,213	603	3.77 (1.89-7.50)	84.9	0.000		
Definition of CAs										
Specific definitions	40	10,355	4,137	17,130	4,015	2.95 (2.44-3.57)	84.2	0.000	0.394	0.202
No-specified/no clear	9	1,921	785	4,617	1,229	2.44 (1.94-3.08)	54.3	0.025		
Test for the diagnoses CD										
One test for CD	9	4,630	1,754	9,402	2,496	2.77 (1.90-4.04)	91.4	0.000	0.006	0.970
More one test for CD	40	7,646	3,168	12,345	2,748	2.78 (2.33-3.32)	76.4	0.000		
Confounders adjustment[‡]										
Yes	18	4,550	1,873	5,008	1,021	2.53 (2.14-2.99)	40.2	0.040	0.419	0.370
No	31	7,726	3,049	16,739	4,222	2.97 (2.37-3.73)	87.3	0.000		
Risk of bias										
High	11	1,910	514	1,932	179	3.31 (2.14-5.10)	74.4	0.000	0.006	0.400
Medium	28	6,412	2,816	14,486	4,074	2.81 (2.24-3.52)	85.3	0.000		
Low	10	3,954	1,592	5,329	990	2.34 (1.79-3.04)	71.6	0.000		

^ap-value for heterogeneity was evaluated using random-effects meta-regression

[†]Total positive and negative for Chagas disease

[‡]Adjusted by confounders as age, sex and others in design

Abbreviations: CD=Chagas disease; CAs=ECG abnormalities; OR=Odds ratio.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006567.t001>

location, area, number of participants, number of tests used for diagnoses of CD, level of adjustment and risk of bias (S4–S6 Tables).

Considering a P value of 0.10, rather than the conventional level of 0.05, is sometimes used to determine statistical significance for heterogeneity, we investigated further the sources of heterogeneity across our meta-analyses using a p-value lower than 0.10 as statistical significant. When setting the p-value threshold to 0.10, the findings of meta-regression were similar as when setting the p-value threshold of 0.05, except for the characteristics “location of the study” which on p-value of 0.10, showed to contribute to heterogeneity of the meta-analysis for overall ECG abnormalities.

Table 2. Meta-analysis of specified ECG abnormalities in CD and Non-CD.

Specified ECG abnormalities	Number of studies	Pooled specified ECG abnormalities				Heterogeneity		p-value Cochran's Q	
		Total CD	Events CD	Total Non-CD	Events Non-CD	OR (95% CI)	I ² (%) p-value		
Ventricular conduction defects									
Incomplete RBBB	19	2,383	269	3,242	394	0.85 (0.63-1.16)	33.8	0.076	0.316
Complete RBBB	24	2,636	710	3,360	169	4.60 (2.97-7.11)	64.5	0.000	0.000
Incomplete LBBB	3	691	27	827	56	0.63 (0.39-1.01)	0.0	0.929	0.055
Complete LBBB	8	1,579	37	2,325	38	0.99 (0.62-1.58)	19.1	0.278	0.958
LAFB	30	3,919	734	4,040	419	1.60 (1.21-2.13)	54.1	0.000	0.000
LPFB	7	1,317	9	1,002	12	0.96 (0.35-2.62)	6.9	0.375	0.933
Complete RBBB+LAFB	15	1,891	167	1,608	34	3.34 (1.76-6.35)	35.9	0.082	0.000
Atrioventricular block									
The first AV-B	21	3,112	161	3,457	77	1.71 (1.25-2.33)	10.9	0.317	0.001
Second degree AV-B	7	1,177	7	2,117	1	1.15 (0.33-4.06)	0.0	0.665	0.822
Third degree AV-B	5	1,275	9	2,176	2	2.10 (0.60-7.34)	0.0	0.923	0.246
Arrhythmias									
Atrial fibrillation	11	2,075	44	2,871	22	1.55 (0.86-2.78)	0.0	0.862	0.141
Atrial fibrillation or flutter	13	2,654	78	3,750	40	2.11 (1.40-3.19)	0.0	0.789	0.000
Ventricular extrasystoles	25	3,142	588	3,749	366	1.62 (1.14-2.30)	59.5	0.000	0.000
Supraventricular extrasystoles	12	2,004	73	2,525	91	1.14 (0.82-1.59)	2.8	0.417	0.428
Other									
Low voltage QRS	10	2,426	45	3,149	79	0.84 (0.47-1.50)	28.6	0.181	0.421

Abbreviations: ECG=Electrocardiogram; CD=Chagas disease; OR=Odds ratio; RBBB=Right bundle branch block; LBBB=Left bundle branch block; LAFB=Left anterior fascicular block; LPFB=Left posterior fascicular block; AV-B=Atrioventricular block.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006567.t002>

Publication bias

Under visual examination, funnel plots for studies assessing the general and specific prevalence of ECG abnormalities were symmetrical, providing evidence for no publication bias. This was further supported by the results of Egger's test, showing no evidence of publication bias, either graphically from the funnel plot, or quantitatively ($p \leq 0.05$ for Egger's test asymmetry) (S7 Table and S30 Fig).

Discriminatory capacity of the ECG for diagnosis of CD

Finally, sensitivity, specificity, PPV and NPV of general ECG abnormalities were 40.09%, 75.89%, 48.42% and 69.18%, respectively. PPV of specific ECG abnormalities for diagnosis of CD varied, ranging between 61.64% and 83.08%, with two ECG abnormalities showing values over 80%: complete RBBB (80.77%; 95% CIs=78.17-83.13) and the combination of complete RBBB and LAFB (83.08%; 95% CIs= 77.36-87.59) (S8 Table).

Discussion

We systematically reviewed the current evidence for the prevalence of overall and specific ECG abnormalities in CD individuals in the general population. Overall, we found that subjects with CD, compared to non-CD participants, have almost a threefold higher prevalence of ECG alterations. Namely, a higher prevalence of complete RBBB, LAFB, first degree AV-B, VE, combined AF and flutter and, the combination of RBBB and LAFB, whereas no difference

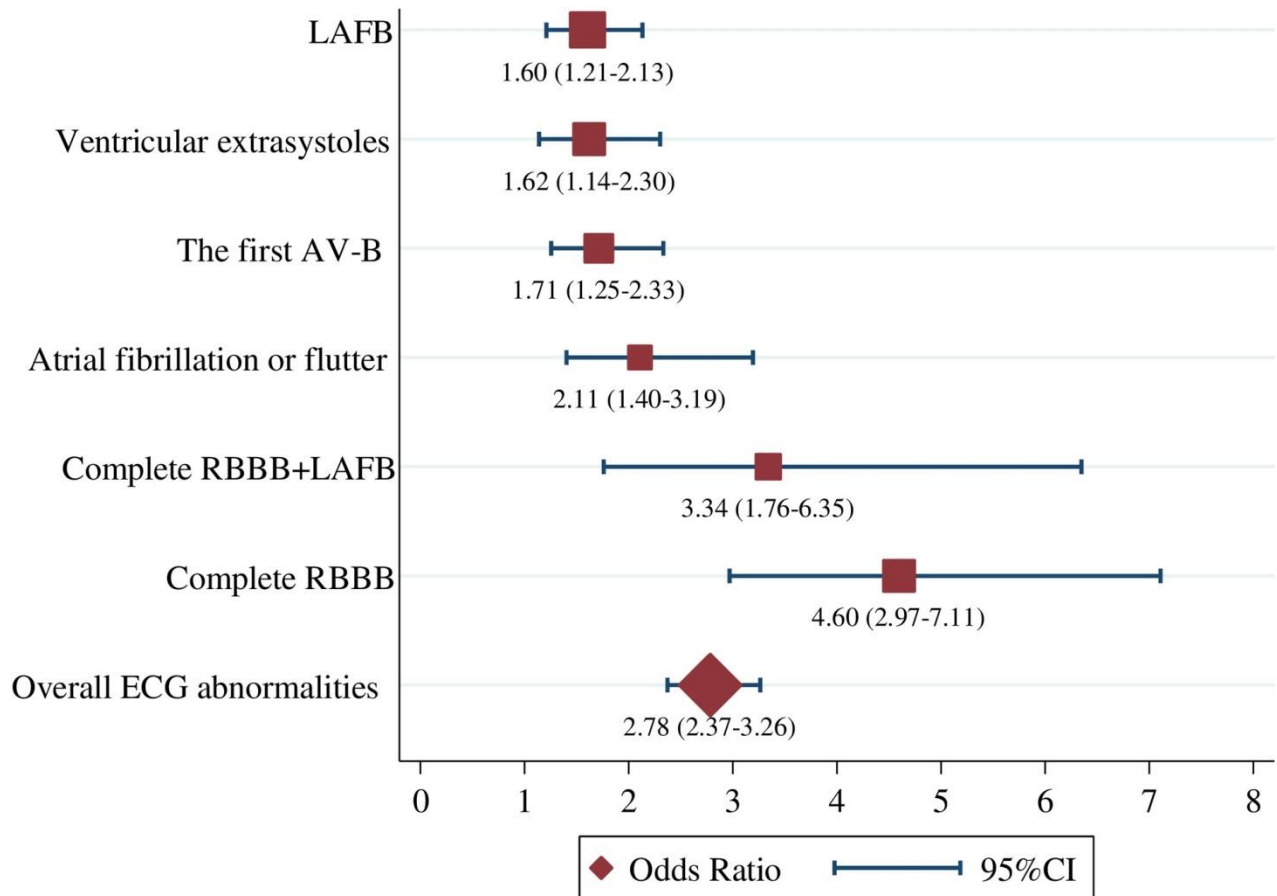


Fig 3. Prevalence of overall and specified ECG abnormalities in CD to compared non-CD participants. Forresplot determined the association between overall and specified ECG abnormalities with CD to compared Non-CD participants. **Abbreviations:** CD=Chagas disease; RBBB=Right bundle branch block; LAFB=Left anterior fascicular block; AV-B=Atrioventricular block.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006567.g003>

in other ECG abnormalities were observed between CD and non-CD participants. Also, prevalence of ECG alterations in children was similar to that in adults and suggests earlier onset of cardiac disease.

The current study complements and extends findings from a previous systematic review [37] that reported higher prevalence of RBBB and LAFB but no difference in AF in CD participants compared to non-CD participants. However, our review included 34,023 vs. 17,238 participants more with an additional 19 papers (49 vs. 30 studies), overlapping only on 10 studies (20.4%) with the previous review. Further, contrary to the current effort the previous work included clinical and community cases, with controls being mainly from the general population, whereas our study included only population-based studies comparing ECG alterations compatible with CD in seropositive and seronegative subjects recruited from the non-clinical setting. Studies using cases from a clinical setting and controls from the general population, including the mentioned systematic review, tend to overestimate the prevalence of ECG alterations. Furthermore, Cardoso et al.[37] found no data available to calculate prevalence of 1st and 2nd degree AV-B in CD and non-CD individuals, whereas our study quantified the prevalence of these ECG alterations, documenting a higher prevalence of first degree AV-B block. Our findings further extend previous reports by providing the prevalence of overall and specific ECG alterations, reporting a higher prevalence of combined AF/flutter and VE among

CD compared to non-CD participants. In contrast, no differences in incomplete and complete LBBB, LPFB, second and third degree AV-B, supraventricular extrasystoles and low voltage QRS were observed.

Finally, even though childhood heart involvement is an uncommon event and cardiac alterations are considered to take decades to ensue in adults with *T. cruzi* infection[38–40], our data indicates that CD is associated with a higher prevalence of ECG alterations both in children and adults. Also, our findings on high frequency of ECG alterations in children (5-13 years) suggest earlier manifestations of anomalies progression when *T. cruzi* infection is acquired at a younger age [38, 41, 42]. A previous clinicopathologic study based on medical records and autopsies, carried out in 19 children and adolescents (6-17 years) determined a prevalence of ventricular premature contractions 58%, LAFB 45%, first degree A-V block 28%, complete RBBB 11%, AF 11%; the authors concluded that, in this adolescent population, CD shows relevant peculiarities, like rapid evolution toward decrease (as short as 128 days), diagnosis difficulty related to occurrence of mitral regurgitation (61% wrong initial diagnosis) and low RBBB frequency, suggesting that CD at this age range can be of a peculiar type, making clarification of the pathogenic mechanism of chronic CD in teens useful to pinpoint the pathogenic mechanism of the disease[43].

Although the etiology of cardiac alterations in CD-patients remains unclear, a number of biologically plausible mechanisms have been suggested. Cardiac alterations are characterized by development of a diffuse cellular infiltrate, microcirculation alterations that lead to fibrosis[44]. Evidence suggests that low grade parasite persistence triggers a parasite-specific immune response to *T. cruzi* in the heart, and that at least some of the cells comprising the infiltrate are parasite-specific[44]. Simões-Barbosa et al. reported that *T. cruzi* infection may affect gene expression in human host cells via LINE-1 retrotransposon, which may play an important role in the pathogenesis of CD cardiac involvement[45, 46]. *T. cruzi* infection also impairs parasympathetic innervations predisposing to sympathetic over-activation which may lead to further cardiac damage and arrhythmogenesis[47, 48]. *T. cruzi* persistence may directly initiate vascular endothelial cell damage or lead to microvasculature damage via its effects on the inflammatory infiltrate as well as on several bioactive lipids such as thromboxane A and prostaglandin F₂α, potent vasoconstrictors[44]. In summary, multiple mechanisms may be responsible for the development of cardiac alterations in individuals infected with *T. cruzi* that include host and specific parasite characteristics that need further investigation.

There were several strengths and limitations of the present study. Our analysis included more than 34,023 seropositive and seronegative CD participants, and investigated a wide range of ECG abnormalities. We also included only studies based on subjects recruited through community surveys and blood bank screening (population-based), in order to avoid overestimation of effect measures that may arise by inclusion of clinical populations. As with all systematic reviews we are prone to publication bias. However, there was little evidence of publication bias, and therefore, the likelihood that studies with negative findings are not published is low. We performed an extensive search strategy in several databases in order to identify all relevant studies in the topic. Nevertheless, since majority of studies were from Latin America, and we did not use terms in Portuguese and Spanish language in our search, we do not exclude the possibility to have missed some relevant studies. However, the search strategy we used included the term “Chagas” that has no translation, so we believe that it did not introduce selection bias or if it did, it would be minor. Additionally, the low and moderate quality of the individual published studies included in this meta-analysis was limited. Variation in study regarding inclusion and exclusion criteria and the diverse populations included in different studies, contributed to the heterogeneity of findings noted in several of the meta-analyses

performed. Other sources of heterogeneity are likely to include different diagnostic methods for CD, and variation in the criteria applied for the definition of ECG abnormalities. However, we did not observe any heterogeneity in 5 out of 16 meta-analyses, as well as in the meta-analysis based only on children.

The cardiac manifestations in *T. cruzi* infected subjects, documented by the presence of specific ECG changes such as complete RBBB and LAFB in its initial stages. As disease advances, AV-B, VE and atrial fibrillation/flutter may ensue[49, 50]. These findings may be relevant for diagnostic and epidemiologic purposes as once cardiac alterations are established the prognosis of these subjects might deteriorate rapidly. These findings may have important implications for non-endemic countries, where the prevalence of CD in Latin-American migrants is 4.2% (95% CIs=2.2-6.7%)[6], in which less than 1% of the expected prevalence of CD-cardiomyopathy has been reported, suggesting under diagnosis and suboptimal physician awareness[51]. Specific ECG alterations such as RBBB associated with LAFB, AV-B, atrial fibrillation/flutter and VE, should alert the clinician encountering patients with heart failure or cardiomyopathy of unknown etiology originally from Chagas endemic regions, to consider obtaining serologic tests to rule out *T. cruzi* infection[30]. Finally, the increased prevalence of ECG abnormalities in children underscores the need for early diagnosis and trypanocidal treatment should be considered.

CD is recognized by World Health Organization as a neglected tropical disease that historically, has not received sufficient public health interest, or research and governmental resources worldwide. CD costs in Latin America are estimated up to 662,000 disability-adjusted life-years of productivity as of 2008, and the total economic toll attributed to the disease each year is estimated at over \$7 billion USD, with more than 10% of this cost being incurred in the United States and Canada. Eminent scientists have labeled Chagas Disease as “The New HIV/AIDS of the Americas”, and 20–30% of people infected with Chagas disease will develop potentially fatal cardiomyopathy in their lifetime. Yet, there is no vaccine or highly effective medical treatment available for the approximately 10 million people currently infected with *T. cruzi* [52].

In terms of public health, our findings provide an update and synthesis of the burden of cardiac disease in Chagas patients, and complement previous findings on excess mortality in this individuals. Cucunuba ZM et al. [40] showed that excess mortality exists in CD, both in symptomatic and asymptomatic populations. In addition, our results provide important data that could be useful for futures studies to better estimate the health and economic burden of CD in Latinamerica. Understanding morbidity and mortality in Chagas patients at population level as shown in this study, provides a better understanding of the disease burden and impact, and highlights the need for better detection, diagnosis, treatment and management of affected populations. Improved morbid-mortality Chagas disease estimates at population level will serve to highlight the real need for better detection, diagnostics, treatment and management of affected populations[14].

Conclusion

This systematic review and meta-analysis provides an update and synthesis in this field. This research of observational studies indicates a significant excess in prevalence of ECG abnormalities (40.1%) related to *T. cruzi* infection in the general population from Chagas endemic regions, being the most common ventricular (RBBB and LAFB), and A-V B (first-degree) node conduction abnormalities as well as arrhythmias (AF or flutter and VE). Also, prevalence of ECG alterations in children was similar to that in adults and suggests earlier onset of cardiac disease.

Supporting information

S1 Checklist. PRISMA checklist.

(DOC)

S1 Appendix. Literature search for studies that investigated the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease.

(DOCX)

S2 Appendix. Assessments of study quality of the studies included in systematic review and meta-analysis.

(DOCX)

S3 Appendix. Reference list of included studies in this meta-analysis.

(DOCX)

S1 Table. General characteristics of the studies included in systematic review and meta-analysis of prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease.

(DOCX)

S2 Table. Definition of ECG abnormalities in each study included in systematic review and meta-analysis.

(DOCX)

S3 Table. Summary of studies and participants characteristics (49 included studies).

(DOCX)

S4 Table. Sensitivity analysis: Complete right bundle branch block (CRBBB).

(DOCX)

S5 Table. Sensitivity analysis: Left anterior fascicular block (LAFB).

(DOCX)

S6 Table. Sensitivity analysis: Ventricular extrasystoles (VE).

(DOCX)

S7 Table. Assessment of small study effects by Egger's test.

(DOCX)

S8 Table. Discriminatory capacity of the ECG for the diagnosis of Chagas diseases.

(DOCX)

S1 Fig. Pooled odds ratios for the complete right bundle branch block (CRBBB) in Chagas disease.

(TIF)

S2 Fig. Pooled odds ratios for the left anterior fascicular block (LAFB) in Chagas disease.

(TIF)

S3 Fig. Pooled odds ratios for the combination complete right bundle branch block (CRBBB) and left anterior fascicular block (LAFB) in Chagas disease.

(TIF)

S4 Fig. Pooled odds ratios for the incomplete right bundle branch block (IRBBB) in Chagas disease.

(TIF)

S5 Fig. Pooled odds ratios for the incomplete left bundle branch block (ILBBB) in Chagas disease.

(TIF)

S6 Fig. Pooled odds ratios for the complete left bundle branch block (CLBBB) in Chagas disease.

(TIF)

S7 Fig. Pooled odds ratios for the left posterior fascicular block (LPFB) in Chagas disease.

(TIF)

S8 Fig. Pooled odds ratios for the first degree left atrioventricular block (A-V B) in Chagas disease.

(TIF)

S9 Fig. Pooled odds ratios for the second degree left atrioventricular block (A-V B) in Chagas disease.

(TIF)

S10 Fig. Pooled odds ratios for the third degree left atrioventricular block (A-V B) in Chagas disease.

(TIF)

S11 Fig. Pooled odds ratios for atrial fibrillation (AF) in Chagas disease.

(TIF)

S12 Fig. Pooled odds ratios for supraventricular extrasystoles (SE) in Chagas disease.

(TIF)

S13 Fig. Pooled odds ratios for atrial fibrillation (AF) or flutter in Chagas disease.

(TIF)

S14 Fig. Pooled odds ratios for ventricular extrasystoles (VE) in Chagas disease.

(TIF)

S15 Fig. Pooled odds ratios for low voltage QRS (LV-QRS) in Chagas disease.

(TIF)

S16 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by assessments of study quality.

(TIF)

S17 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by period of publication.

(TIF)

S18 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by location.

(TIF)

S19 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by design.

(TIF)

S20 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by area.

(TIF)

S21 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by area (Rural vs Urban).

(TIF)

S22 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by test for the diagnoses.

(TIF)

S23 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by confounders adjustment.

(TIF)

S24 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities Chagas disease by number of participants.

(TIF)

S25 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities Chagas disease by age of participants.

(TIF)

S26 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities Chagas disease by sex of participants.

(TIF)

S27 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by definition of ECG abnormalities.

(TIF)

S28 Fig. Meta-analysis estimates (Overall ECG abnormalities), given named study is omitted.

(TIF)

S29 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities Chagas disease by age of participants (exclude Aguilera M et al. 1996).

(TIF)

S30 Fig. Assessment of small study effects by funnel plots.

(DOCX)

S1 Diagram. PRISMA flow diagram.

(DOC)

Author Contributions

Conceptualization: Lyda Z. Rojas, Luis E. Echeverría, Rajiv Chowdhury, Carlos A. Morillo, Oscar L. Rueda-Ochoa, Oscar H. Franco, Taulant Muka.

Formal analysis: Lyda Z. Rojas.

Funding acquisition: Lyda Z. Rojas and Luis E. Echeverría.

Methodology: Lyda Z. Rojas, Marija Glisic, Laura Pletsch-Borba, Wichor M. Bramer, Arjola Bano, Najada Stringa, Asija Zaciragic, Bledar Kraja, Eralda Asllanaj, Oscar L. Rueda-Ochoa, Taulant Muka.

Supervision: Oscar H. Franco, Taulant Muka.

Validation: Marija Glisic, Laura Pletsch-Borba, Wichor M. Bramer, Arjola Bano, Najada Stringa, Asija Zaciragic, Bledar Kraja, Eralda Asllanaj, Rajiv Chowdhury, Carlos A. Morillo, Oscar L. Rueda-Ochoa, Oscar H. Franco, Taulant Muka.

Writing – original draft: Lyda Z. Rojas.

Writing – review & editing: Lyda Z. Rojas, Marija Glisic, Laura Pletsch-Borba, Luis E. Echeverría, Wichor M. Bramer, Arjola Bano, Najada Stringa, Asija Zaciragic, Bledar Kraja, Eralda Asllanaj, Rajiv Chowdhury, Carlos A. Morillo, Oscar L. Rueda-Ochoa, Oscar H. Franco, Taulant Muka.

References

1. Erazo D, Cordovez J. The role of light in Chagas disease infection risk in Colombia. *Parasit Vectors*. 2016; 9:9. Epub 2016/01/07. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1240-4> [pii]. PMID: [26732186](#); PubMed Central PMCID: PMC4700647.
2. Chatelain E. Chagas disease research and development: Is there light at the end of the tunnel? *Comput Struct Biotechnol J*. 2017; 15:98–103. <https://doi.org/10.1016/j.csbi.2016.12.002> PMID: [28066534](#); PubMed Central PMCID: PMC5196238.
3. Montgomery SP, Starr MC, Cantey PT, Edwards MS, Meymandi SK. Neglected parasitic infections in the United States: Chagas disease. *Am J Trop Med Hyg*. 2014; 90(5):814–8. Epub 2014/05/09. doi: 90/ 5/814 [pii] <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0726> PMID: [24808250](#); PubMed Central PMCID: PMC4015570.
4. Echeverría LE, Rojas LZ, Calvo LS, Roa ZM, Rueda-Ochoa OL, Morillo CA, et al. Profiles of cardiovascular biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy. *Int J Cardiol*. 2017; 227:577– 82. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.10.098> PMID: [27839809](#).
5. Neiderud CJ. How urbanization affects the epidemiology of emerging infectious diseases. *Infect Ecol Epidemiol*. 2015; 5:27060. <https://doi.org/10.3402/iee.v5.27060> PMID: [26112265](#); PubMed Central PMCID: PMC4481042.
6. Requena-Mendez A, Aldasoro E, de Lazzari E, Sicuri E, Brown M, Moore DA, et al. Prevalence of Chagas disease in Latin-American migrants living in Europe: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9(2):e0003540. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003540> PMID: [25680190](#); PubMed Central PMCID: PMC4332678.
7. Guedes PM, Gutierrez FR, Silva GK, Dellalibera-Joviliano R, Rodrigues GJ, Bendhack LM, et al. Deficient regulatory T cell activity and low frequency of IL-17-producing T cells correlate with the extent of cardiomyopathy in human Chagas' disease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012; 6(4):e1630. Epub 2012/05/01. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001630> [pii]. PMID: [22545173](#); PubMed Central PMCID: PMC3335880.
8. Ribeiro AL, Sabino EC, Marcolino MS, Salemi VM, Ianni BM, Fernandes F, et al. Electrocardiographic abnormalities in Trypanosoma cruzi seropositive and seronegative former blood donors. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013; 7(2):e2078. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002078> PMID: [23469305](#); PubMed Central PMCID: PMC3585012.
9. Morillo CA. Infection with Trypanosoma cruzi and progression to cardiomyopathy: what is the evidence and is the tide finally turning? *Circulation*. 2013; 127(10):1095–7. Epub 2013/02/09. doi: CIRCULATIONAHA.113.000891 [pii] <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.000891> PMID: [23393009](#).
10. Nunes MC, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL, Council on Chagas Disease of the Interamerican Society of C. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *J Am Coll Cardiol*. 2013; 62(9):767–76. Epub 2013/06/19. doi: S0735-1097(13)02250-X [pii] <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.05.046> PMID: [23770163](#).
11. Alroy KA, Huang C, Gilman RH, Quispe-Machaca VR, Marks MA, Ancca-Juarez J, et al. Prevalence and Transmission of Trypanosoma cruzi in People of Rural Communities of the High Jungle of Northern Peru. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9(5):e0003779. Epub 2015/05/23. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003779> [pii]. PMID: [26000770](#); PubMed Central PMCID: PMC4441511.
12. Yager JE, Lozano Beltran DF, Torrico F, Gilman RH, Bern C. Prevalence of Chagas heart disease in a region endemic for Trypanosoma cruzi: evidence from a central Bolivian community. *Glob Heart*. 2015; 10(3):145–50. Epub 2015/09/27. doi: S2211-8160(15)00187-8 [pii] <https://doi.org/10.1016/j.gheart.2015.07.002> PMID: [26407509](#); PubMed Central PMCID: PMC4586035.

13. Bern C. Chagas' Disease. *N Engl J Med.* 2015; 373(5):456–66. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1410150> PMID: [26222561](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26222561/).
14. Conners EE, Vinetz JM, Weeks JR, Brouwer KC. A global systematic review of Chagas disease prevalence among migrants. *Acta Trop.* 2016; 156:68–78. Epub 2016/01/19. doi: S0001-706X(16)30001-8 [pii] <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.01.002> PMID: [26777312](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26777312/); PubMed Central PMCID: PMC5155706.
15. Rodríguez-Zanella H, Salas Pacheco J, Meléndez-Ramírez G, Arias Godínez J, Avila-Vanzini N, Ruiz Esparza M, et al. Advanced Imaging in Chagas Heart Disease: From Diagnosis to Sudden Death Risk Stratification. *International Cardiovascular Forum Journal.* 2016; 7:5–10. <https://doi.org/10.17987/icfj.v7i0.225>
16. Benziger CP, do Carmo GA, Ribeiro AL. Chagas Cardiomyopathy: Clinical Presentation and Management in the Americas. *Cardiol Clin.* 2017; 35(1):31–47. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2016.08.013> PMID: [27886788](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27886788/).
17. Bravo Tobar I, Parra F, Nello Perez C, Rodríguez-Bonfante C, Useche F, Bonfante-Cabarcas R. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* antibodies and inflammatory markers in uncompensated heart failure. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011; 44(6):691–6. Epub 2012/01/11. doi: S0037-86822011000600008 [pii]. PMID: [22231242](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22231242/).
18. Cardoso CS, Sabino EC, Oliveira CD, de Oliveira LC, Ferreira AM, Cunha-Neto E, et al. Longitudinal study of patients with chronic Chagas cardiomyopathy in Brazil (SaMi-Trop project): a cohort profile. *BMJ Open.* 2016; 6(5):e011181. Epub 2016/05/06. doi: bmjopen-2016-011181 [pii] <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-011181> PMID: [27147390](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27147390/); PubMed Central PMCID: PMC4861110.
19. Goldsmith RS, Zarate RJ, Zarate LG, Kagan I, Jacobson LB. Clinical and epidemiologic studies of Chagas' disease in rural communities in Oaxaca State, Mexico, and a seven-year follow-up: I. Cerro del Aire. *Bull Pan Am Health Organ.* 1985; 19(2):120–38. Epub 1985/01/01. PMID: [3902134](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3902134/).
20. Kawabata M, Uchiyama T, Mimori T, Hashiguchi Y, de Coronel VV. Association of electrocardiographic abnormalities with seropositivity to *Trypanosoma cruzi* in Ecuador. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1987; 81(1):7–10. PMID: [3445326](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3445326/)
21. Dias JC. The clinical, social and occupational aspects of Chagas disease in an endemic area under the control of the state of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1993; 26(2):93–9. PMID: [8128077](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8128077/)
22. Rivera T, Palma-Guzman R, Morales W. Seroepidemiological and clinical study of Chagas' disease in Nicaragua. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1995; 37(3):207–13. PMID: [8525265](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8525265/)
23. Williams-Blangero S, Magalhaes T, Rainwater E, Blangero J, Corrêa-Oliveira R, VandeBerg JL. Electrocardiographic characteristics in a population with high rates of seropositivity for *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2007; 77(3):495–9. PMID: [17827366](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17827366/)
24. Da Silva EM, Rocha MOC, Silva RC, Paixão GC, Buzzati H, Santos AN, et al. Clinic and epidemiological study on Chagas disease in the Serra Azul district of Mateus Leme, central-western region of the State of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010; 43(2):178–81. PMID: [20464149](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20464149/)
25. Maguire JH, Mott KE, Hoff R, Guimaraes A, Franca JT, Almeida de Souza JA, et al. A three-year follow-up study of infection with *Trypanosoma cruzi* and electrocardiographic abnormalities in a rural community in northeast Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1982; 31(1):42–7. Epub 1982/01/01. PMID: [6800274](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6800274/).
26. Gontijo ED, Rocha MO, Torquato de Oliveira U. Clinico-epidemiologic profile of Chagas disease patients attending an ambulatory referral center and proposal of a model of care for the Chagas patient under the perspective of a comprehensive health care. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1996; 29(2):101–8. Epub 1996/03/01. PMID: [8713601](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8713601/).
27. Coura JR, Junqueira AC, Boia MN, Fernandes O, Bonfante C, Campos JE, et al. Chagas disease in the Brazilian Amazon: IV. a new cross-sectional study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2002; 44(3):159–65. PMID: [12163910](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12163910/)
28. Molina-Garza ZJ, Rosales-Encina JL, Mercado-Hernandez R, Molina-Garza DP, Gomez-Flores R, Galaviz-Silva L. Association of *Trypanosoma cruzi* infection with risk factors and electrocardiographic abnormalities in northeast Mexico. *BMC Infect Dis.* 2014; 14:117. Epub 2014/03/04. doi: 1471-2334-14-117 [pii] <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-117> PMID: [24580840](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24580840/); PubMed Central PMCID: PMC3943989.
29. Traina M, Meymandi S, Bradfield JS. Heart Failure Secondary to Chagas Disease: an Emerging Problem in Non-endemic Areas. *Curr Heart Fail Rep.* 2016; 13(6):295–301. Epub 2016/11/04. <https://doi.org/10.1007/s11897-016-0305-9> [pii]. PMID: [27807757](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27807757/).
30. Traina MI, Hernandez S, Sanchez DR, Dufani J, Salih M, Abuhamidah AM, et al. Prevalence of Chagas Disease in a U.S. Population of Latin American Immigrants with Conduction Abnormalities on Electrocardiogram. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017; 11(1):e0005244. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005244> PMID: [28056014](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28056014/); PubMed Central PMCID: PMC5242541.

31. Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, Olkin I, Williamson GD, Rennie D, et al. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group. *JAMA*. 2000; 283(15):2008–12. Epub 2000/05/02. doi: [jst00003](https://doi.org/10.1001/jama.283.15.2008) [pii]. PMID: [10789670](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10789670/).
32. Stang A. Critical evaluation of the Newcastle–Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol*. 2010; 25(9):603–5. Epub 2010/07/24. <https://doi.org/10.1007/s10654-010-9491-z> PMID: [20652370](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20652370/).
33. DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials*. 1986; 7(3):177–88. Epub 1986/09/01. doi: [0197-2456\(86\)90046-2](https://doi.org/10.1016/0197-2456(86)90046-2) [pii]. PMID: [3802833](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3802833/).
34. Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ*. 2003; 327(7414):557–60. Epub 2003/09/06. <https://doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557> [pii]. PMID: [12958120](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12958120/); PubMed Central PMCID: [PMC192859](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC192859/).
35. Thompson SG, Sharp SJ. Explaining heterogeneity in meta-analysis: a comparison of methods. *Stat Med*. 1999; 18(20):2693–708. Epub 1999/10/16. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0258\(19991030\)18:20<2693::AID-SIM235>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0258(19991030)18:20<2693::AID-SIM235>3.0.CO;2-V) [pii]. PMID: [10521860](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10521860/).
36. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ*. 1997; 315(7109):629–34. Epub 1997/10/06. PMID: [9310563](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9310563/); PubMed Central PMCID: [PMC2127453](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC2127453/).
37. Cardoso R, Garcia D, Fernandes G, He LI, Lichtenberger P, Viles-Gonzalez J, et al. The Prevalence of Atrial Fibrillation and Conduction Abnormalities in Chagas' Disease: A Meta-Analysis. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2016; 27(2):161–9. Epub 2015/09/29. <https://doi.org/10.1111/jce.12845> PMID: [26412204](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26412204/).
38. Medrano-Mercado N, Ugarte-Fernandez R, Butron V, Uber-Busek S, Guerra HL, Araujo-Jorge TC, et al. Urban transmission of Chagas disease in Cochabamba, Bolivia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008; 103(5):423–30. Epub 2008/09/18. doi: [S0074-02762008000500003](https://doi.org/10.1590/S0074-02762008000500003) [pii]. PMID: [18797753](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18797753/).
39. Rassi A Jr., Rassi A, Rassi SG. Predictors of mortality in chronic Chagas disease: a systematic review of observational studies. *Circulation*. 2007; 115(9):1101–8. Epub 2007/03/07. doi: [115/9/1101](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.627265) [pii] <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.627265> PMID: [17339568](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17339568/).
40. Cucunuba ZM, Okuwoga O, Basanez MG, Nouvellet P. Increased mortality attributed to Chagas disease: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors*. 2016; 9:42. Epub 2016/01/28. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1315-x> [pii]. PMID: [26813568](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26813568/); PubMed Central PMCID: [PMC4728795](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC4728795/).
41. De Andrade AL, Zicker F, Rassi A, Rassi AG, Oliveira RM, Silva SA, et al. Early electrocardiographic abnormalities in Trypanosoma cruzi-seropositive children. *Am J Trop Med Hyg*. 1998; 59(4):530–4. Epub 1998/10/28. PMID: [9790424](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9790424/).
42. Salazar-Schettino P, Cabrera-Bravo M, Vazquez-Antona C, Zenteno E, Alba-Alvarado M, Gutierrez E, et al. Chagas Disease in Mexico: Report of 14 Cases of Chagasic Cardiomyopathy in Children. *Tohoku J Exp Med*. 2016; 240(3):243–9. <https://doi.org/10.1620/tjem.240.243> PMID: [27890871](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27890871/)
43. Correa de Araujo R, Bestetti RB, Godoy RA, Oliveira JS. Chronic Chagas' heart disease in children and adolescents: a clinicopathologic study. *Int J Cardiol*. 1985; 9(4):439–55. Epub 1985/12/01. doi: [0167-5273\(85\)90239-6](https://doi.org/10.1016/0167-5273(85)90239-6) [pii]. PMID: [4077302](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4077302/).
44. Bonney KM, Engman DM. Chagas heart disease pathogenesis: one mechanism or many? *Curr Mol Med*. 2008; 8(6):510–8. Epub 2008/09/11. PMID: [18781958](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18781958/); PubMed Central PMCID: [PMC2859714](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC2859714/).
45. Simoes-Barbosa A, Arganaraz ER, Barros AM, Rosa Ade C, Alves NP, Louvandini P, et al. Hitchhiking Trypanosoma cruzi minicircle DNA affects gene expression in human host cells via LINE-1 retrotransposon. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006; 101(8):833–43. Epub 2007/02/13. doi: [S0074-02762006000800003](https://doi.org/10.1590/S0074-02762006000800003) [pii]. PMID: [17293976](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17293976/).
46. Muka T, Koromani F, Portilla E, O'Connor A, Bramer WM, Troup J, et al. The role of epigenetic modifications in cardiovascular disease: A systematic review. *Int J Cardiol*. 2016; 212:174–83. Epub 2016/04/04. doi: [S0167-5273\(16\)30478-8](https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.03.062) [pii] <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.03.062> PMID: [27038728](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27038728/).
47. Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simoes MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation*. 2007; 115(9):1109–23. Epub 2007/03/07. doi: [115/9/1109](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.624296) [pii] <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.624296> PMID: [17339569](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17339569/).
48. Davila DF, Rossell O, de Bellabarba GA. Pathogenesis of chronic chagas heart disease: parasite persistence and autoimmune responses versus cardiac remodelling and neurohormonal activation. *Int J Parasitol*. 2002; 32(1):107–9. Epub 2002/02/14. doi: [S0020751901003113](https://doi.org/10.1016/S0020751901003113) [pii]. PMID: [11796128](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11796128/).
49. Bestetti RB. Chagas Heart Failure in Patients from Latin America. *Card Fail Rev*. 2016; 2(2):90–4. Epub 2017/08/09. <https://doi.org/10.15420/cfr.2016.14.2> PMID: [28785459](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28785459/); PubMed Central PMCID: [PMC5490952](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC5490952/).

50. Perez-Molina JA, Molina I. Chagas disease. *Lancet*. 2018; 391(10115):82–94. Epub 2017/07/05. doi: S0140-6736(17)31612-4 [pii] [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31612-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31612-4) PMID: 28673423.
51. Guerri-Guttenberg RA, Grana DR, Ambrosio G, Milei J. Chagas cardiomyopathy: Europe is not spared! *Eur Heart J*. 2008; 29(21):2587–91. Epub 2008/10/09. doi: ehn424 [pii] <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehn424> PMID: 18840880.
52. Bonney KM. Chagas disease in the 21st century: a public health success or an emerging threat? *Para- site*. 2014; 21:11. <https://doi.org/10.1051/parasite/2014012> PMID: 24626257; PubMedCentralPMCID: PMC3952655.

Supporting Information

S1 Appendix. Literature search for studies that investigated the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease

Relevant studies, published before March 15th 2017 (last date searched) were identified through electronic searches not limited to the English language using EMBASE, Ovid Medline, Web of Science, Cochrane Central, Google Scholar and Lilacs. Electronic searches were supplemented by scanning reference lists of articles identified for all relevant studies (including review articles), by hand searching of relevant journals (Revista de la Sociedad Brasileira de Medicina Tropical and Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz). The computer-based searches combined search terms related to population (Chagas disease and *Trypanosoma cruzi*), and to study design without language restriction:

(i) EMBASE strategy to identify relevant studies:

('Chagas disease'/exp OR 'Trypanosoma cruzi'/de OR trypanosomiasis/de OR 'African trypanosomiasis'/de OR (Chagas* OR (Trypanosoma NEAR/3 infect*) OR 't cruzi' OR trypanosomiasis OR 'Sleeping Sickness'):ab,ti) AND ('prevalence'/de OR 'seroprevalence'/de OR 'seroepidemiology'/de OR 'incidence'/de OR 'epidemiological data'/de OR 'disease surveillance'/de OR (prevalen* OR seroprevalen* OR Seroepidemiolog* OR incidence* OR seropositiv* OR (epidemiolog* NEAR/3 (data* OR monitor* OR surveil*)) OR ((serolog* OR population*) NEAR/3 screen*)):ab,ti) NOT ([animals]/lim NOT [humans]/lim)

(ii) Ovid Medline strategy to identify relevant studies:

(exp "Chagas Disease"/ OR "Trypanosomiasis, African"/ OR "Trypanosoma cruzi"/ OR Trypanosomiasis/ OR (Chagas* OR (Trypanosoma ADJ3 infect*) OR "t cruzi" OR trypanosomiasis OR "Sleeping Sickness").ab,ti.) AND ("Prevalence"/ OR "Seroepidemiologic Studies"/ OR "incidence"/ OR "Epidemiological Monitoring"/ OR "Epidemiologic Methods"/ OR (prevalen* OR seroprevalen* OR incidence* OR seropositiv* OR (epidemiologic* ADJ3 data*) OR ((serolog* OR population*) ADJ3 screen*)).ab,ti.) NOT (exp animals/ NOT humans/)

(iii) Web of Science strategy to identify relevant studies:

TS=(((Chagas* OR (Trypanosoma NEAR/2 infect*) OR "t cruzi" OR trypanosomiasis OR "Sleeping Sickness")) AND ((prevalen* OR seroprevalen* OR Seroepidemiolog* OR incidence* OR seropositiv* OR (epidemiolog* NEAR/2 (data* OR monitor* OR surveil*)) OR ((serolog* OR population*) NEAR/2 screen*))) NOT ((animal* OR dog OR dogs OR canine OR cat OR cats OR feline OR mouse OR mice OR rat OR rats OR murine OR buffalo OR cow OR cows OR cattle OR livestock OR bovine OR sheep OR ovine OR primate* OR nonhuman OR "non human" OR bird OR birds OR fish OR horse OR camel* OR turtle* OR ranch OR game OR monkey* OR bear OR bears OR pig OR pigs OR swine OR porcine) NOT (human* OR patient*))) AND DT=(article)

(iv) Cochrane Central strategy to identify relevant studies:

((Chagas* OR (Trypanosoma NEAR/3 infect*) OR 't cruzi' OR trypanosomiasis OR 'Sleeping Sickness'):ab,ti) AND ((prevalen* OR seroprevalen* OR Seroepidemiolog* OR incidence* OR seropositiv* OR (epidemiolog* NEAR/3 (data* OR monitor* OR surveil*)) OR ((serolog* OR population*) NEAR/3 screen*)):ab,ti)

(v) Google Scholar strategy to identify relevant studies:

Chagas|"Trypanosoma infection"|trypanosomiasis|"Sleeping Sickness"
prevalence|seroprevalence|Seroepidemiology|incidence|seropositivity|"epidemiologic|epidemiological
data|monitoring|surveillance"|"serological|population screening"

(vi) Lilacs 1884 strategy to identify relevant studies:

(Chagas OR "Trypanosoma infection" OR trypanosomiasis OR "Sleeping Sickness") AND (prevalence OR seroprevalence OR Seroepidemiology OR incidence OR seropositivity OR epidemiologic OR epidemiological OR serological OR "population screening")

S2 Appendix. Assessments of study quality of the studies included in systematic review and meta-analysis

Authors/Publication Year	Design	Stars			
		Selection	Comparability	Outcome/Exposure	Total
Pushong E et al. 1964	Cross-sectional	****		**	6
Giraldo Correa LE et al. 1965	Cross-sectional	***		*	4
Puigbó JJ et al. 1966	Cross-sectional	***		*	4
Maguire J et al. 1982	Prospective cohort*	****		*	5
Maguire J et al. 1983	Cross-sectional	***		*	4
Baruffa G et al. 1983	Cross-sectional	***		**	5
Goldsmith RS et al. 1985	Prospective cohort*	****		***	7
Borges-Pereira and Coura JR. 1986	Cross-sectional	****	*	*	6
Borges-Pereira J and Coura JR. 1987	Cross-sectional	****	*	*	6
Acquatella H et al. 1987	Cross-sectional	***		**	5
Kawabata M et al. 1987	Cross-sectional	*		*	2
Weinke TH et al. 1988	Cross-sectional	**		**	4
Wisnivesky-Colli C et al. 1989	Cross-sectional	****		*	5
Arribada C et al. 1990	Cross-sectional	***		**	5
Zicker F et al. 1990	Cross-sectional	***	*	**	6
Pless M et al. 1992	Cross-sectional	****		***	7
Goldsmith RS et al. 1992	Prospective cohort*	**		***	5
Dias JC. 1993	Cross-sectional	**		*	3
Morini J et al. 1994	Cross-sectional	**		***	5
Gianella A et al. 1994	Cross-sectional	***		**	5
Rivera BT et al. 1995	Cross-sectional	****	*	***	8
Aguilera M et al. 1996	Cross-sectional	**	**	***	7
Bar ME et al. 1998	Cross-sectional	***		*	4
De Andrade ALSS et al. 1998	Cross-sectional	****	**	***	9
Madoery et al. 1998	Cross-sectional	***		**	5
Rangel-Flores H et al. 2001	Cross-sectional	**	*	*	4
Borges-Pereira J et al. 2001	Cross-sectional	***	*	**	6
Borges-Pereira J et al. 2002	Cross-sectional	***		**	5
Frédérique Brenière S et al. 2002	Cross-sectional	****		**	6

Coura J et al. 2002	Cross-sectional	***	*	*	5
Rosas F et al. 2002	Cross-sectional	***	*	*	5
Sosa-Jurado F et al. 2003	Cross-sectional	**	*	**	5
Goldbaum M et al. 2004	Cross-sectional	****	*	***	8
Chaves AM et al. 2004	Prospective cohort*	***	**	***	8
Becerril-Flores M et al. 2007	Cross-sectional	****		**	6
Sánchez Sánchez Y et al. 2007	Cross-sectional		*	***	4
Williams-Blangero S et al. 2007	Cross-sectional	****		**	6
Medrano-Mercado N et al. 2008	Cross-sectional	****		*	5
Borges-Pereira J et al. 2008	Cross-sectional	****	*	*	6
Da Silva E et al. 2010	Cross-sectional	****	*	*	6
Brum-Soares L et al. 2010	Cross-sectional	**		**	4
Moretti E et al. 2010	Cross-sectional	**		*	3
Ferreira et al. 2011	Cross-sectional	***	*	***	7
Monteon V et al. 2013	Cross-sectional	****		*	5
Ribeiro AL et al. 2013	Prospective cohort†	***	**	**	7
Ribeiro AL et al. 2014	Prospective cohort*	****		**	6
Molina-Garza Z et al. 2014	Cross-sectional	****	*	***	8
Yager J et al. 2015	Cross-sectional	***		***	6
Alroy K et al. 2015	Cross-sectional	***	*	**	6

*ECG abnormalities were reported as base characteristic in a Corte transversal study and it assessed as Corte transversal study;
†It was assessed as case-control study.

S3 Appendix. Reference list of included studies in this meta-analysis

1. Pushong E, Lopez F, Pellegrini C, Gracia J. Epidemiological investigation of the prevalence of Chagas Disease. *Bol Oficina Sanit Panam.* 1964;56:357-67.
2. Giraldo Correa LE, Bernal Tirado J, Corredor Arjona A. Comparative study of the electrocardiographic changes in 2 regions with different incidences of chagasic infections.
3. Puigbo JJ, Rhode JR, Barrios HG, Suarez JA, Yepez CG. Clinical and epidemiological study of chronic heart involvement in Chagas' disease. *Bull World Health Organ.* 1966;34:655-69.
4. Maguire JH, Mott KE, Hoff R. A three-year follow-up study of infection with *Trypanosoma cruzi* and electrocardiographic abnormalities in a rural community in Northeast Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1982;31:42-7.
5. Maguire JH, Mott KE, Lehman JS. Relationship of electrocardiographic abnormalities and seropositivity to *Trypanosoma cruzi* within a rural community in Northeast Brazil. *Am Heart J.* 1983;105:287-94.
6. Baruffa Giovanni, Alcantara Filho Alcino, JO AN. Correlação sorológica eletrocardiográfica para a doença de Chagas em populações rurais não selecionadas do Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1983;16:130-8.
7. Goldsmith RS, Zarate RJ, Zarate LG, Kagan I, Jacobson LB. Clinical and epidemiologic studies of Chagas' disease in rural communities in Oaxaca State, Mexico, and a seven-year follow-up: I. Cerro del Aire. *Bull Pan Am Health Organ.* 1985;19:120-38.
8. Pereira J, Coura J. Morbidade da doença de Chagas: estudo seccional em uma área endêmica, Virgem da Lapa, Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1986;19:139-48.
9. Pereira J, Coura J. Morbidade da doença de Chagas em populações urbanas do sertão da Paraíba. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1987;20:101-7.
10. Acquatella H, Cataliotti F, Gomez-Mancebo JR. Long-term control of Chagas disease in Venezuela: Effects on serologic findings, electrocardiographic abnormalities, and clinical outcome. *Circulation.* 1987;76:556-62.
11. Kawabata M, Uchiyama T, Mimori T, Hashiguchi Y, de Coronel VV. Association of electrocardiographic abnormalities with seropositivity to *Trypanosoma cruzi* in Ecuador. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1987;81:7-10.
12. Weinke T, Ueberreiter K, Alexander M. Cardiac morbidity due to Chagas' disease in a rural community in Bolivia. *Epidemiol Infect.* 1988;101:655-60.
13. Wisnivesky-Colli C, Ruiz AM, Gurtler RE, Solarz ND, Lazzari J, Ledesma O, et al. Dynamics of transmission of *Trypanosoma cruzi* in a rural area of Argentina. IV. Serologic, parasitologic and electrocardiographic study of the human population. *Medicina (B Aires).* 1989;49:341-50.
14. Arribada A, Apt W, Aguilera X, Solari A, Arribada A, Sandoval J. Chagas cardiopathy in the first region of Chile. Clinical, epidemiologic, and parasitologic study. *Rev Med Chil.* 1990;118:846-54.
15. Zicker F, Caetano de Almeida Netto J, Zicker EMS, Oliveira RM, Smith PG. *Trypanosoma cruzi* infection and electrocardiographic findings among active manual workers. A population-based study in central Brazil. *Int J Epidemiol.* 1990;19:182-6.
16. Pless M, Juranek D, Kozarsky P, Steurer F, Tapia G, Bermudez H. The epidemiology of Chagas' disease in a hyperendemic area of Cochabamba, Bolivia: A clinical study including electrocardiography, seroreactivity to *Trypanosoma cruzi*, xenodiagnosis, and domiciliary triatomine distribution. *Am J Trop Med Hyg.* 1992;47:539-46.
17. Goldsmith RS, Zarate RJ, Zarate LG, Morales G, Kagan I, Drickey R, et al. Clinical and epidemiologic studies of Chagas' disease in rural communities of Oaxaca, Mexico, and an eight-year followup: II. Chila. *Bull Pan Am Health Organ.* 1992;26:47-59.

18. Dias JC. The clinical, social and occupational aspects of Chagas disease in an endemic area under the control of the state of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1993;26:93-9.
19. Morini JC, Berra H, Dávila HO, Pividori JF, Bottasso OA. Electrocardiographic alteration among first degree relatives with serologic evidence of *Trypanosoma cruzi* infection. A sibship study. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1994;89:371-5.
20. Gianella A, von Poser B, Zamora P. Chagas' infection in university students of Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. A serologic-electrocardiographic study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1994;36:515-8.
21. Rivera T, Palma-Guzman R, Morales W. Seroepidemiological and clinical study of Chagas' disease in Nicaragua. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1995;37:207-13.
22. Aguilera Martín X, Arribada Contreras A, Apt Baruch W, Zulantay Alfaro I, Rodríguez T J. Detección de cardiopatía en escolares chagásicos y no chagásicoa de Combarbalá, IV región, Chile. *Rev Chil Pediatr.* 1996;67:104-8.
23. Bar ME, Pozzer DL, Alvarez BM, Vallejos JA, Storino RA. Clinical Corte transversal and epidemiologic study of Chagas disease in a rural area of the Argentinian northeast. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1998;31:199-206.
24. De Andrade ALSS, Zicker F, Rassi A, Rassi AG, Oliveira RM, Silva SA, et al. Early electrocardiographic abnormalities in *Trypanosoma cruzi*- seropositive children. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;59:530-4.
25. Madoery RJ, Lúquez H, De Loredo L, Reyes ME, De Roiter H, Lombardelli S, et al. Enfermedad de Chagas: indicador serológico y electrocardiografía convencional en un área urbana de región endémica (Deán Funes, Córdoba, Argentina). *Rev Argent Cardiol.* 1998;66:413-22.
26. Rangel-Flores H, Sánchez B, Mendoza-Duarte J, Barnabé C, Brenière FS, Ramos C, et al. Serologic and parasitologic demonstration of *Trypanosoma cruzi* infections in an urban area of central Mexico: Correlation with electrocardiographic alterations. *Am J Trop Med Hyg.* 2001;65:887-95.
27. Borges-Pereira J, Zauza PL, Galhardo MC, Nogueira J, Pereira GR, Cunha RV. Chagas' disease in a urban population of the health district of Rio Verde, Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001;34:459-66.
28. Borges-Pereira J, De Castro JAF, Furtado Campos JH, De Souza Nogueira J, Lago Zauza P, Marques P, et al. Study of the infection and morbidity of Chagas' disease in municipality of Jaão Costa - National Park Serra da Capivara, Piauí, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002;35:315-22.
29. Brenière SF, Bosseno MF, Noireau F, Yacsik N, Liegeard P, Aznar C, et al. Integrate study of a Bolivian population infected by *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002;97:289-95.
30. Coura JR, Junqueira AC, Boia MN, Fernandes O, Bonfante C, Campos JE, et al. Chagas disease in the Brazilian Amazon: IV. a new Corte transversal study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2002;44:159-65.
31. Rosas F, Guhl F, Velasco V, Jumbo L, Jaramillo C, Rodriguez D, et al. Morbilidad de la enfermedad de Chagas en fase crónica en Colombia. Detección de paeintes chagásicos con cardiopatía en un área endémica del departamento de Boyacá. *Rev Col Cardiol.* 2002;9:349-59.
32. Sosa-Jurado F, Mazariego-Aranda M, Hernández-Becerril N, Garza- Murillo V, Cárdenas M, Reyes PA, et al. Electrocardiographic findings in Mexican chagasic subjects living in high and low endemic regions of *Trypanosoma cruzi* infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003;98:605-10.
33. Goldbaum M, Ajimura FY, Litvoc J, De Carvalho SA, Eluf-Neto J. American trypanosomiasis and electrocardiographic alterations among industrial workers in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2004;46:299-302.
34. Chávez AM, Villar JC, Herrera M, Martínez LX, Cardona SR, Casadiego G. Electrocardiographic study in subjects with positive and negative serology for *Tripanosoma Cruzi*. *Rev Col Cardiol.* 2004;11:246-50.

35. Becerril-Flores MA, Rangel-Flores E, Imbert-Palafox JL, Gómez-Gómez JV, Figueroa-Gutiérrez AH. Human infection and risk of transmission of Chagas disease in Hidalgo State, Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;76:318-23.
36. Sánchez Sánchez Y, Córdova Benzaquen E, Vásquez Huerta L, Bocangel Bravo C, Velásquez Talavera R, Delgado Díaz F, et al. Estudio comparativo de alteraciones electrocardiográficas, frecuencia cardiaca y presión arterial entre seropositivos y seronegativos para *Trypanosoma cruzi* en el valle de Vitor, Arequipa-Perú. *Acta méd peru.* 2007;24:6-10.
37. Williams-Blangero S, Magalhaes T, Rainwater E, Blangero J, Corrêa-Oliveira R, VandeBerg JL. Electrocardiographic characteristics in a population with high rates of seropositivity for *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77:495-9.
38. Medrano-Mercado N, Ugarte-Fernandez R, Butrón V, Uber-Busek S, Guerra H, Araújo-Jorge T, et al. Urban transmission of Chagas disease in Cochabamba, Bolivia. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008;103:423-30.
39. Borges-Pereira J, Sarquis O, Zauza PL, Britto C, Lima MM. Epidemiology of Chagas disease in four rural localities in Jaguaruana, State of Ceará. Seroprevalence of infection, parasitemia and clinical characteristics. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41:345-51.
40. Da Silva EM, Rocha MOC, Silva RC, Paixão GC, Buzzati H, Santos AN, et al. Clinic and epidemiological study on Chagas disease in the Serra Azul district of Mateus Leme, central-western region of the State of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43:178-81.
41. Brum-Soares LM, Xavier SS, Silvestre de Sousa A, Borges-Pereira J, Marcos Bemfica Barbosa Ferreira J, Costa IR, et al. Morbidity of Chagas disease among autochthonous patients from the Rio Negro microregion, State of Amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43:170-7.
42. Moretti E, Castro I, Franceschi C, Basso B. Chagas disease: Serological and electrocardiographic studies in Wichí and Creole communities of Misión Nueva Pompeya, Chaco, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2010;105:621-6.
43. Ferreira Gonçalves J, Prata A, Dias JCP, Macêdo V. O inquérito eletrocardiográfico. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011;44:40-6.
44. Monteon V, Alducin C, Hernandez J, Ramos-Ligonio A, Lopez R. High frequency of human blood in *Triatoma dimidiata* captured inside dwellings in a rural community in the Yucatan Peninsula, Mexico, but low antibody seroprevalence and electrocardiographic findings compatible with Chagas disease in humans. *Am J Trop Med Hyg.* 2013;88:566-71.
45. Ribeiro AL, Sabino EC, Marcolino MS, Salemi VMC, Ianni BM, Fernandes F, et al. Electrocardiographic Abnormalities in *Trypanosoma cruzi* Seropositive and Seronegative Former Blood Donors. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7.
46. Ribeiro AL, Marcolino MS, Prineas RJ, Lima-Costa MF. Electrocardiographic abnormalities in elderly Chagas disease patients: 10-year follow-up of the Bambuí Cohort Study of Aging. *J Am Heart Assoc.* 2014;3:e000632.
47. Molina-Garza ZJ, Rosales-Encina JL, Mercado-Hernández R, Molina-Garza DP, Gomez-Flores R, Galaviz-Silva L. Association of *Trypanosoma cruzi* infection with risk factors and electrocardiographic abnormalities in northeast Mexico. *BMC Infect Dis.* 2014;14.
48. Yager JE, Lozano Beltran DF, Torrico F, Gilman RH, Bern C. Prevalence of Chagas Heart Disease in a Region Endemic for *Trypanosoma Cruzii* Evidence from a Central Bolivian Community. *Glo Heart.* 2015;10:145-50.
49. Aloy KA, Huang C, Gilman RH, Quispe-Machaca VR, Marks MA, Ancca-Juarez J, et al. Prevalence and Transmission of *Trypanosoma cruzi* in People of Rural Communities of the High Jungle of Northern Peru. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9.

S1 Table. General characteristics of the studies included in systematic review and meta-analysis of prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease

Lead author, Publication date	Country	Study design*	Study period	Setting study	Area	Sample size	Age group (Years) †	Women (%)	Diagnosis of Chagas disease	Adjusted by confounder
Pushong E et al. 1964 [1]	Argentina	Cross-sectional	----	Population	Rural/ Periurban	1625	6-89	----	CFT	No
Giraldo Correa LE et al. 1965 [2]	Colombia	Cross-sectional	November 1962 to August 1964	Population	Rural	204	1-61+	50.4	Blood Smear/XD/ Serology	No
Puigbó JJ et al. 1966 [3]	Venezuela	Cross-sectional	1961 to 1964	Population	Rural	1368	5-65+	52.0	CFT	No
Maguire J et al. 1982 [4]	Brazil	Prospective cohort*	July to August 1976	Population	Rural	94	<5-45+	----	CFT/IFI/XD/ Culture for T. cruzi	No
Maguire J et al. 1983 [5]	Brazil	Cross-sectional	December 1973 to February 1974	Population	Rural	644	10-75+	55.1	CFT	No
Baruffa G et al. 1983 [6]	Brazil	Cross-sectional	July 1970 to July 1975	Population	Rural	4758	5-70+	53.1	CFT	No
Goldsmith RS et al. 1985 [7]	Mexico	Prospective cohort*	1971 to 1980	Population	----	176	0-60+	50.8	IHA/DA/ CFT/XD/ Culture for T. cruzi	No
Borges-Pereira and Coura JR. 1986 [8]	Brazil	Cross-sectional	January to April 1982	Population	Urban	510	6-60+	59.9	CFT/IFI/ IHA/XD	Design: sex, age
Borges-Pereira J and Coura JR. 1987 [9]	Brazil	Cross-sectional	November 1984 to January 1985	Population	Urban	610	1-60+	64.2	IFI	Design: age, sex, city
Acquatella H et al. 1987 [10]	Venezuela	Cross-sectional	June 1981 to June 1984	Blood Donors/ Clinical/ Population	Rural/ Urban	1698	0-59+	----	CFT/IF/IHA	No
Kawabata M et al. 1987 [11]	Ecuador	Cross-sectional	----	Population/ Clinical	----	340	10-60+	60.9	IHA	No
Weinke TH et al. 1988 [12]	Bolivia	Cross-sectional	----	Population	Rural	104	15-53	100	CFT/IFI	No
Wisnivesky-Colli C et al. 1989 [13]	Argentina	Cross-sectional	August 1980 to November 1982	Population	Rural	170	0-45+	----	IHA/IFI/DA/CFT/ ELISA	No
Aribada C et al. 1990 [14]	Chile	Cross-sectional	----	Population	Rural	705	0-90	55.7	IHA/IFI/XD	No
Zicker F et al. 1990 [15]	Brazil	Cross-sectional	1988 to 1989	Population	Urban	1153	16-73	22.8	IF/ELISA/HA	Analysis: age, sex, institutions
Pless M et al. 1992 [16]	Bolivia	Cross-sectional	June to July 1988	Population	Rural	140	5-85	----	IFI/CFT	No
Goldsmith RS et al. 1992 [17]	Mexico	Prospective cohort*	1971 to 1980	Population	----	254	0-60+	50.4	IHA/DA/ CFT/XD/ Culture for T. cruzi	No

Dias JC. 1993 [18]	Brazil	Cross-sectional	1984 to 1986	Population	Urban	301	18-57	0	IHA/IFI	No
Morini J et al. 1994 [19]	Argentina	Cross-sectional	----	Population	Rural	379	33±19.0	56.2	IFI/IHA	No
Gianella A et al. 1994 [20]	Bolivia	Cross-sectional	First semester of 1993	Population	Rural/Urban	372	19.3±2.6	48.6	IHA	No
Rivera BT et al. 1995 [21]	Nicaragua	Cross-sectional	1989 to 1992	Population	Rural	81	0-50+	----	IFI/IHA	Design: age, sex
Aguilera M et al. 1996 [22]	Chile	Cross-sectional	----	Population	----	115	9-18	48.7	ELISA/IHA/IFFI	Design: age, sex, level of education
Bar ME et al. 1998 [23]	Argentina	Cross-sectional	1993	Population	Rural	132	2-79	56.1	IFI/IHA	No
De Andrade ALSS et al. 1998 [24]	Brazil	Cross-sectional	March to September 1991	Population	Rural	423	10.4±1.6	39.7	IFI/IHA/ELISA	Design: age, sex, school
Madoery R et al. 1998 [25]	Argentina	Cross-sectional	July to October 1994	Population	Urban	983	10-69	----	IHA/IF/ELISA	No
Rangel-Flores H et al. 2001 [26]	Mexico	Cross-sectional	----	Population	Urban	129	2-66	----	ELISA/Western-Blotting	Design: age, sex, same geographic region
Borges-Pereira J et al. 2001 [27]	Brazil	Cross-sectional	1998	Population	Urban	382	1-60+	56.5	IFI/IHA/ELISA	Design: age, sex
Borges-Pereira J et al. 2002 [28]	Brazil	Cross-sectional	----	Population	Rural/Urban	330	1-60+	48.1	IFI/IHA/ELISA/XD/PCR	No
Frédérique Brenière S et al. 2002 [29]	Bolivia	Cross-sectional	1994 to 1995	Population	Rural	232	1-45+	43.1	IF/ELISA/PCR	No
Coura J et al. 2002 [30]	Brazil	Cross-sectional	----	Population	----	193	0-60+	55.6	IFI/ELISA	Design: age and sex
Rosas F et al. 2002 [31]	Colombia	Cross-sectional	----	Population	Rural/Urban	405	>15	58.0	EISA/IFI	Design: age and sex
Sosa-Jurado F et al. 2003 [32]	Mexico	Cross-sectional	----	Population	Rural	79	6-73	82.0	IFI/ELISA/PCR	Design: age
Goldbaum M et al. 2004 [33]	Brazil	Cross-sectional	1980	Population	Urban	921	15-50+	----	IF/HA/CFT	Design: age, occupation
Chaves AM et al. 2004 [34]	Colombia	Prospective Cohort*	1999 to 2004	Blood Donors	Urban	2130	18-50	35.9	ELISA/IHA/IFI	Analysis: age, socioeconomic status, diastolic blood pressure, total cholesterol and glucose intolerance or diabetes

Becerril-Flores M et al. 2007 [35]	Mexico	Cross-sectional	----	Population	----	214	7-64	52.7	ELISA/IHA	No
Sánchez Sánchez Y et al. 2007 [36]	Peru	Cross-sectional	2004 to 2005	population	Rural	75	>15	64	Serology	Design: age and sex
Williams-Blangero S et al. 2007 [37]	Brazil	Cross-sectional	----	Population	Rural	1389	41.9	50.3	ELISA/HA/IF	No
Medrano-Mercado N et al. 2008 [38]	Bolivia	Cross-sectional	1995 to 1999	Population	Urban	1831	5-13	48.0	IHA/ELISA	No
Borges-Pereira J et al. 2008 [39]	Brazil	Cross-sectional	March 2000 to April 2002	Population	Rural	34	0-70	52.9	IF/IHA/ELISA/XD/PCR	Design: age and sex
Da Silva E et al. 2010 [40]	Brazil	Cross-sectional	May to August 2007	Population	Rural	44	2-97	56.0	IHA/ELISA	Design: not specify characteristics
Brum-Soares L et al. 2010 [41]	Brazil	Cross-sectional	----	Population	----	76	7-81	----	IF/ELISA/Immunoblot/DX/PCR	No
Moretti E et al. 2010 [42]	Argentina	Cross-sectional	----	Population	Rural/Urban	469	0-61+	----	ELISA/IHA	No
Ferreira et al. 2011 [43]	Brazil	Cross-sectional	1977 to 1981	Population	Rural	4240	0-59+	60.3	IFI	Design: age and sex
Monteon V et al. 2013 [44]	Mexico	Cross-sectional	----	Population	Rural	128	47	85.9	ELISA/IFI	No
Ribeiro AL et al. 2013 [45]	Brazil	Prospective cohort*	July 2008 to October 2010	Population/ Blood Donors	Urban	987	20-60+	49.1	ELISA/HA/IF	Design: site, sex, age, year of blood donation
Ribeiro AL et al. 2014 [46]	Brazil	Prospective cohort*	February to May 1997	Population	----	1462	63-74	60.9	IHA/ELISA	Analysis: age, sex, conventional risk factors
Molina-Garza Z et al. 2014 [47]	Mexico	Cross-sectional	April 2007 to September 2011	Population	Rural/ Suburban/ Urban	70	17-79	59.3	ELISA/IHA	Design: age, sex, residents of the same localities
Yager J et al. 2015 [48]	Bolivia	Cross-sectional	January 2009 to May 2010	Population	Rural/ Periurban	604	20-60+	64.1	Immunochromatogram-hic/ ELISA/IHA	Analysis: age, serostatus
Alroy K et al. 2015 [49]	Peru	Cross-sectional	December 2009 to October 2010	Population	Rural	260	2-60+	58.5	ELISA/ Immunoblot (TESA-blot)	Design: age and sex

*ECG abnormalities were reported as base characteristic in a cross-sectional study; †Age of range or mean and standard deviation; ----=Missing data; IFI=Immunofluorescence Indirect; IHA=Indirect Haemagglutination; IF=Immuofluorescence; DA= Direct Agglutination; CFT= Complement Fixation Test; HA= Haemagglutination; ELISA=Enzyme Linked Immunosorbent Assay; XD=Xenodiagnostic; PCR=Polymerase Chain Reaction.

S2 Table. Definition of ECG abnormalities in each study included in systematic review and meta-analysis

Lead author, Publication date	ECG Abnormalities Definition
Pushong E et al. 1964 [1]	Sokolow and Lyon criteria were used to ventricular hypertrophies, and the Goldberger criteria for QTc and QT intervals, considering the ones above 1.09 and 1.08 to be pathological for males and females, respectively.
Giraldo Correa LE et al.1965 [2]	ECGs with one or more of the following findings were considered abnormal: extrasystoles, left and right cavity enlargement; complete or incomplete atrioventricular block; complete and incomplete right and left bundle branch block, myocardial and subendocardial lesion, ischemia, overload and infarction.
Puigbó JJ et al. 1966 [3]	The following criteria were used in the interpretation of ECGs: ventricular repolarization disorders, cardiac rhythm disorders, disorders of intraventricular conduction, QRS voltage alterations, ventricular hypertrophy, incomplete left bundle branch block, unclassified intraventricular block. The population was divided into three groups: no evidence of heart disease, definite heart disease and doubtful heart disease (ECG with slight abnormalities).
Maguire J et al. 1982 [4]	ECGs interpreted according to a modification of the Minnesota Code. ECGs were classified as normal, borderline or abnormal according to criteria.
Maguire J et al. 1983 [5]	An amplification of the Minnesota Code was used to classify the ECGs. The amplified code includes criteria for complex rhythm and conduction disturbances adapted from the New York Heart Association and separate criteria for young patients. ECGs with one or more of the following alterations were classified as abnormal: large Q or QS waves, pattern of ventricular hypertrophy (tall precordial R waves) with ST segment and T wave alterations, ST and T alterations of ischemic type, atrioventricular block, ventricular conduction defects; arrhythmias (supraventricular or ventricular tachycardia. multifocal or repetitive ventricular extrasystoles. junctional rhythm. atrial fibrillation or flutter).
Baruffa G et al. 1983 [6]	Interpretation of the ECGs was made according to the American Heart Association criteria. ECG abnormalities were classified and grouped as follows: I) alterations of the stimulus formation: sinus tachycardia (HR \geq 100 bpm), sinus bradycardia (HR < 60 bpm), supraventricular extrasystoles, unifocal and/or multifocal ventricular extrasystoles, flutter and atrial fibrillation and nodal rhythm. II) Alterations of the stimulus conduction: atrioventricular blocks, complete or incomplete branch blocks and intraventricular conduction disturbances. III) ST and T alterations. IV) Overload of cavities. V) Alterations suggestive of necrosis and/or fibrosis and VI) Low voltage QRS.
Goldsmith RS et al. 1985 [7]	A cardiologist recorded the rhythm, rate, PQRSTU contours, PR interval, and QRS axis, duration, and configuration of each ECG in accordance with standard criteria but without knowledge of the patient's serologic status.
Borges-Pereira and Coura JR. 1986 [8]	ECGs interpretation was based on the New York Heart Association – NYHA, considering normal heart frequencies from 60 to 120 beats per minute. To define the degree of severity of the cardiac lesion among the subjects positive to Chagas, World Health Organization (WHO)/ American Health Organization (PAHO) criteria were used. All ECGs were considered abnormal.
Borges-Pereira J and Coura JR. 1987 [9]	ECGs interpretation was based on the New York Heart Association (NYHA), considering as normal heart frequencies between 60 and 120 beats per minute.
Acquatella H et al.1987 [10]	Electrocardiographic criteria for abnormality were classified according to the New York Heart Association (NYHA) and the electrocardiographic classifications of normal, borderline, and abnormal for the study of Chagas disease of Maguire et al, were used
Kawabata M et al. 1987 [11]	ECGs were analyzed according to a modification of the Minnesota Code. Classification of ECGs as abnormal was based on the following criteria: abnormal Q or QR waves, pattern of ventricular hypertrophy with ST segment and T wave alterations, ST and T alterations of ischemic type, atrioventricular block, ventricular conduction defects and arrhythmias (supraventricular or

	ventricular tachycardia, multifocal or repetitive ventricular extrasystoles, junctional rhythm, atrial fibrillation or flutter).
Weinke TH et al. 1988 [12]	ECGs were coded independently by two cardiologically experienced physicians, by a modified Minnesota Code. Classification of ECGs as abnormal was based on the following criteria: ventricular conduction defects, arrhythmias (repetitive or multifocal extrasystoles, bradycardia, supraventricular or ventricular tachycardia), ST and T alterations of ischemic type, atrioventricular block, abnormal Q or QS waves, pattern of ventricular hypertrophy with ST segment and T wave alterations.
Wisnivesky-Colli C et al. 1989 [13]	Electrocardiographic abnormalities were classified as: intraventricular blocks (complete or incomplete; isolated ones or associated with other disturbances), arrhythmias and disturbances in ventricular repolarization. Diagnosis of right bundle branch block (RBBB) and left anterior hemiblock (LAH) were done according to classical criteria and Rosenbaum's description, respectively. Frequencies lower than 60 bpm were considered as sinus bradycardia.
Arribada C et al. 1990 [14]	The electrocardiographic diagnosis was made according to the "diagnostic criteria for chronic Chagasic cardiopathy". Any case with symptomatology and ECG alterations was considered as Chronic Chagasic cardiopathy, excluding other cardiopathies with the epidemiologic questionnaires, physical exam, and laboratory findings.
Zicker F et al. 1990 [15]	Interpretation of the ECGs traces was conducted independently by two of us (FZ and JCAN) using a classification system based on the Minnesota code adapted for Chagas's disease. Traces were classified as normal, borderline or abnormal, according to the criteria of Maguire et al. An ECG was classified as abnormal in the presence of one or more of: large Q or QS waves; pattern of ventricular hypertrophy (tall precordial R waves) with ST segment and T wave alteration; A-V block; ventricular conduction defects; complex arrhythmias; ventricular premature beats when present in 10% or more of recorded cycles or when multifocal or bigeminy; and sinus bradycardia (<50 bpm) associated with extrasystoles or primary and diffuse changes in ventricular repolarization.
Pless M et al. 1992 [16]	Electrocardiographic criteria for abnormalities were based on standard definitions.
Goldsmith RS et al. 1992 [17]	A cardiologist recorded the rhythm, rate, PQRSTU contours, PR interval, and QRS axis, duration and configuration of each ECG in accordance with standard criteria but without knowledge of the patient's serologic status.
Dias JC. 1993 [18]	ECGs were analyzed according to Laranja et al criteria, and Faria systematization.
Morini J et al. 1994 [19]	Non-specified.
Gianella A et al. 1994 [20]	ECGs were interpreted following the criteria of the New York Heart Association (cardiac rhythm alterations, ventricular repolarization changes, and intraventricular conduction disorders).
Rivera BT et al. 1995 [21]	Non-specified.
Aguilera M et al. 1996 [22]	ECGs were blind-interpreted by criteria of Panamerican Health Organization for chronic cardiomyopathy Chagas.
Bar ME et al. 1998 [23]	ECGs alterations were classified according to Tranchesi.
De Andrade ALSS et al. 1998 [24]	ECGs traces were interpreted by two independent cardiologist readers following a coding system adapted for Chagas' disease. An ECG was classified as abnormal in the presence of at least one of the following: large Q or QS waves, pattern of ventricular hypertrophy (tall precordial R waves) with ST segment and T wave alteration, A-V block, ventricular conduction defects, complex arrhythmia, ventricular premature beats when present in 10% or more of recorded cycles or when multifocal or bigeminy, and sinus bradycardia (<50 bpm) associated with extrasystoles or primary and diffuse changes in ventricular repolarization. Complete bundle branch block was defined as rR' or R waves in V1 with a duration ≥ 0.12 sec.

Madoery R et al. 1998 [25]	ECGs were interpreted by Consejo Argentino de la Enfermedad de Chagas y Cardiopatías Infecciosas.
Rangel-Flores H et al. 2001[26]	ECGs were classified as normal or abnormal according to the New York Heart Association criteria.
Borges-Pereira J et al. 2001 [27]	ECGs analysis was made by two observers, considering heart frequencies 60 to 120 bpm and sinus rhythm as normal.
Borges-Pereira J et al. 2002 [28]	ECGs analysis was made by two observers, considering heart frequencies 60 to 120 bpm and sinus rhythm as normal.
Frédérique Brenière S et al. 2002 [29]	ECGs showing atrioventricular block, incomplete and complete right bundle branch block, left anterior hemiblock, multifocal ventricular extrasystole, or junctional rhythm were considered abnormal.
Coura J et al. 2002 [30]	Non-specified.
Rosas F et al. 2002 [31]	ECGs were interpreted by criteria of group of experts in epidemiological studies of Chagas diseases in 1998, according methodology proposed by Lazzari.
Sosa-Jurado F et al. 2003 [32]	The criteria for ECGs interpretation were those utilized by the Department of Electrocardiography and Electrophysiology of the Instituto Nacional de Cardiología based on the deductive method of ECG interpretation. Special attention was given to the presence of arrhythmias, A-V heart block, bundle branch blocks, fascicular block, atrial and ventricular hypertrophy, and repolarization abnormalities with change in the ventricular gradient.
Goldbaum M et al. 2004 [33]	Non-specified.
Chaves AM et al. 2004 [34]	ECGs were initially classified as normal (Yes/No). Whenever abnormality was detected, at least one of the following findings had to be classified: presence/absence of “definitive” rhythm or conduction abnormalities or other findings, as has been defined for the context of Chagas Disease. These included RBBB, ventricular extrasystoles, atrioventricular blocks, and auricular fibrillation. Traces suspected (or “with a pattern”), of intraventricular conduction alterations (with complex QRS of compatible morphology, but duration below 120 ms, or PR intervals consistently not exceeding 200ms) or ectopic supraventricular heart beats. Findings reported as “other abnormalities” included signs of ventricular hypertrophy, alterations of T wave or Q wave pathological.
Becerril-Flores M et al. 2007 [35]	Classification of ECGs results as normal or abnormal was made according to the deductive method of ECG interpretation and the criteria of our medical personnel.
Sánchez Sánchez Y et al. 2007 [36]	Non-specified.
Williams-Blangero S et al. 2007 [37]	Non-specified.
Medrano-Mercado N et al. 2008 [38]	Non-specified.
Borges-Pereira J et al. 2008 [39]	Reading of ECGs traces used Minnesota code adapted for chronic Chagas cardiopathy.
Da Silva E et al. 2010 [40]	Non-specified. ECGs rhythm and frequencies were analyzed.
Brum-Soares L et al. 2010 [41]	ECGs were interpreted according to the New York Heart Association criteria. ECGs analyses were made by two blinded cardiologists, according to Minnesota code, adapted for Chagas disease. The following alterations were considered as suggestive of Chagas disease: right complete branch block associated or not with anterior left hemiblock, ventricular extrasystoles, sinus bradycardia (HR <50 bpm), second degree atrioventricular block, primary alterations of ventricular repolarization, presence of electrically inactive areas, sinus node dysfunction, non-sustained ventricular tachycardia, atrial fibrillation, total atrioventricular block and left branch block.
Moretti E et al. 2010 [42]	Electrocardiographic abnormalities were reported according to criteria established by Lazzari et al 1998.

Ferreira et al. 2011 [43]	ECGs were interpreted according to the Buenos Aires Code.
Monteon V et al. 2013 [44]	ECGs were analyzed by a cardiologist; special care was given to rhythm, conduction, and ischemia findings.
Ribeiro AL et al. 2013 [45]	ECGs were classified by Minnesota Code Criteria. In this study, major and minor ECG abnormalities were defined as set out in Prineas et al, modified to include ECG abnormalities typical of Chagas cardiomyopathy with prognostic significance, as frequent supraventricular or ventricular premature beats.
Ribeiro AL et al. 2014 [46]	Classified by the Minnesota Code Criteria. In this study, major and minor ECG abnormalities were defined as set out in Prineas et al. modified to include ECG abnormalities typical of Chagas cardiomyopathy with prognostic significance, as frequent supraventricular or ventricular premature beats.
Molina-Garza Z et al. 2014 [47]	ECGs results (normal or abnormal) were analyzed and interpreted by blinded evaluators, and ECG results were classified according to the deductive method of ECG interpretation and criteria by our medical personnel.
Yager J et al. 2015 [48]	ECGs were coded and interpreted according to established criteria.
Alroy K et al. 2015 [49]	An ECG was considered to have abnormalities consistent with Chagas cardiomyopathy in the presence of one or more of the following: atrial fibrillation/flutter, junctional rhythm, ventricular tachycardia (sustained or non-sustained), ventricular extrasystoles (multiform, paired, or salvos), sinus node dysfunction, sinus bradycardia (<50 bpm), second degree AV block (type I or type II), third degree AV block, AV disassociation, left or right bundle branch block, left anterior or left posterior fascicular block, or trifascicular block.

S3 Table. Summary of studies and participants characteristics (49 included studies)

Characteristics	Number or n (%)
Eligible studies	
No. of unique studies	49
Participants	
Total	34,023
CD (Positive)	12,276
Non-CD (Negative)	21,747
Range of age (years)	0-97
Women proportion (n=38)	54.4%
Publication Year	
1964-1989	13 (26.53)
1990-2000	12 (24.49)
2001-2010	17 (34.69)
2011-2015	7 (14.29)
Location	
Brazil	19 (38.78)
Mexico	7 (14.29)
Argentina	6 (12.24)
Bolivia	6 (12.24)
Colombia	3 (6.12)
Chile	2 (4.08)
Peru	2 (4.08)
Venezuela	2 (4.08)
Others (Ecuador y Nicaragua)	2 (4.08)
Design	
Corte transversal	43 (87.76)
Cohort	6 (12.24)
Area	
Rural	22 (44.90)
Urban	11 (22.45)

Rural/Urban	5 (10.20)
Rural/Periurban	2 (4.08)
Rural/Suburban/Urban	1 (2.04)
Non-specified	8 (16.33)
Risk of Bias	
High	11 (22.45)
Medium	28 (57.14)
Low	10 (20.41)

Values are number of studies (%) or range. CD=Chagas disease.

S4 Table. Sensitivity analysis: complete right bundle branch block (CRBBB)

Characteristics	Number of studies	Total CD with CAs	CRBBB CD	Total Non-CD with CAs	CRBBB Non-CD	OR (95% CI)	Heterogeneity		p-value Cochran's Q	p-value Meta-regression*
							I ² (%)	p-value		
Publication year										
1983-2000	14	1,525	409	2,027	76	4.97 (2.68-9.24)	61.3	0.001	0.766	0.723
2001-2015	10	1,111	301	1,333	96	4.20 (2.11-8.37)	71.1	0.000		
Location										
Brazil	10	1,691	466	2,349	77	8.43 (5.21-13.62)	42.6	0.074	0.000	0.012
Argentina	4	169	21	150	11	1.31 (0.22-7.73)	69.8	0.019		
Mexico	3	102	23	56	2	5.02 (1.25-20.10)	0.0	0.562		
Bolivia	2	121	6	199	1	4.44 (0.51-38.89)	0.0	0.328		
Colombia	2	183	58	267	56	1.80 (1.15-2.81)	0.0	0.591		
Chile	1	51	5	197	12	1.68 (0.56-4.99)	----	----		
Peru	1	10	1	13	0	2.78 (0.08-92.10)	----	----		
Venezuela	1	309	130	129	12	7.08 (3.75-13.37)	----	----		
Design										
Corte transversal	20	1,973	530	2,420	98	4.61 (2.74-7.78)	61.0	0.000	0.479	0.993
Cohort	4	663	180	940	74	4.65 (1.68-12.84)	80.8	0.001		
Area										
Rural	9	593	74	1,602	56	2.09 (0.95-4.60)	45.2	0.067	0.044	0.024
Urban	8	885	294	611	54	9.01 (3.45-23.55)	72.6	0.001		
Number of participants[†]										
≤100	1	10	1	13	0	2.78 (0.08-92.10)	----	----	0.001	0.048
101-1000	13	627	113	695	42	2.49 (1.28-4.83)	37.8	0.082		
>1000	10	1,999	596	2,652	129	6.90 (4.12-11.55)	71.0	0.000		
Age of participants										
All ages	14	1,702	448	2,561	101	5.04 (3.26-7.80)	42.2	0.048	0.007	0.721
≥ 10 years	9	918	253	789	69	4.36 (1.78-10.66)	75.4	0.000		
Only children	1	16	9	10	1	11.57 (1.2-114.3)	----	----		

Definition of CAs										
Specific definitions	21	2,422	652	3,208	163	4.76 (3.11-7.27)	59.1	0.000	0.682	0.553
Non-specified/no clear	3	214	58	152	8	2.87 (0.17-48.48)	87.4	0.000		
Test for the diagnoses CD										
One test for CD	4	491	76	1,360	34	4.07 (2.49-6.67)	11.6	0.335	0.672	0.610
More one test for CD	20	2,145	634	2,000	137	4.41 (2.67-7.29)	69.0	0.000		
Confounders adjustment‡										
Yes	8	568	190	338	23	7.29 (2.55-20.88)	66.7	0.004	0.861	0.251
No	16	2,068	520	3,022	148	3.92 (2.39-6.43)	65.7	0.000		
Risk of bias										
High	4	114	22	65	4	1.70 (0.24-11.99)	31.4	0.224	0.148	0.521
Medium	16	2,214	584	2,959	120	4.76 (2.92-7.79)	66.1	0.000		
Low	4	308	104	336	47	5.99 (1.52-23.64)	75.7	0.006		

*p-value for heterogeneity was evaluated using random-effects meta-regression; †Total positive and negative for Chagas disease; ‡Adjusted by confounders as age, sex and others in design. CD= Chagas disease; CAs= ECG abnormalities; CRBBB= complete right bundle branch block; OR=odds ratio.

S5 Table. Sensitivity analysis: left anterior fascicular block (LAFB)

Characteristics	Number of studies	Total CD with CAs	LAFB CD	Total Non-CD with CAs	LAFB Non-CD	OR (95% CI)	Heterogeneity		p-value Cochran's Q	p-value Meta-regression*
							I ² (%)	p-value		
Publication year										
1983-2000	17	1,572	428	2,056	270	1.37 (0.92-2.04)	50.7	0.009	0.595	0.277
2001-2015	13	2,347	306	1,984	149	1.89 (1.22-2.92)	60.5	0.002		
Location										
Brazil	15	2,946	506	3,022	273	1.90 (1.24-2.90)	69.8	0.000	0.245	0.538
Argentina	4	169	20	150	12	1.43 (0.54-3.79)	26.5	0.253		
Bolivia	2	121	23	199	9	1.91 (0.56-6.50)	26.9	0.242		
Colombia	2	183	39	267	43	1.93 (1.16-3.22)	0.0	0.773		
Chile	2	73	11	197	37	0.77 (0.34-1.77)	0.0	0.404		
Mexico	2	94	4	52	6	0.29 (0.07-1.23)	0.0	0.680		
Nicaragua	1	14	1	11	1	0.77 (0.04-13.87)	----	----		
Peru	1	10	2	13	3	0.83 (0.11-6.26)	----	----		
Venezuela	1	309	128	129	36	1.83 (1.17-2.85)	----	----		
Design										
Corte transversal	25	3,001	585	2,944	332	1.50 (1.11-2.01)	42.4	0.014	0.026	0.404
Cohort	5	918	149	1,096	88	1.78 (0.83-3.84)	75.7	0.002		
Area										

Rural	12	1,582	169	2,104	228	0.95 (0.63-1.42)	35.4	0.107	0.000	0.001
Urban	9	1,143	339	781	101	3.11 (1.73-5.58)	67.2	0.002		
Number of participants[†]										
≤100	1	10	2	13	3	0.83 (0.11-6.26)	----	----	0.786	0.428
101-1000	18	946	164	902	91	1.20 (0.66-2.16)	57.0	0.002		
>1000	11	2,963	568	3,125	326	1.78 (1.32-2.39)	56.8	0.010		
Age of participants										
All ages	16	2,213	380	2,381	267	1.45 (0.96-2.17)	53.8	0.006	0.247	0.447
≥ 10 years	12	1,668	350	1,649	151	1.83 (1.20-2.78)	59.8	0.004		
Only children	2	38	4	10	1	0.40 (0.03-5.88)	0.0	0.483		
Definition of CAs										
Specific definitions	25	3,680	713	3,859	403	1.70 (1.25-2.32)	60.5	0.000	0.167	0.229
Non-specified/no clear	5	239	21	181	17	1.01 (0.50-2.03)	0.0	0.972		
Test for the diagnoses CD										
One test for CD	5	1,455	145	1,833	175	1.13 (0.58-2.20)	73.4	0.005	0.066	0.213
More one test for CD	25	2,464	589	2,207	245	1.78 (1.29-2.44)	46.3	0.006		
Confounders adjustment[‡]										
Yes	12	1,826	238	992	71	1.98 (0.98-4.00)	70.0	0.000	0.910	0.259

No	18	2,093	496	3,048	349	1.50 (1.14-1.96)	35.6	0.067		
Risk of bias										
High	5	131	21	87	15	0.88 (0.30-2.57)	35.2	0.187	0.056	0.258
Medium	17	2,225	529	2,977	311	1.79 (1.36-2.37)	34.7	0.079		
Low	8	1,563	184	976	94	1.38 (0.66-2.91)	73.7	0.000		

*p-value for heterogeneity was evaluated using random-effects meta-regression; †Total positive and negative for Chagas disease; ‡ Adjusted by confounders as age, sex and others in design. CD= Chagas disease; CAs=ECG abnormalities; LAFB=left anterior fascicular block; OR=odds ratio.

S6 Table. Sensitivity analysis: ventricular extrasystoles (VE)

Characteristics	Number of studies	Total CD with CAs	VE CD	Total Non-CD with CAs	VE Non-CD	OR (95% CI)	Heterogeneity		p-value Cochran's Q	p-value Meta-regression*
							I ² (%)	p-value		
Publication year										
1964-2000	16	1,576	386	2,630	278	1.57 (0.95-2.59)	65.5	0.000	0.721	0.798
2001-2015	9	1,566	202	1,119	89	1.66 (1.01-2.74)	48.8	0.048		
Location										
Brazil	11	2,177	378	2,162	264	1.39 (0.85-2.29)	74.6	0.000	0.166	0.672
Argentina	5	211	34	734	33	3.01 (0.90-10.06)	47.6	0.106		
Mexico	3	102	16	56	3	3.43 (0.92-12.79)	0.0	0.964		
Colombia	2	183	16	267	20	1.32 (0.48-3.60)	40.7	0.194		
Chile	1	51	2	197	5	1.57 (0.30-8.32)	----	----		
Bolivia	1	95	1	193	0	4.10 (0.14-123.18)	----	----		
Nicaragua	1	14	0	11	2	0.17 (0.01-4.14)	----	----		
Venezuela	1	309	141	129	40	1.87 (1.21-2.89)	----	----		
Design										
Corte transversal	22	2,963	562	3,495	349	1.54 (1.06-2.26)	63.1	0.000	0.202	0.403
Cohort	3	179	26	254	18	2.23 (1.11-4.47)	0.0	0.731		
Area										
Rural	9	1,530	191	2,075	217	1.14 (0.61-2.14)	62.8	0.006	0.018	0.225
Urban	9	896	214	629	73	1.98 (1.09-3.62)	65.3	0.003		

Number of participants[†]										
101-1000	14	621	90	726	47	1.65 (0.66-4.12)	64.7	0.000	0.989	0.809
>1000	11	2,521	498	3,023	320	1.60 (1.16-2.20)	55.4	0.013		
Age of participants										
All ages	16	2,223	415	2,955	294	1.65 (1.15-2.38)	45.8	0.024	0.535	0.561
≥ 10 years	9	919	173	794	73	1.37 (0.62-3.06)	74.4	0.000		
Definition of CAs										
Specific definitions	20	2,871	542	2,997	326	1.53 (1.06-2.22)	61.0	0.000	0.092	0.468
Non-specified/no clear	5	271	46	752	41	2.13 (0.67-6.79)	47.6	0.106		
Test for the diagnoses CD										
One test for CD	5	1,487	179	2,404	239	0.84 (0.47-1.50)	68.0	0.014	0.000	0.010
More one test for CD	20	1,655	409	1,345	128	2.14 (1.44-3.18)	44.7	0.017		
Confounders adjustment[‡]										
Yes	9	1,531	212	817	80	1.66 (0.89-3.09)	63.1	0.005	0.513	0.010
No	16	1,611	376	2,932	287	1.62 (1.03-2.56)	59.6	0.001		
Risk of bias										
High	4	115	35	70	27	0.57 (0.08-3.93)	71.9	0.014	0.009	0.036
Medium	16	1,757	410	2,869	269	1.94 (1.30-2.89)	52.7	0.007		
Low	5	1,270	143	810	70	1.58 (0.89-2.81)	47.0	0.110		

*p-value for heterogeneity was evaluated using random-effects meta-regression; [†]Total positive and negative for Chagas disease; [‡] Adjusted by confounders as age, sex and others in design. CD= Chagas disease; CAs=ECG abnormalities; VE=ventricular extrasystoles; OR=odds ratio.

S7 Table. Assessment of small study effects by Egger's test

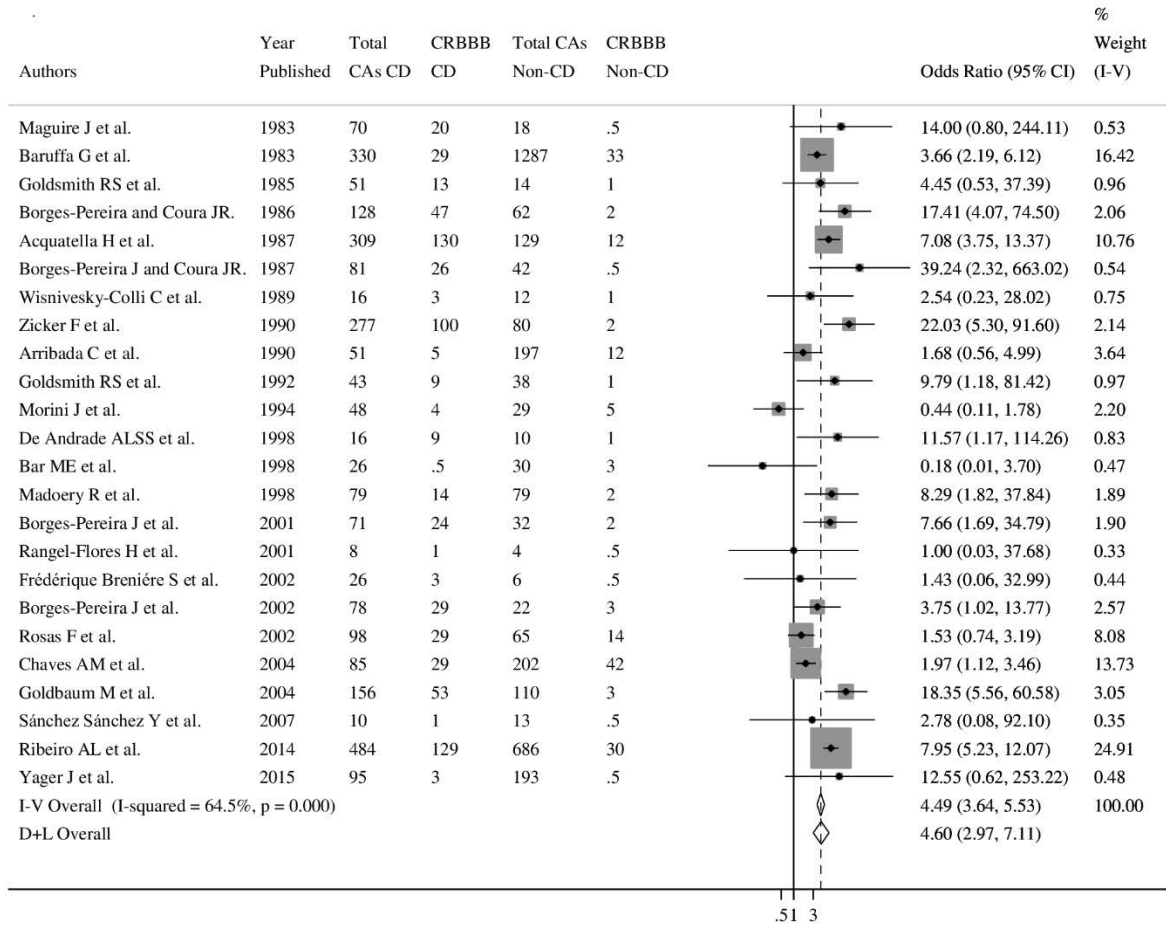
Variable	p-value of Egger's Test
Overall	
Prevalence of ECG abnormalities	0.202
Ventricular conduction defects	
Incomplete right bundle branch block	0.478
Complete right bundle branch block	0.962
Incomplete left bundle branch block	0.990
Complete left bundle branch block	0.565
Left anterior fascicular block	0.601
Left posterior fascicular block	0.552
Complete Right bundle branch block and left anterior fascicular block	0.671
Atrioventricular block	
First degree left atrioventricular block	0.300
Second degree left atrioventricular block	0.766
Third degree left atrioventricular block	0.592
Arrhythmias	
Atrial fibrillation	0.568
Atrial fibrillation or flutter	0.085
Ventricular extrasystoles	0.352
Supraventricular extrasystoles	0.496
Other	
Low voltage QRS	0.715

S8 Table. Discriminatory capacity of the ECG for the diagnosis of Chagas diseases

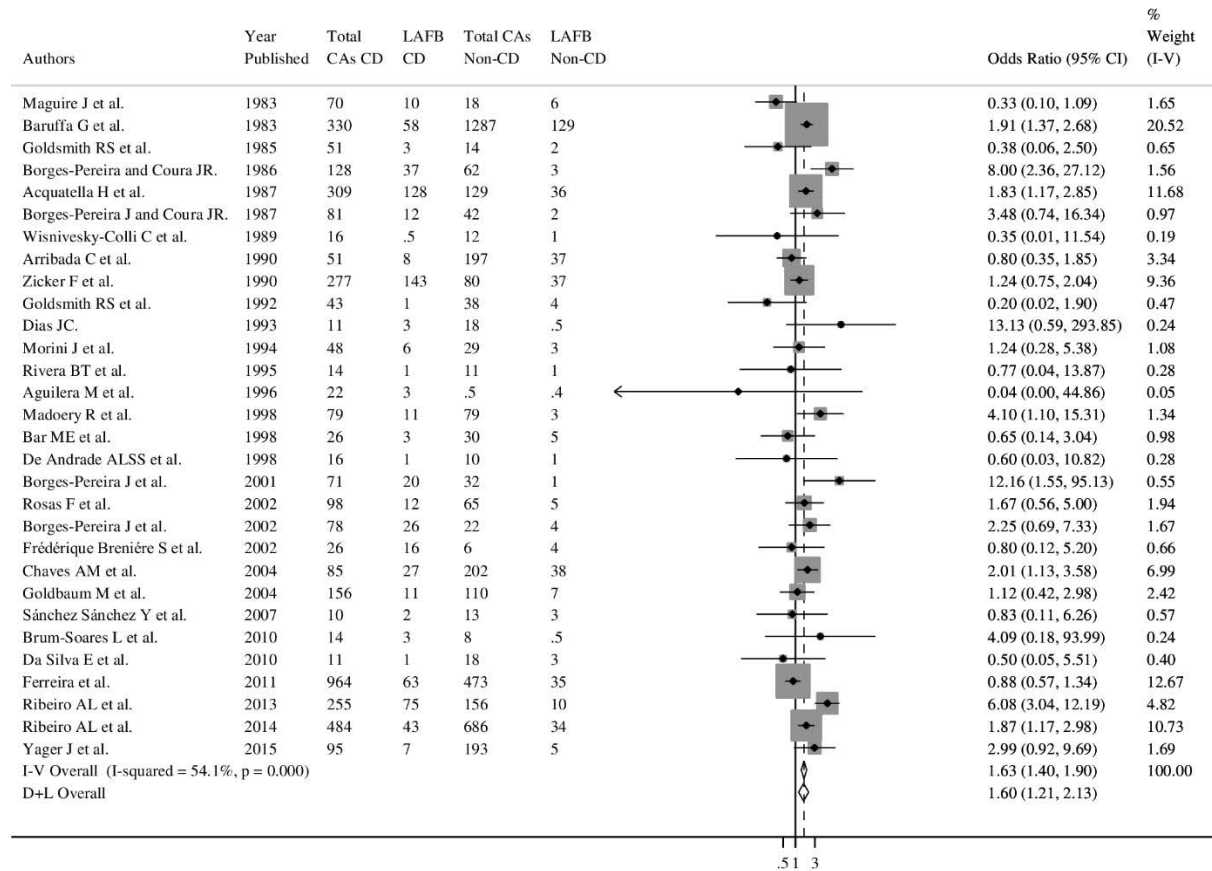
Characteristics	Number of studies (n)	True Positive (n)	False Positive (n)	False Negative (n)	True Negative (n)	Sensitivity (%) 95% CI	Specificity (%) 95% CI	Positive Predictive Value (%) 95% CI	Negative Predictive Value (%) 95% CI
ECG abnormalities	49	4922	5243	7354	16504	40.09 (39.23-40.97)	75.89 (75.32-76.46)	48.42 (47.62-49.22)	69.18 (68.83-69.52)
Specific ECG abnormalities									
Ventricular extrasystoles	25	588	366	2554	3383	18.71 (17.36-20.12)	90.24 (89.24-91.17)	61.64 (58.72-64.47)	56.98 (56.50-57.47)
LAFB	30	734	419	3185	3625	18.73 (17.52-19.99)	89.63 (88.65-90.55)	63.66 (61.04-66.20)	53.20 (52.75-53.66)
Atrial fibrillation or flutter	13	78	40	2576	3710	2.94 (2.33-3.65)	98.93 (98.55-99.24)	66.10 (57.20-74.00)	59.02 (58.84-59.20)
The first AV-B	21	161	77	2951	3380	5.17 (4.42-6.01)	97.77 (97.22-98.24)	67.65 (61.55-73.20)	53.39 (53.15-53.63)
Complete RBBB	24	710	169	1926	3191	26.93 (25.25-28.67)	94.97 (94.18-95.68)	80.77 (78.17-83.13)	62.36 (61.79-62.93)
Complete RBBB+LAFB	15	167	34	1724	1574	8.83 (7.59-10.20)	97.89 (97.06-98.53)	83.08 (77.36-87.59)	47.73 (47.33-48.12)

CI= Confidence interval; ECG=Electrocardiogram; LAFB=Left anterior fascicular block; AV- B=Atrioventricular block; RBBB=Right bundle branch block.

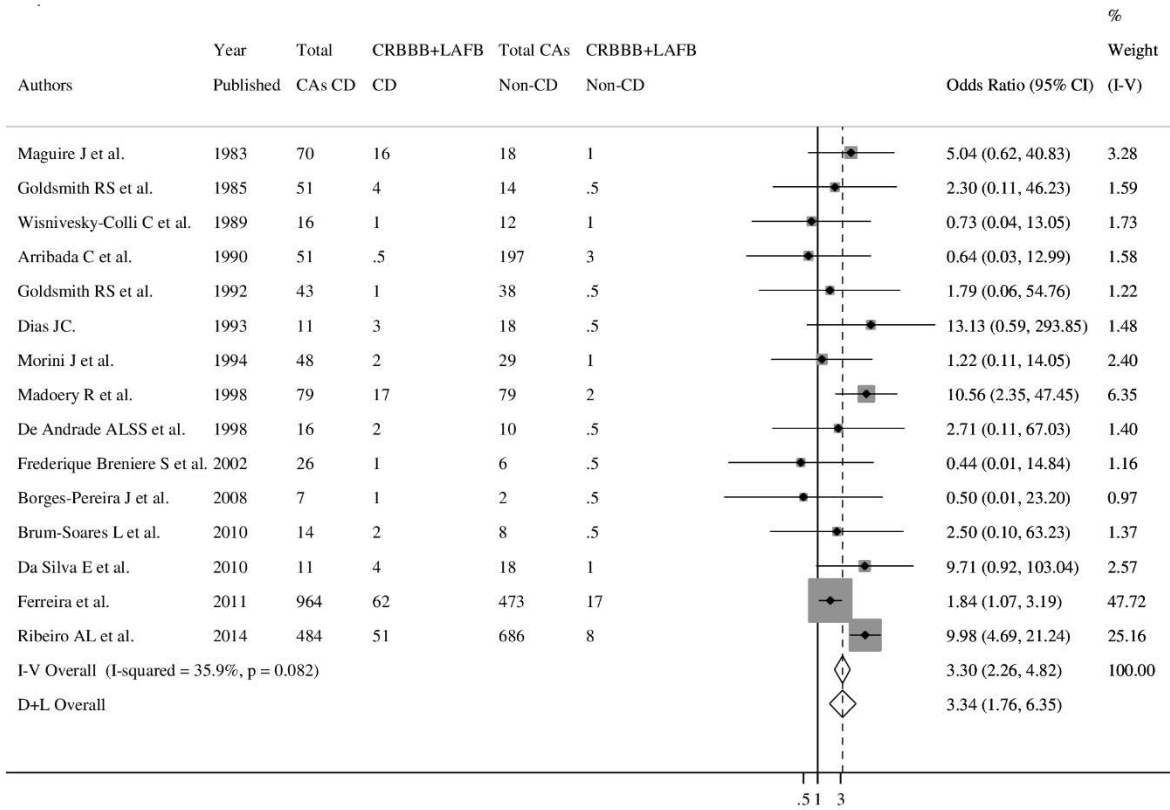
S1 Fig. Pooled odds ratios for the complete right bundle branch block (CRBBB) in Chagas disease



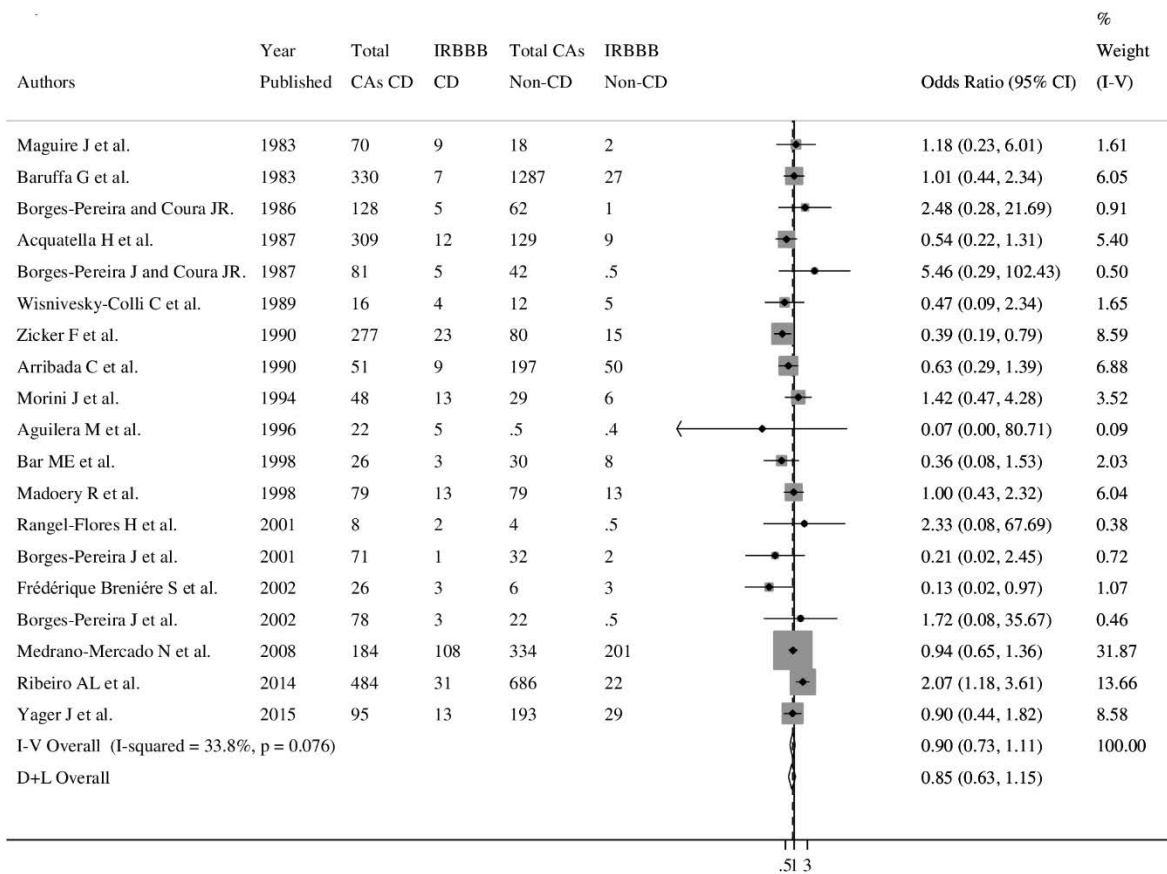
S2 Fig. Pooled odds ratios for the left anterior fascicular block (LAFB) in Chagas disease



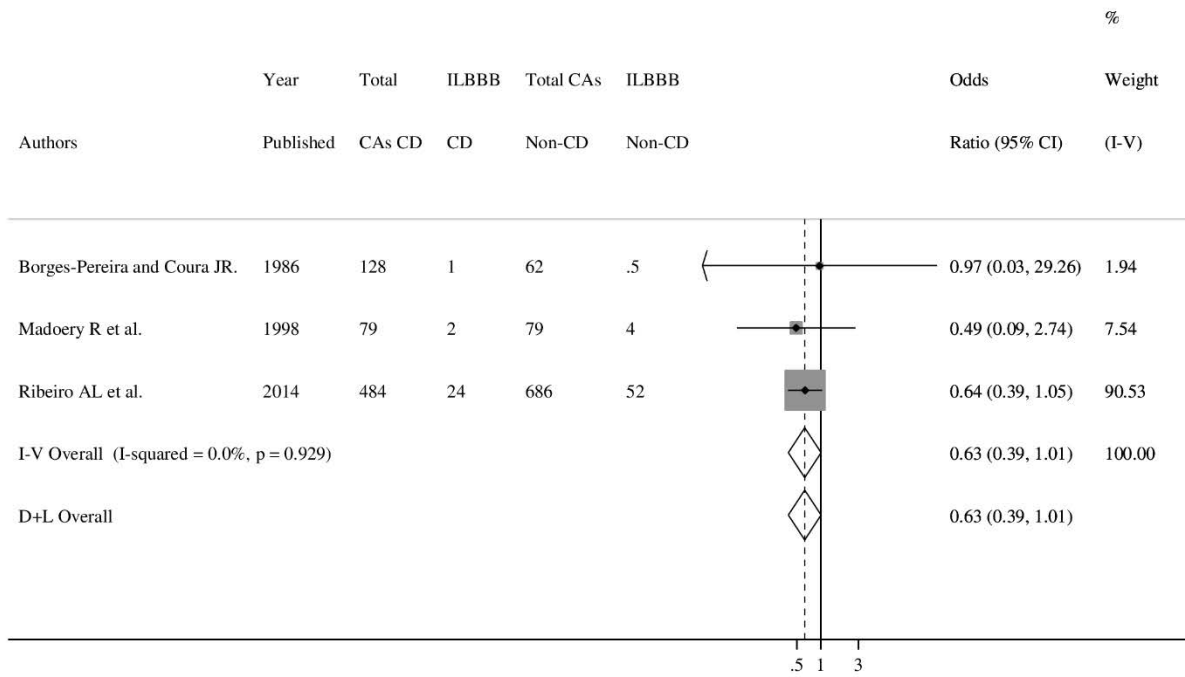
S3 Fig. Pooled odds ratios for the combination complete right bundle branch block (CRBBB) and left anterior fascicular block (LAFB) in Chagas disease



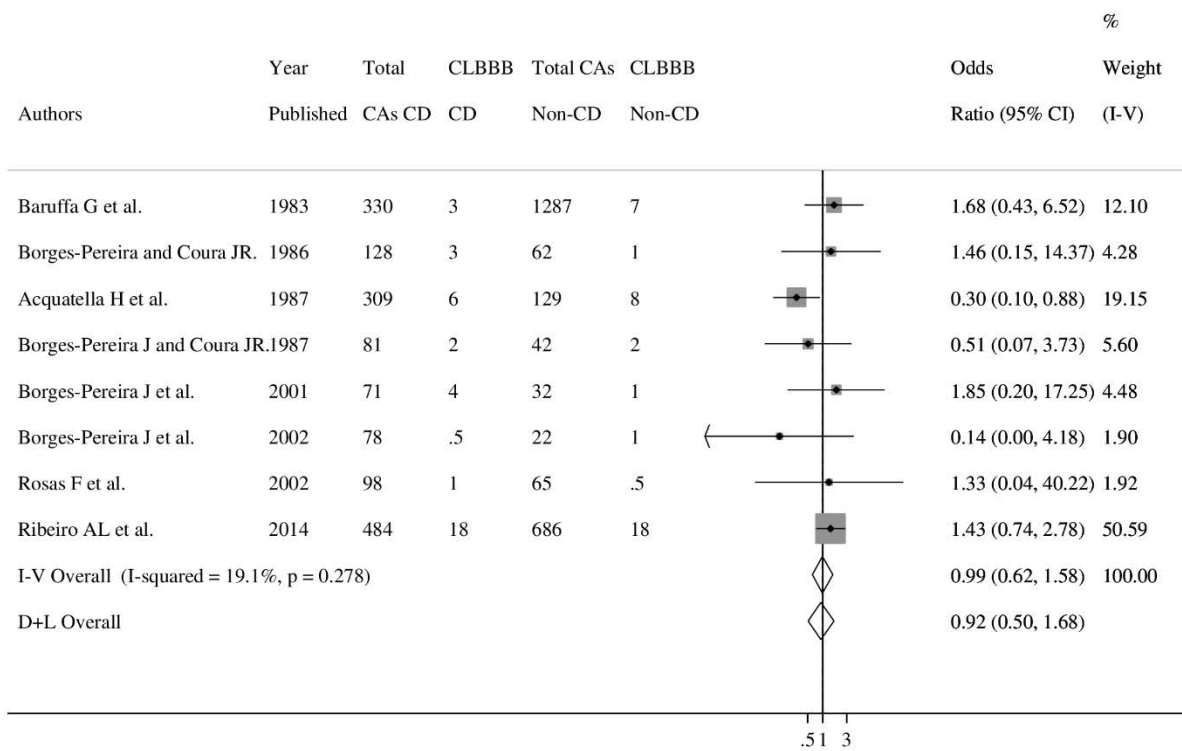
S4 Fig. Pooled odds ratios for the incomplete right bundle branch block (IRBBB) in Chagas disease



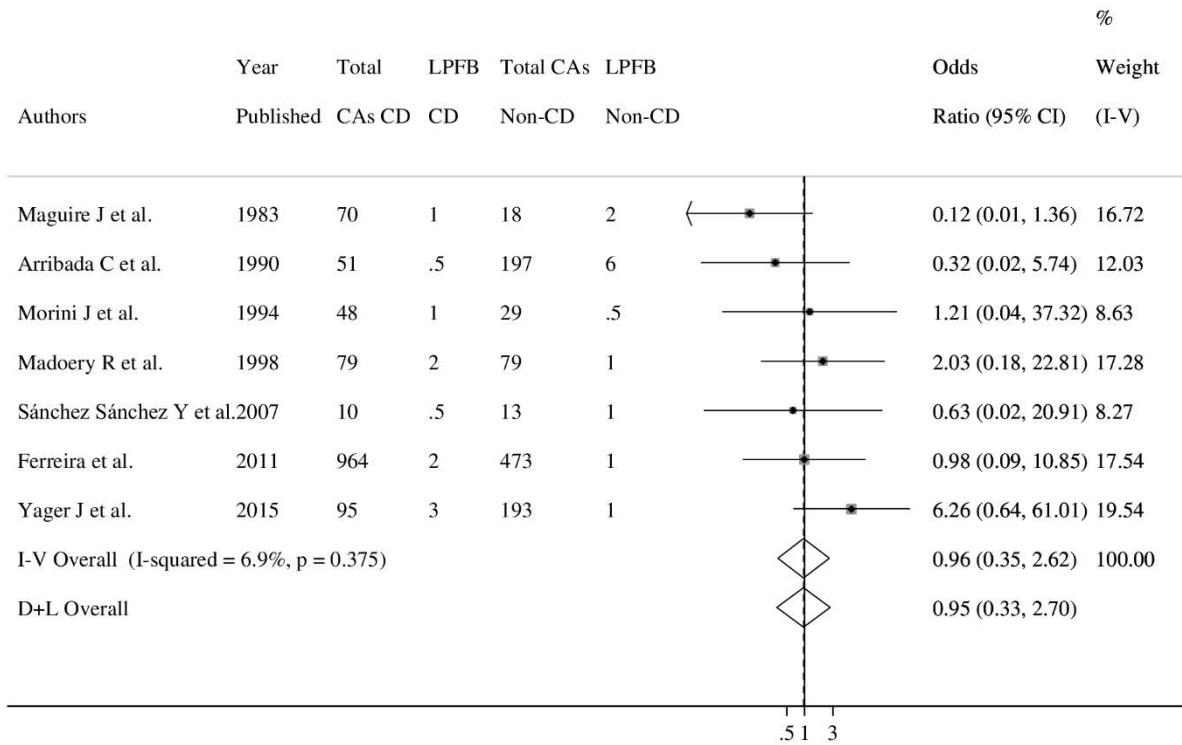
S5 Fig. Pooled odds ratios for the incomplete left bundle branch block (ILBBB) in Chagas disease



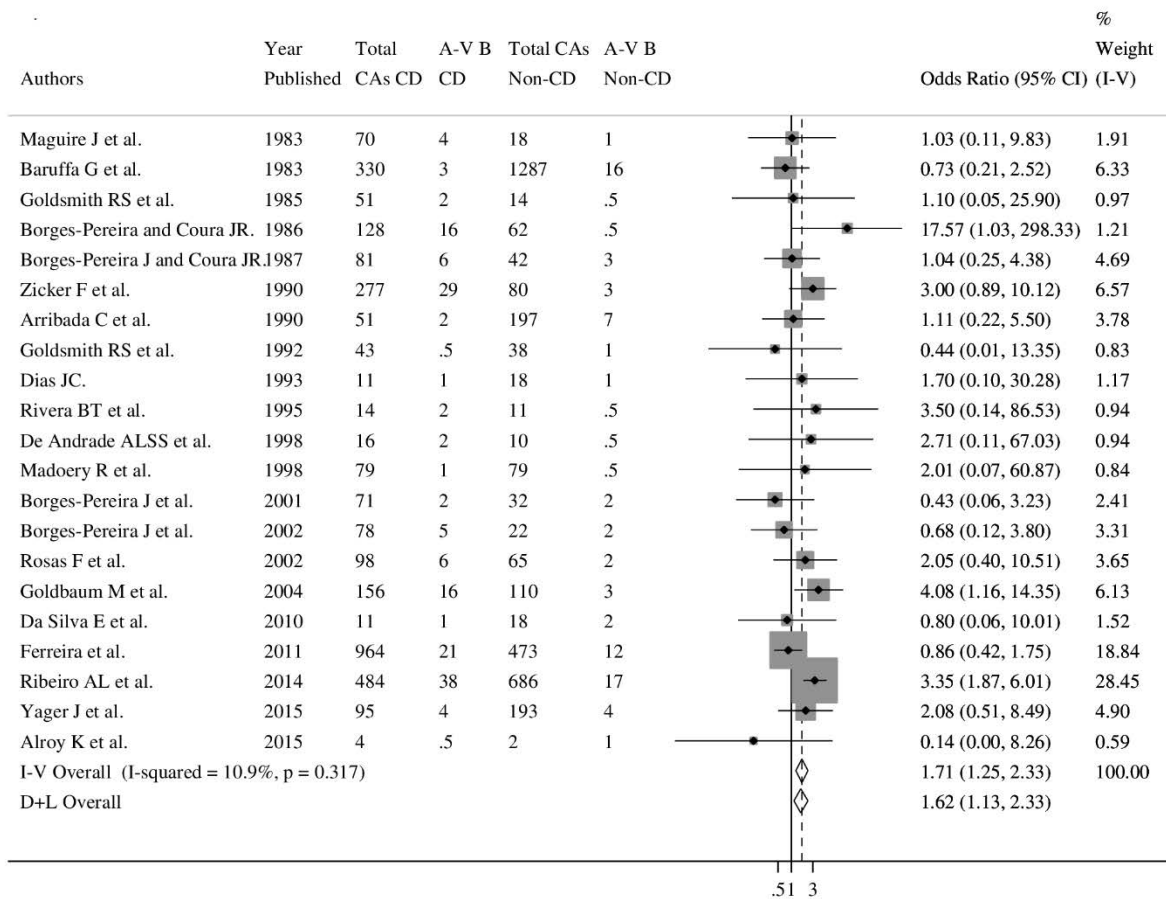
S6 Fig. Pooled odds ratios for the complete left bundle branch block (CLBBB) in Chagas disease



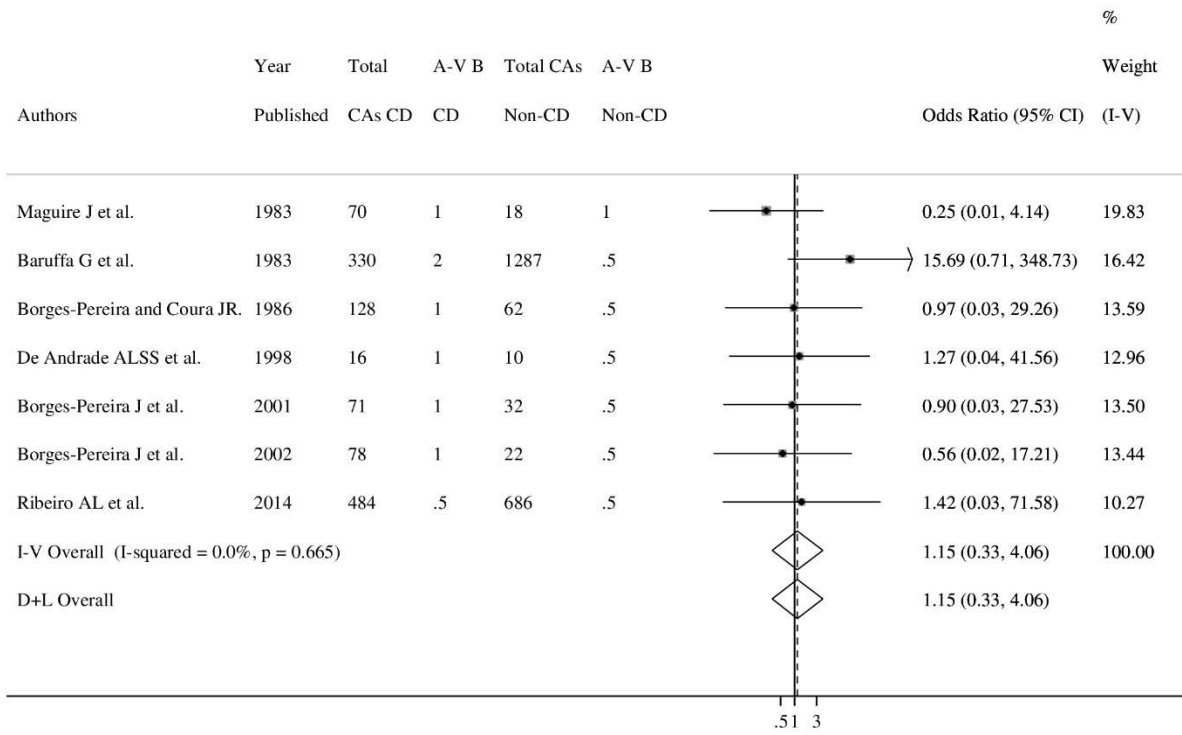
S7 Fig. Pooled odds ratios for the left posterior fascicular block (LPFB) in Chagas disease



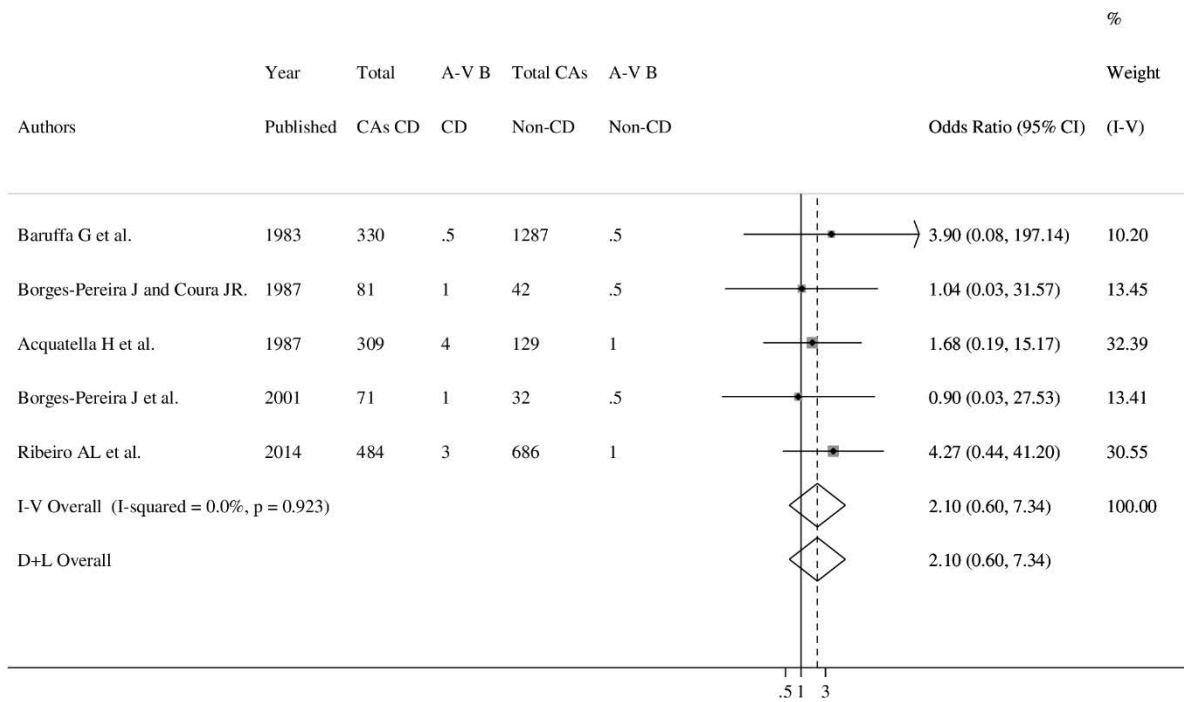
S8 Fig. Pooled odds ratios for the first degree left atrioventricular block (A-V B) in Chagas disease



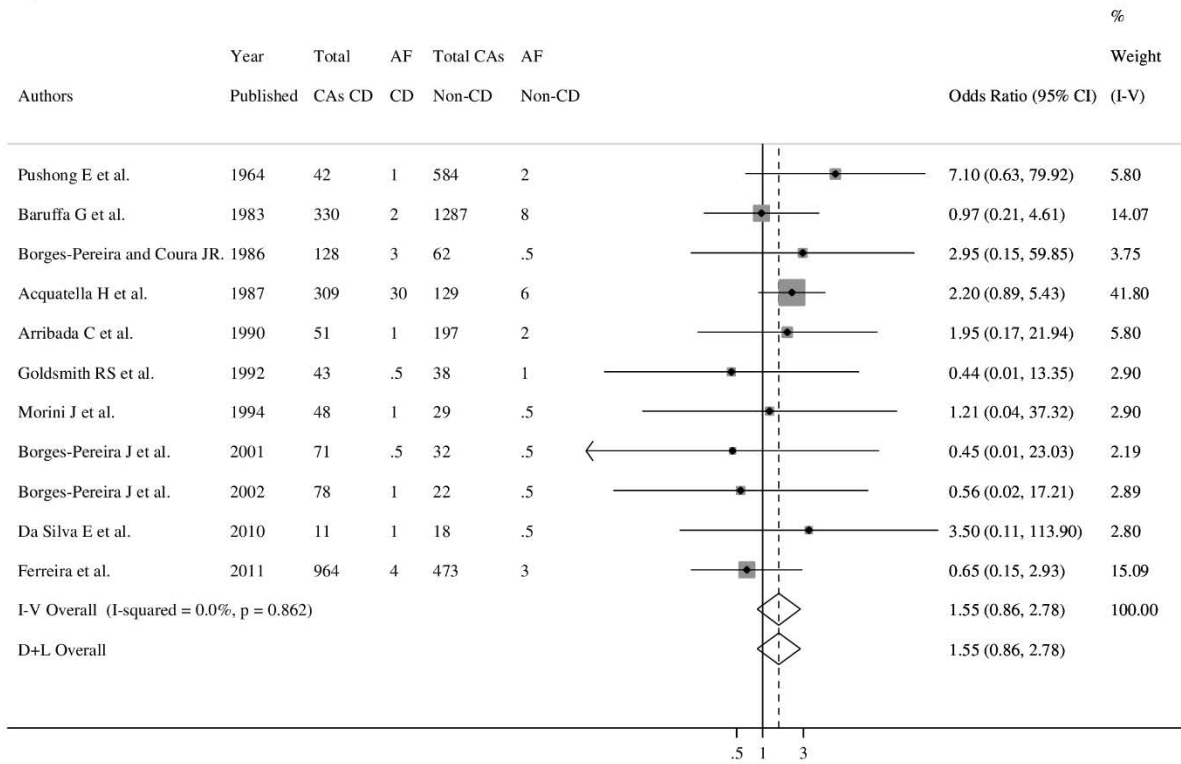
S9 Fig. Pooled odds ratios for the second degree left atrioventricular block (A-V B) in Chagas disease



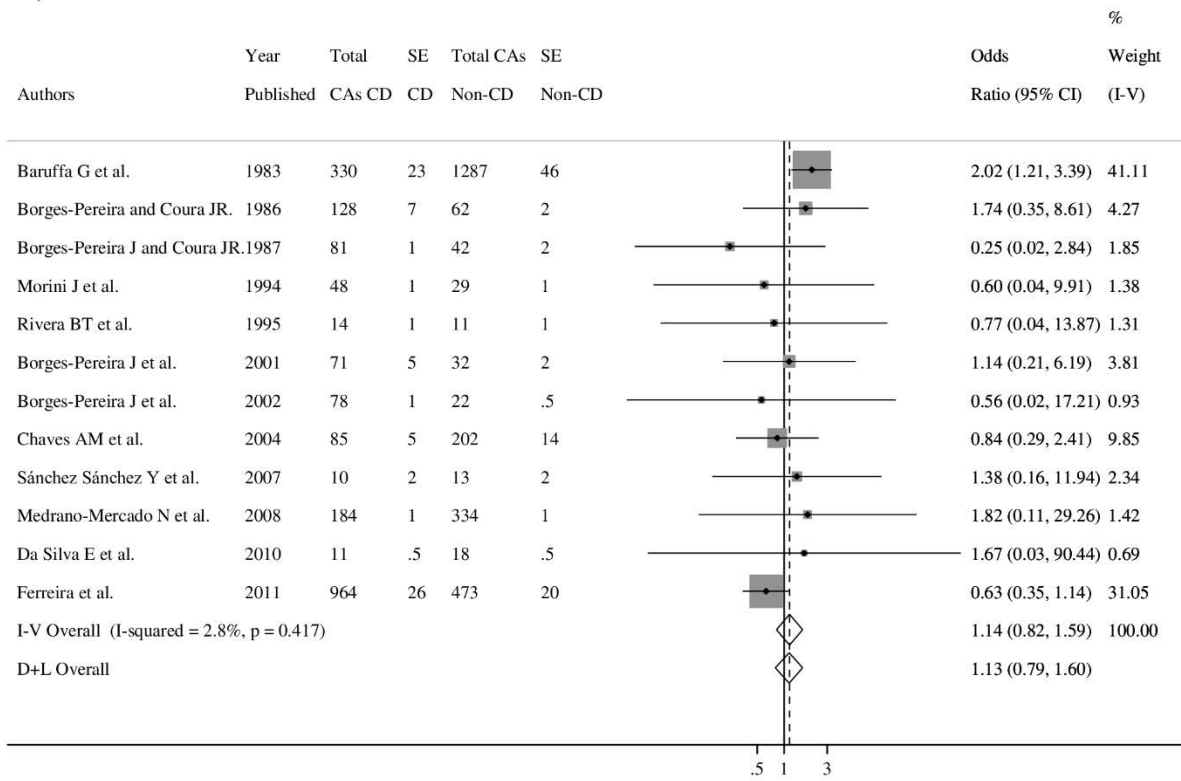
S10 Fig. Pooled odds ratios for the third degree left atrioventricular block (A-V B) in Chagas disease



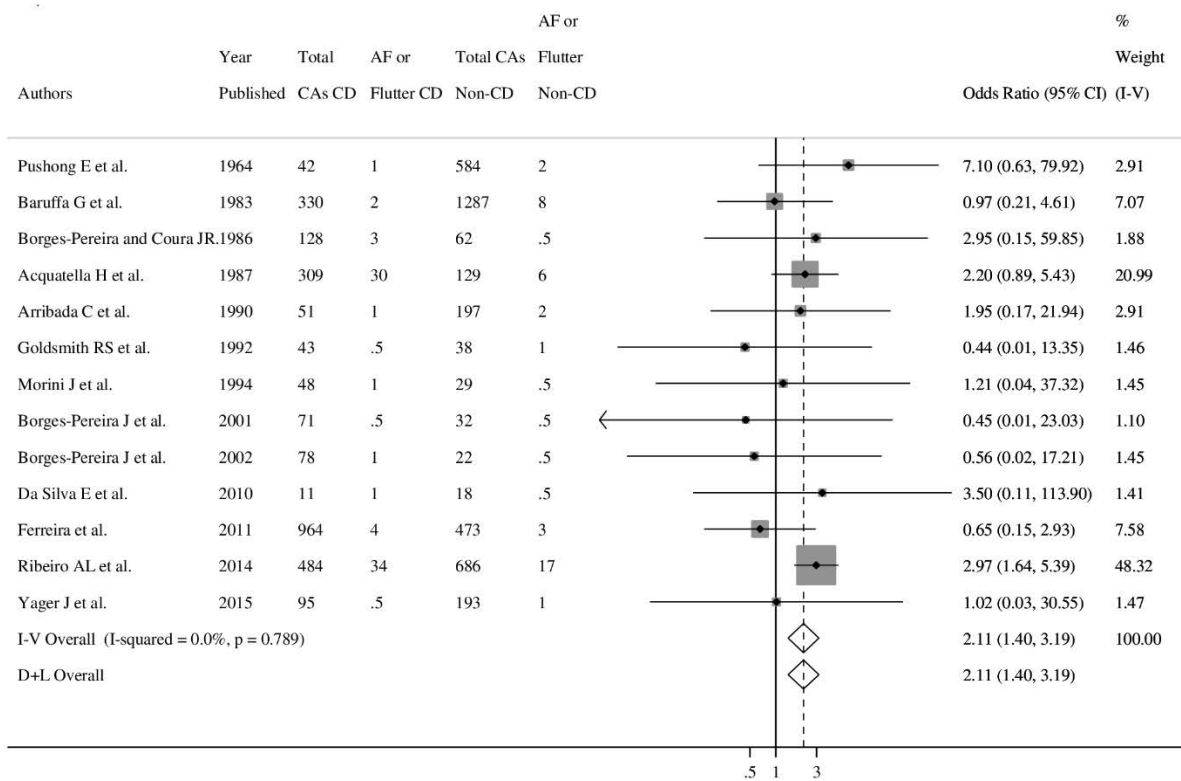
S11 Fig. Pooled odds ratios for atrial fibrillation (AF) in Chagas disease



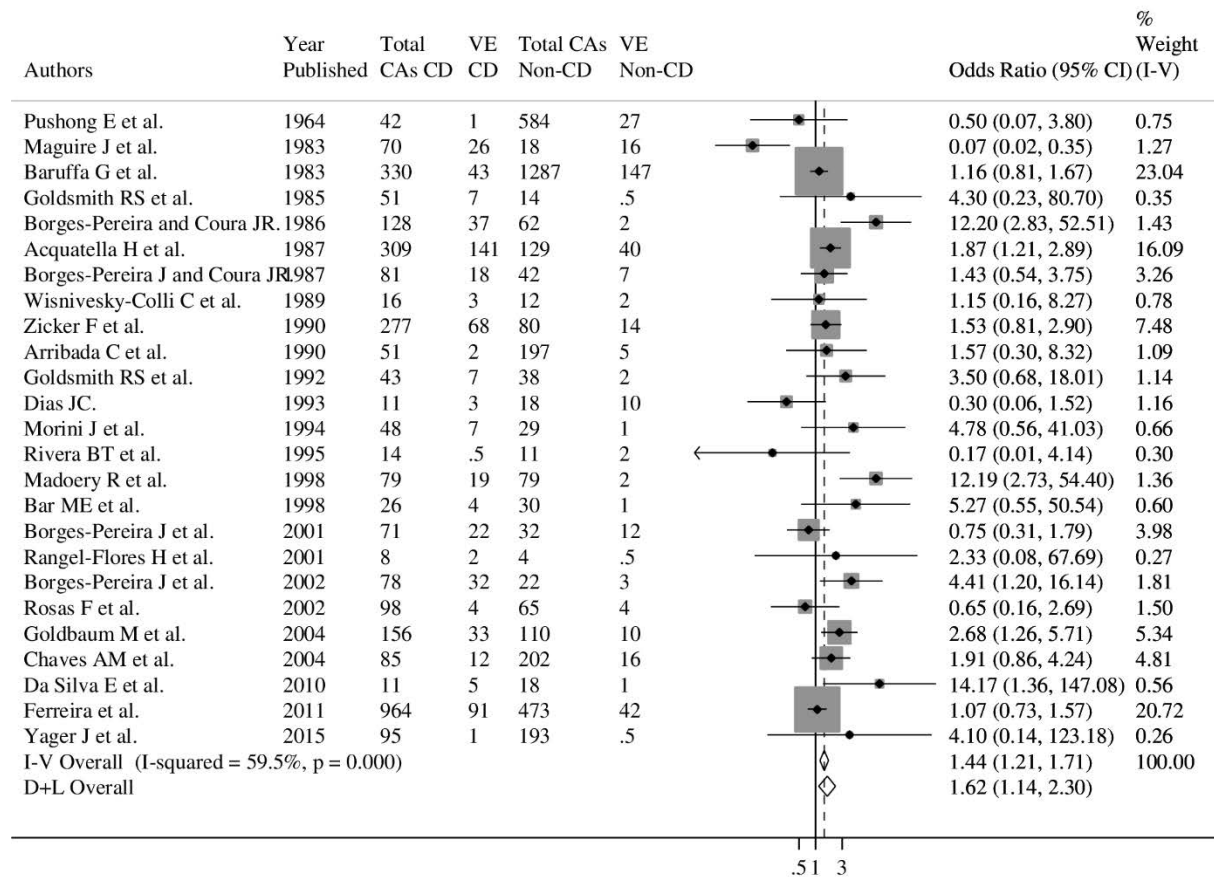
S12 Fig. Pooled odds ratios for supraventricular extrasystoles (SE) in Chagas disease



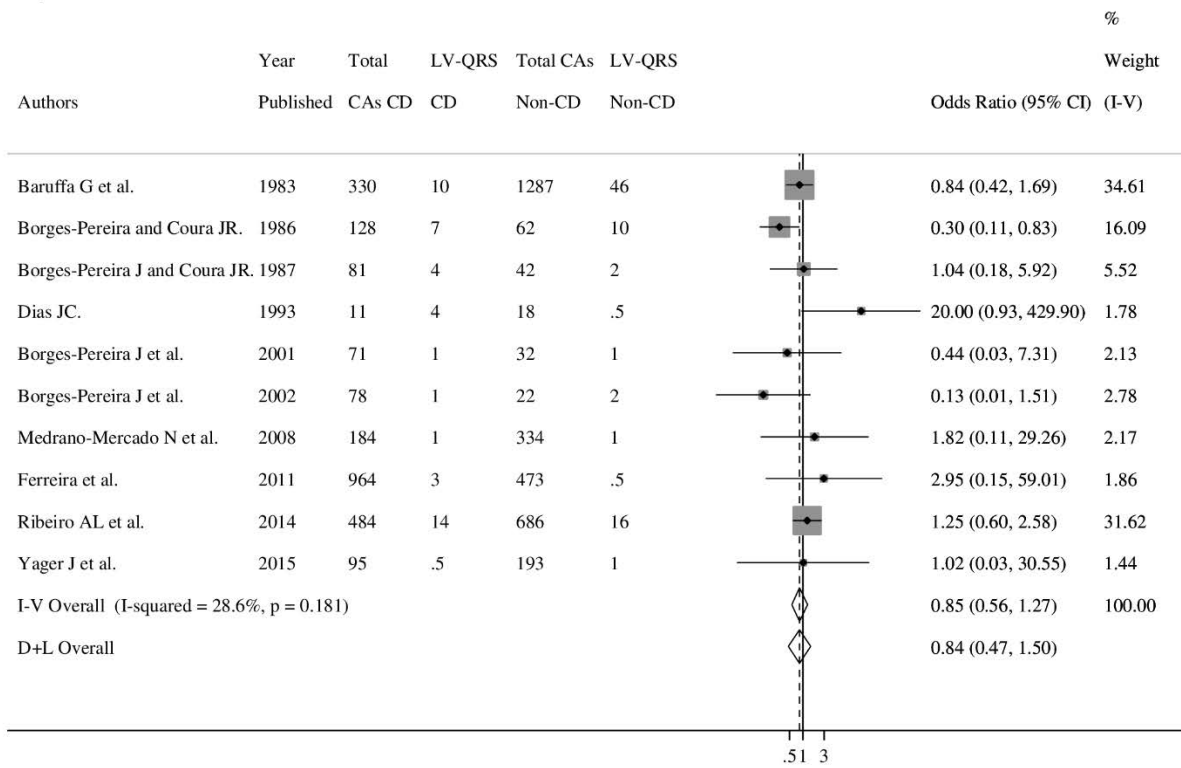
S13 Fig. Pooled odds ratios for atrial fibrillation (AF) or flutter in Chagas disease



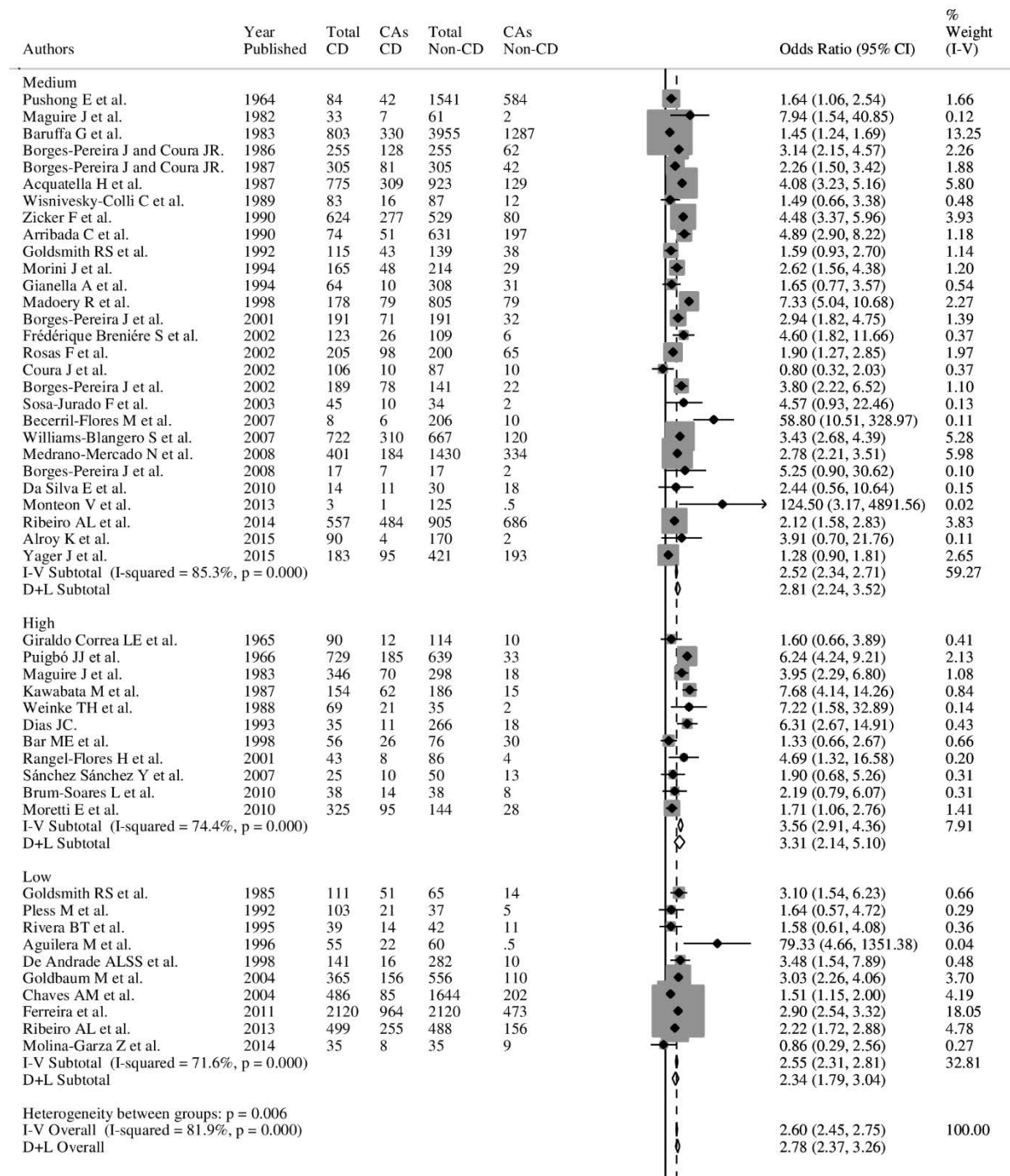
S14 Fig. Pooled odds ratios for ventricular extrasystoles (VE) in Chagas disease



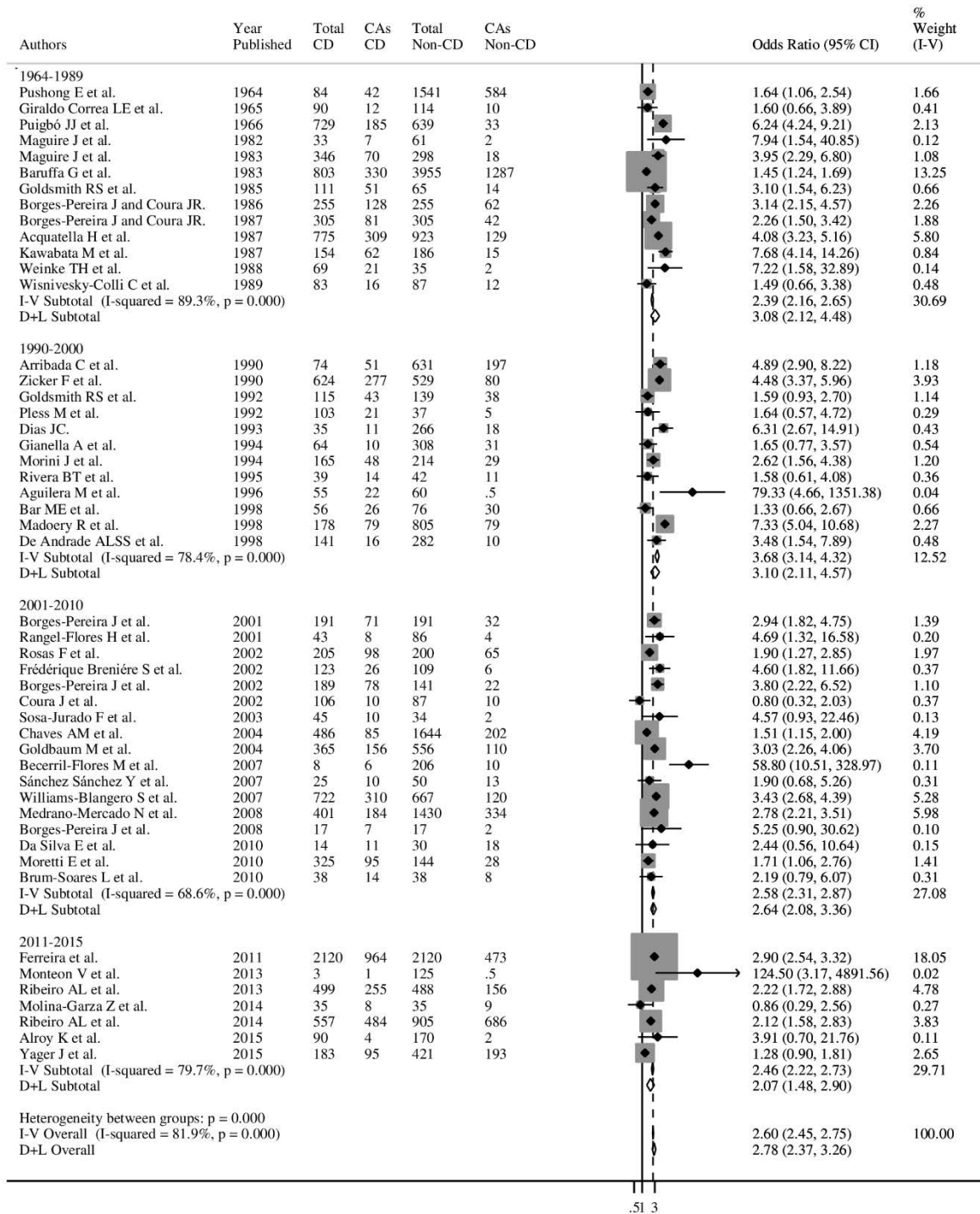
S15 Fig. Pooled odds ratios for low voltage QRS (LV-QRS) in Chagas disease



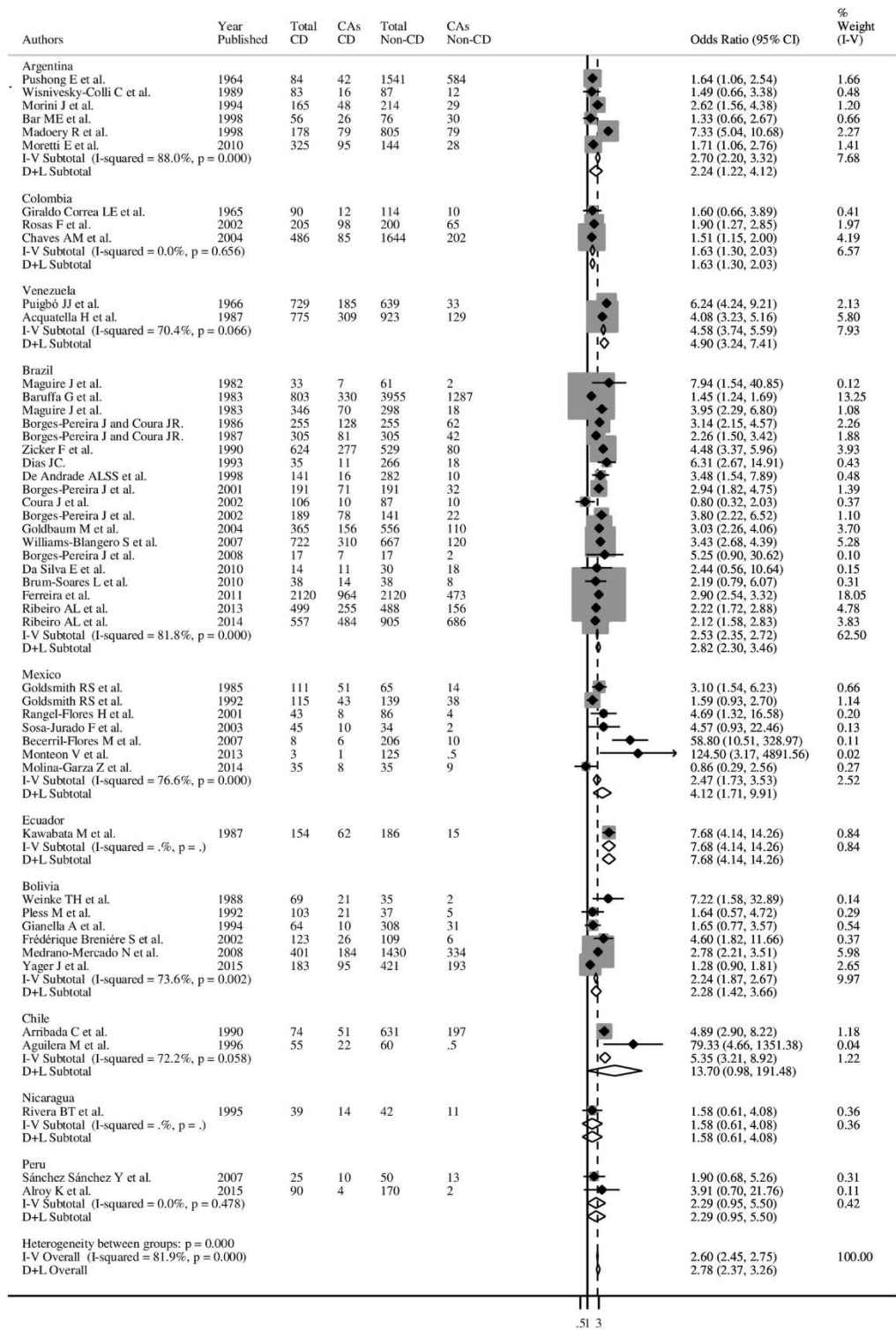
S16 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by assessments of study quality



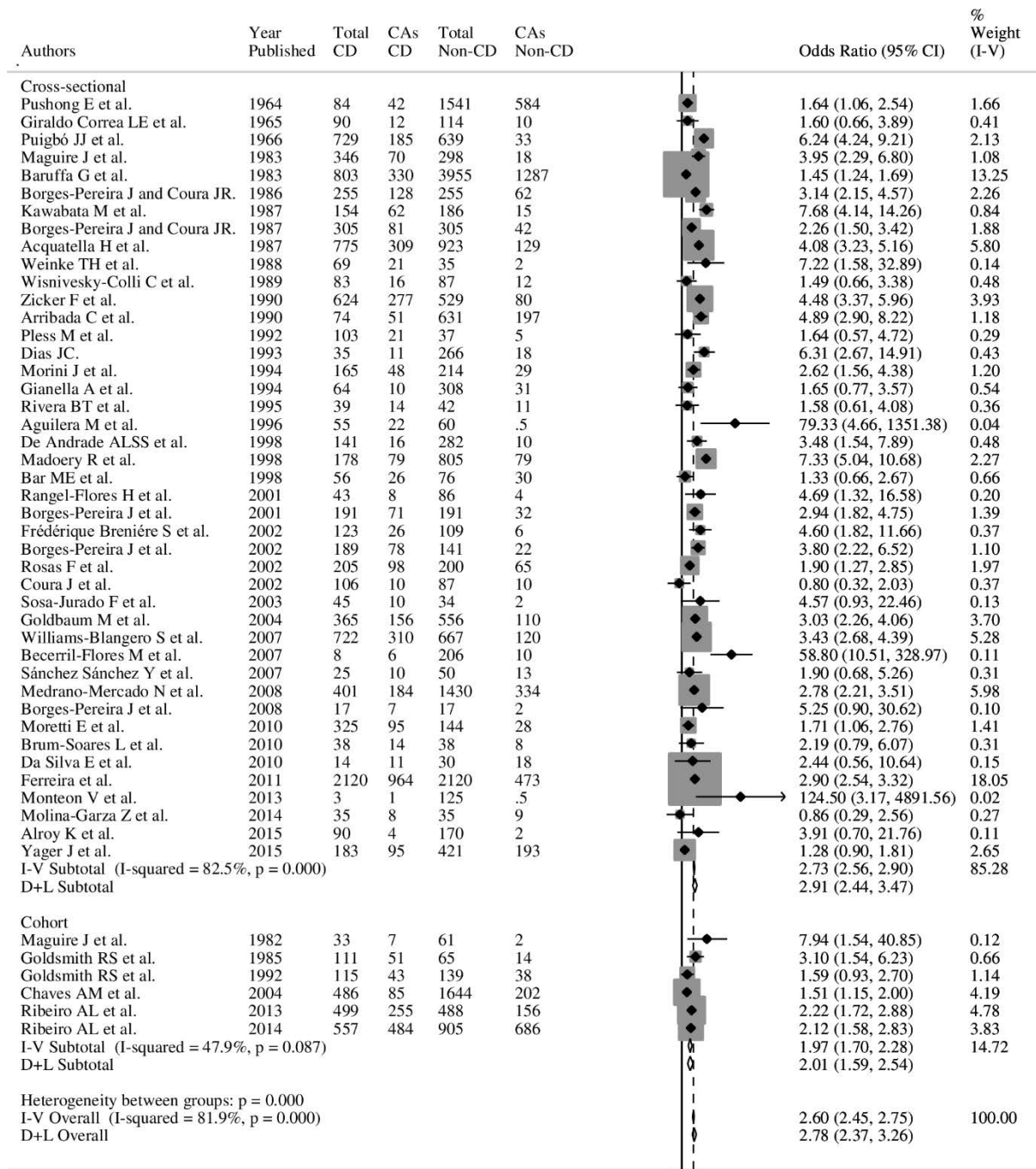
S17 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by period of publication



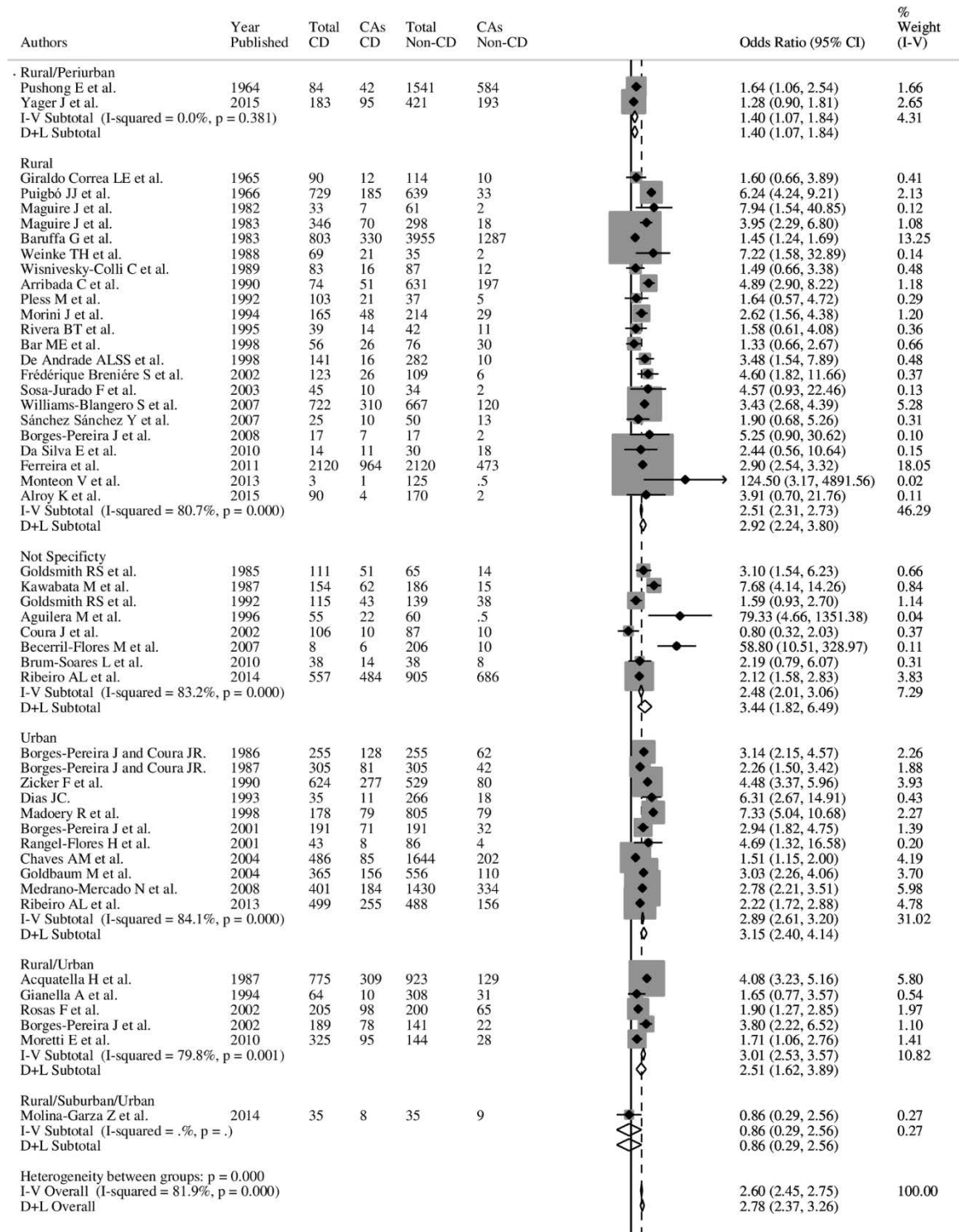
S18 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by location



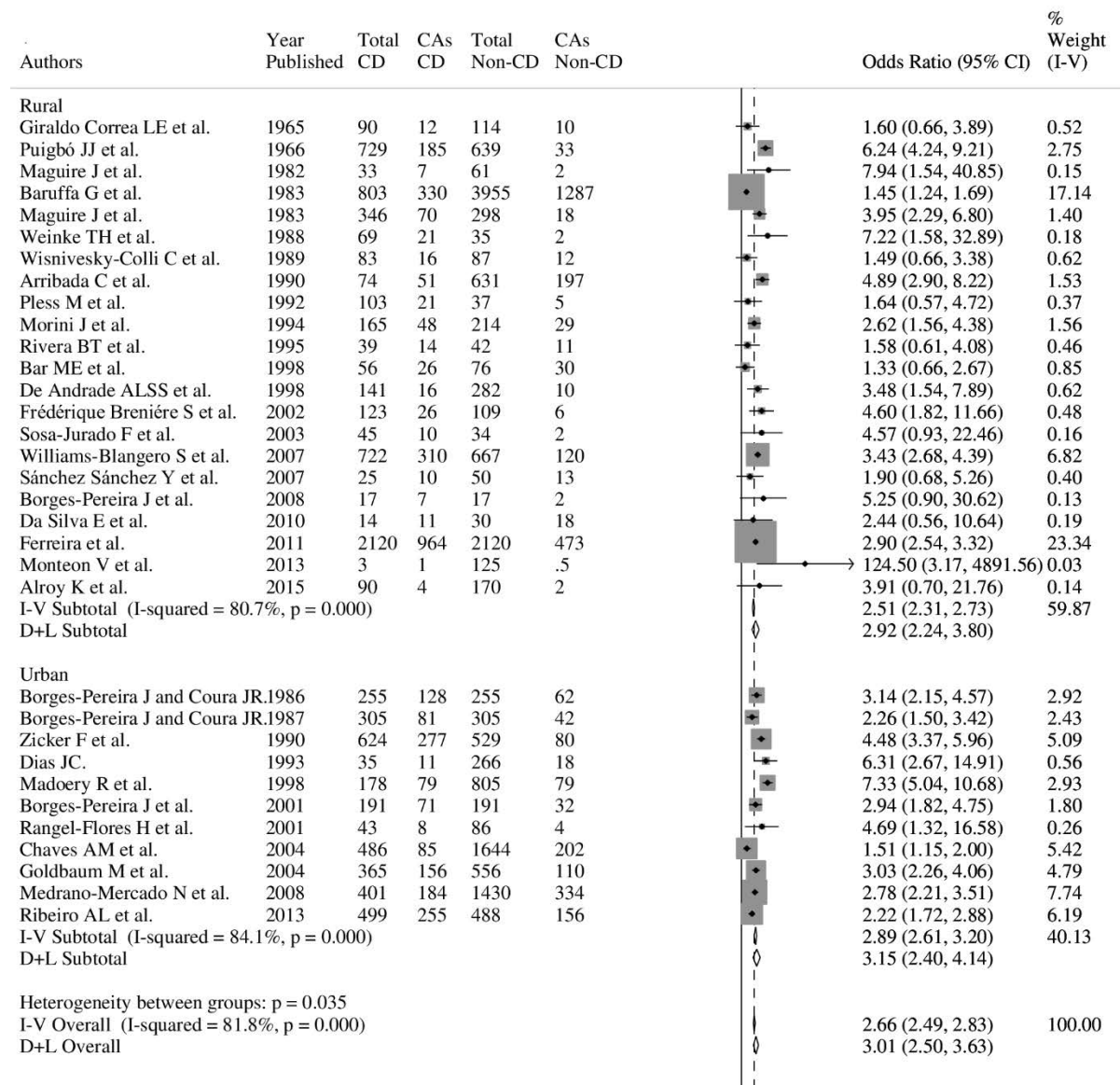
S19 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by design



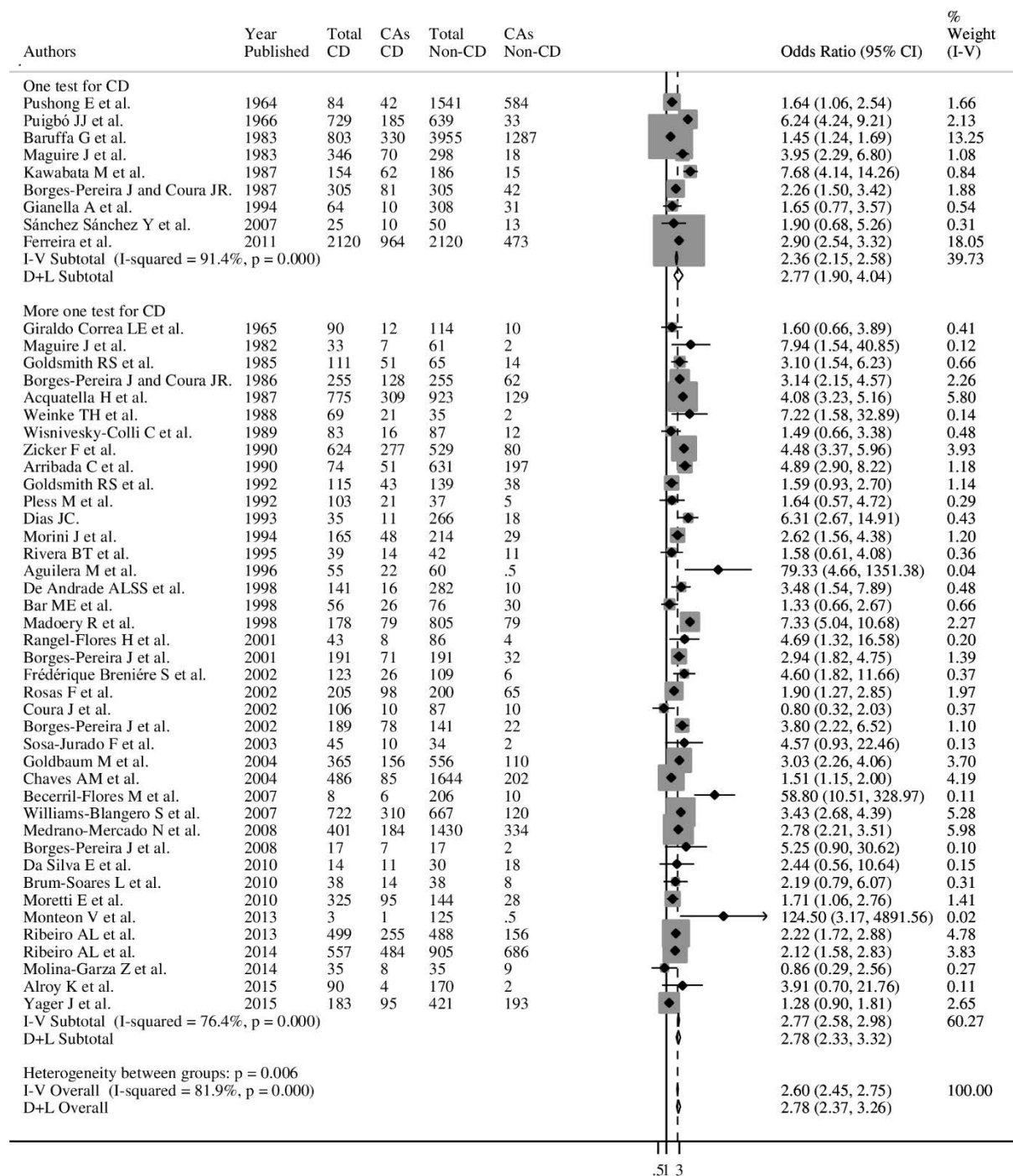
S20 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by area



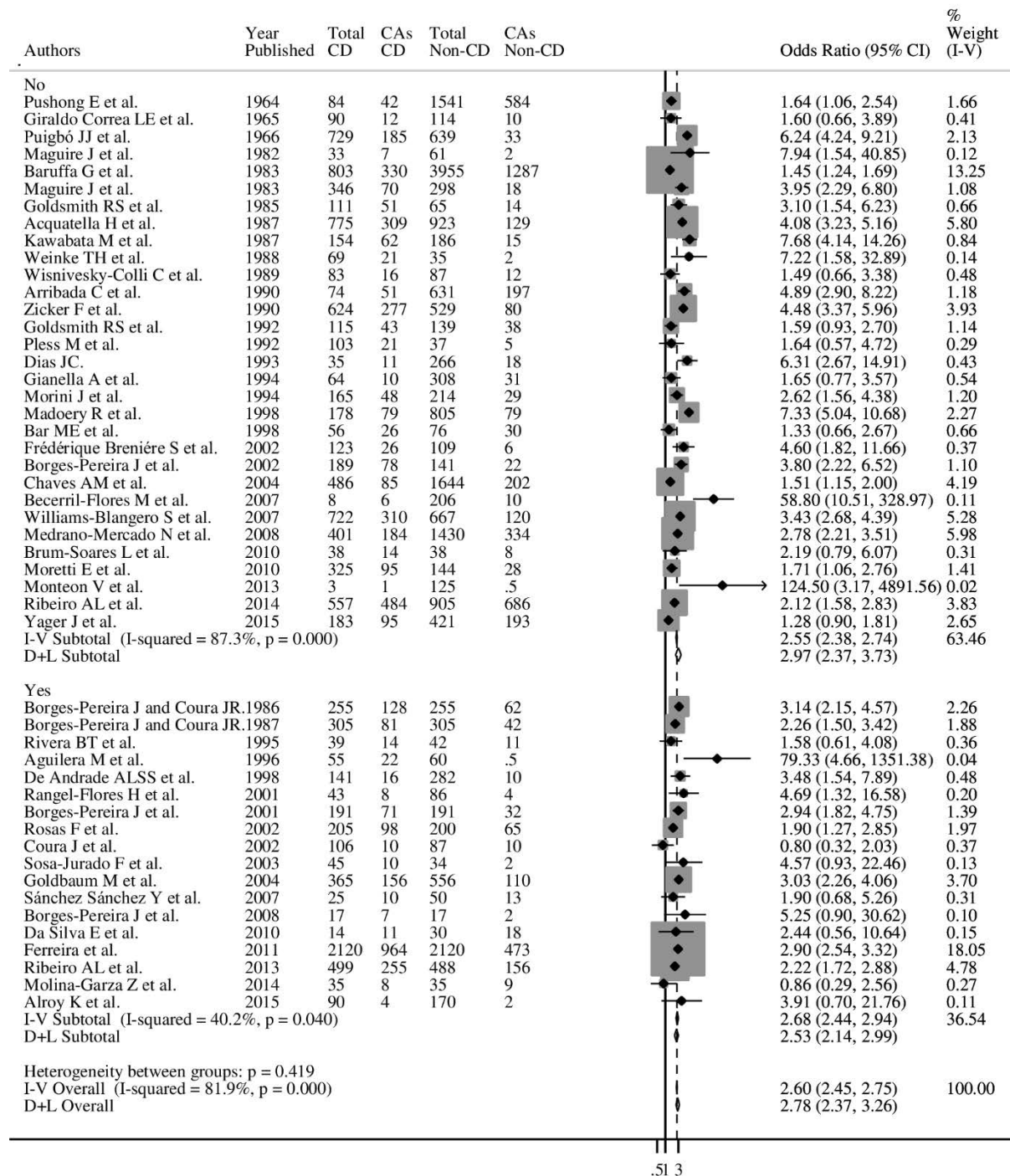
S21 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by area (Rural vs Urban)



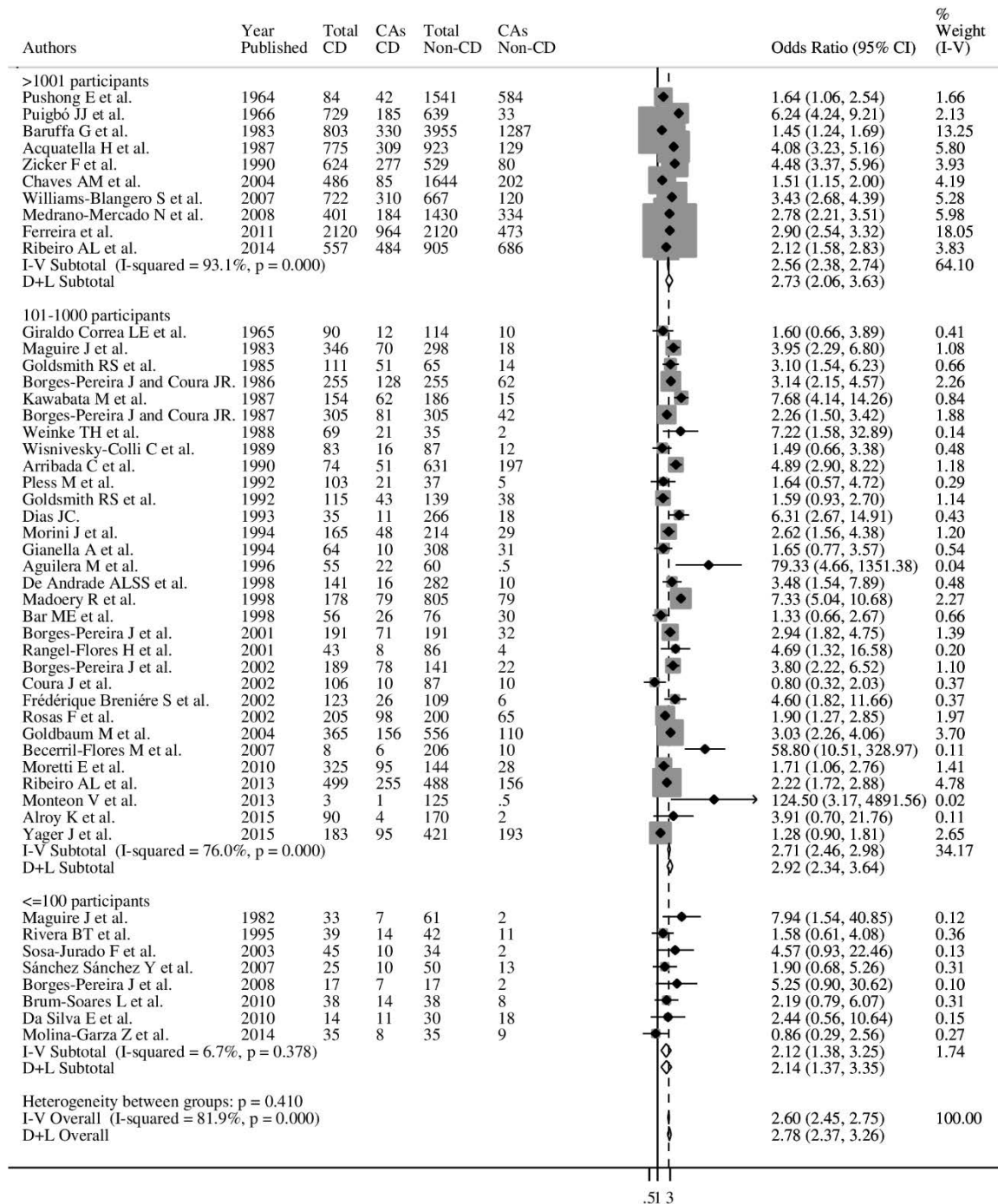
S22 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by test for the diagnoses



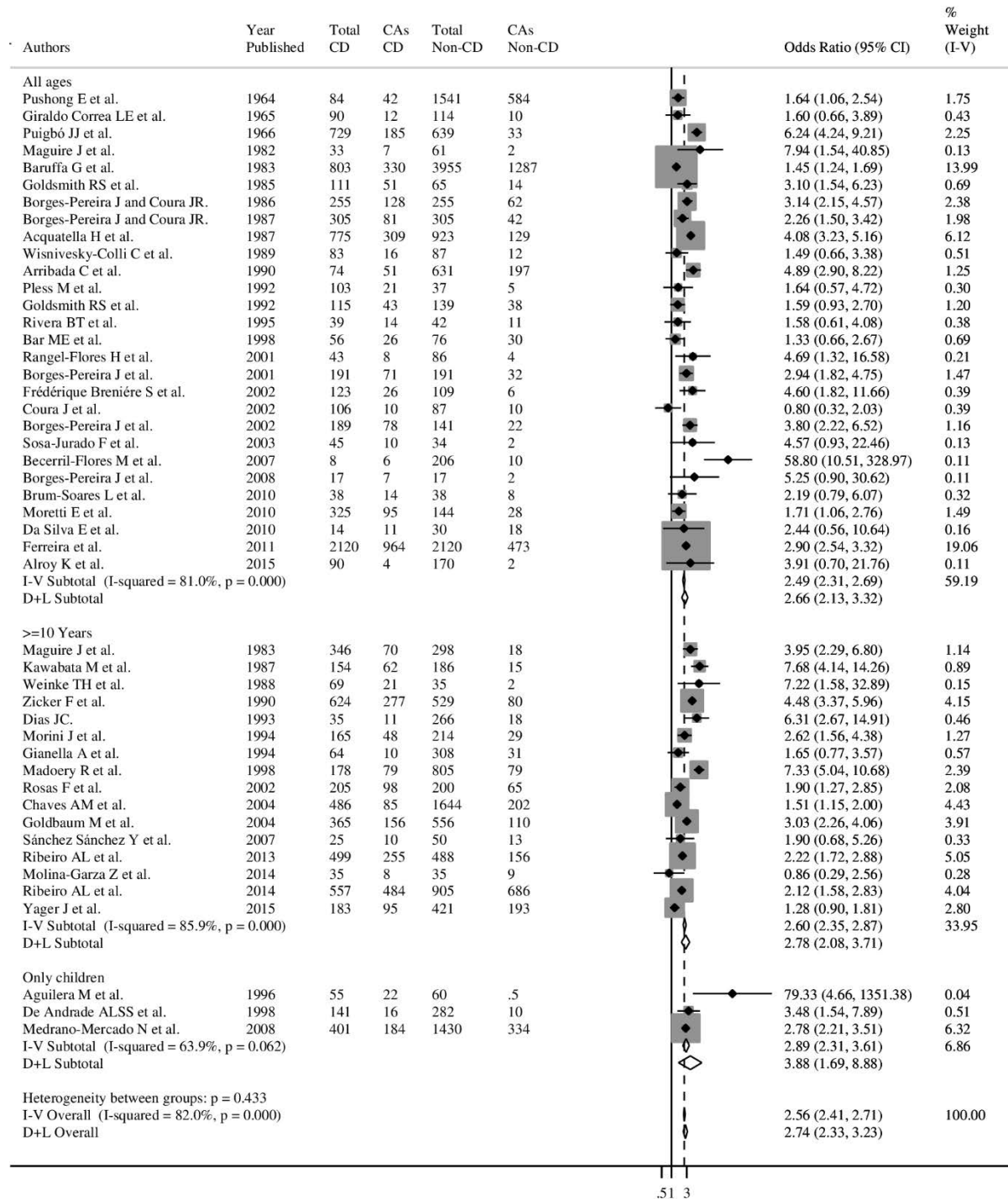
S23 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by confounders adjustment



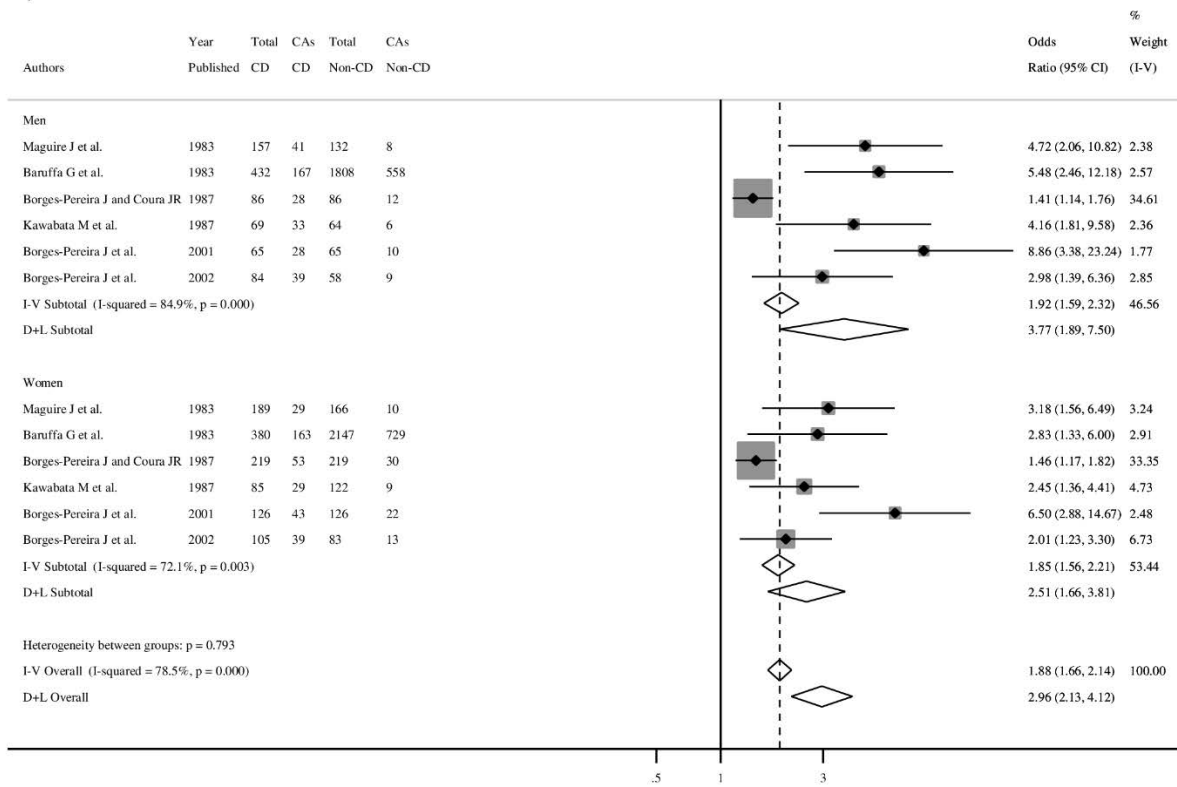
S24 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities Chagas disease by number of participants



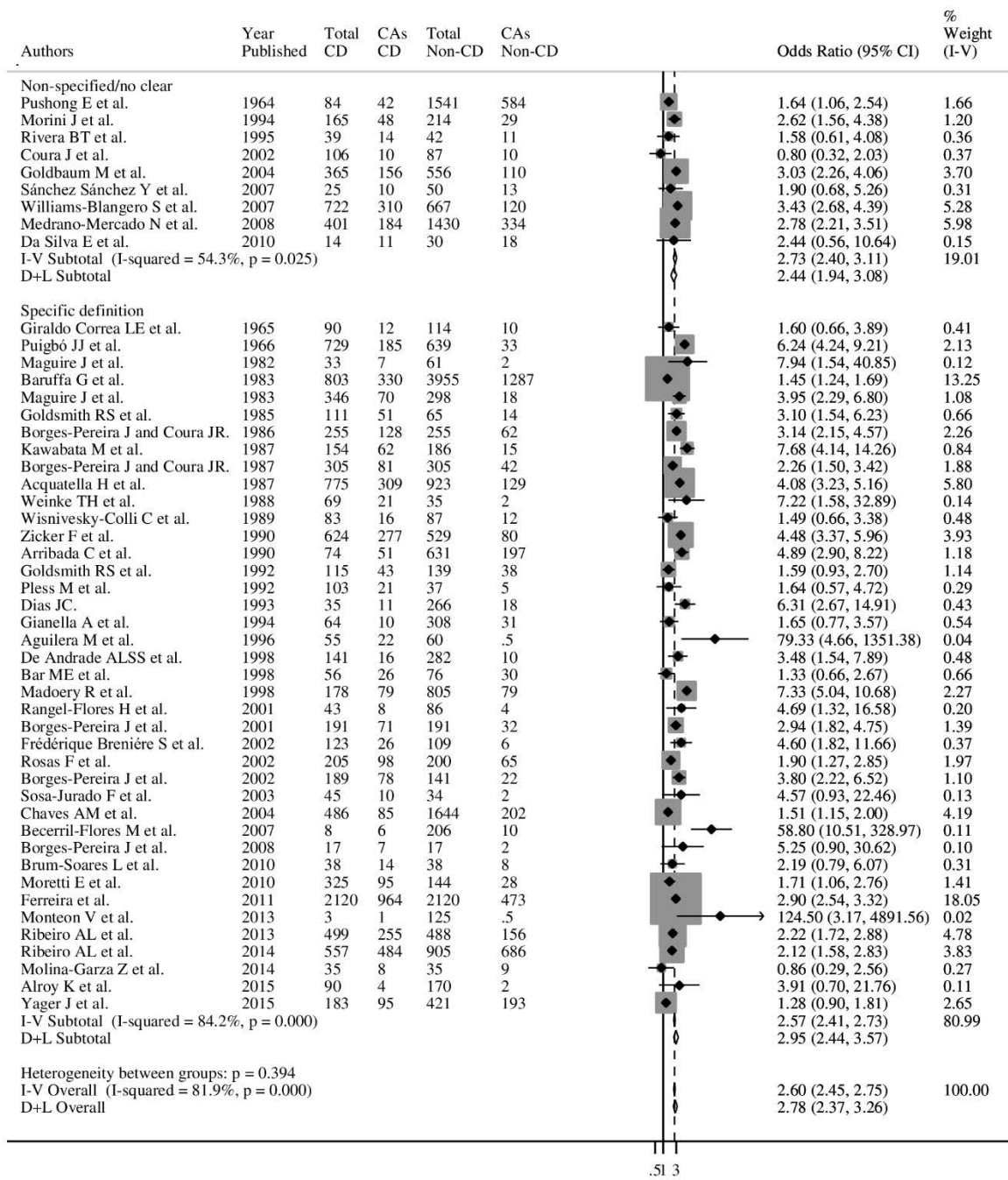
S25 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities Chagas disease by age of participants



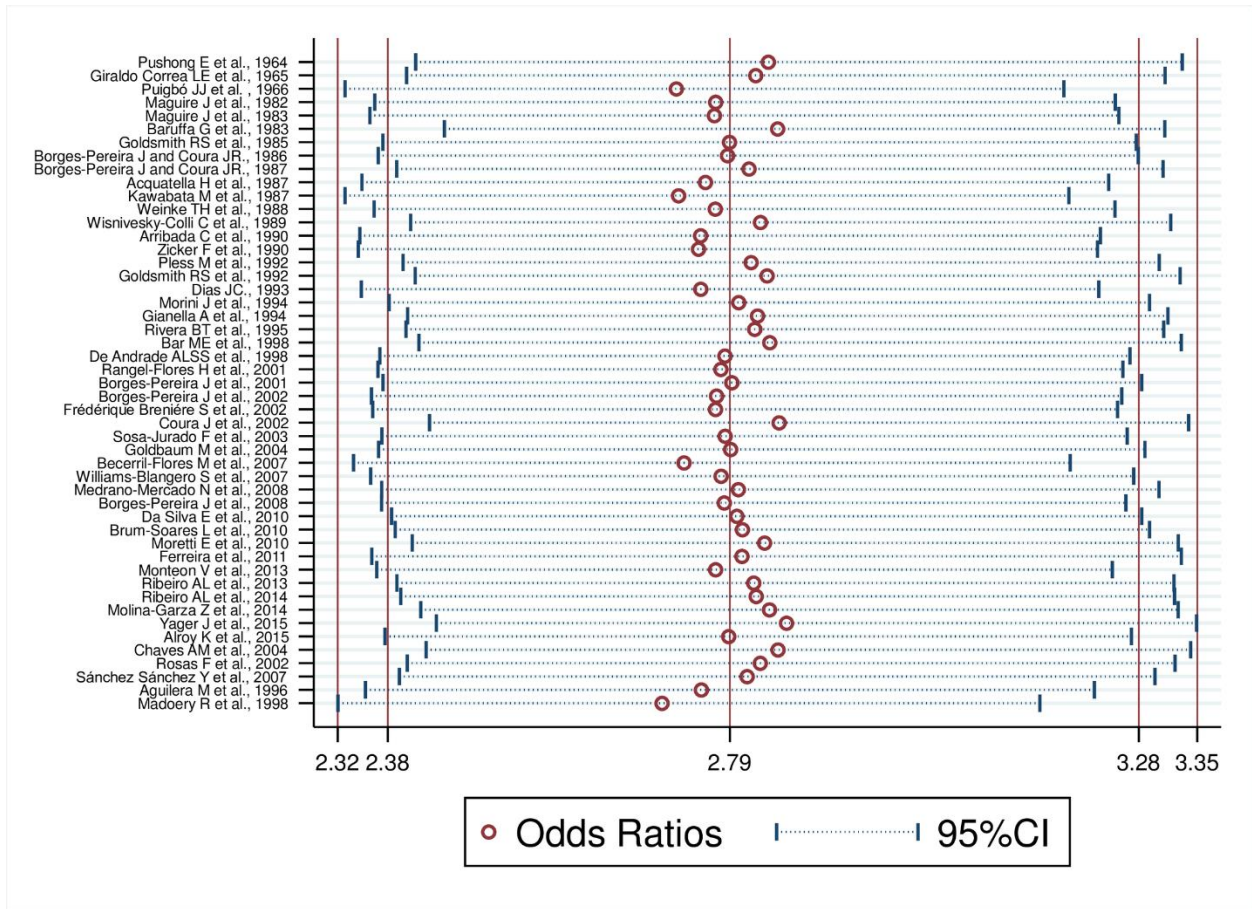
S26 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities Chagas disease by sex of participants



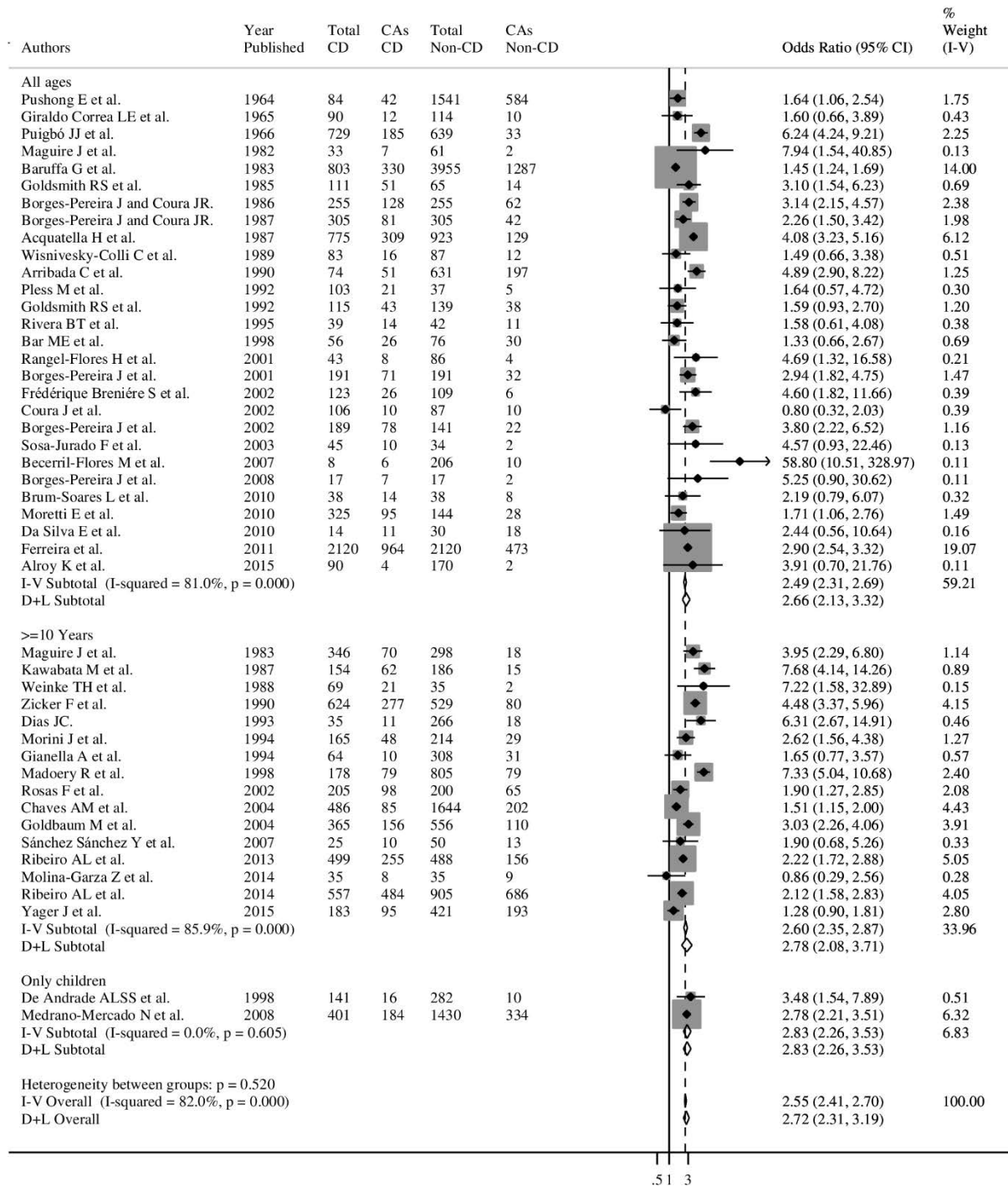
S27 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities in Chagas disease by definition of ECG abnormalities



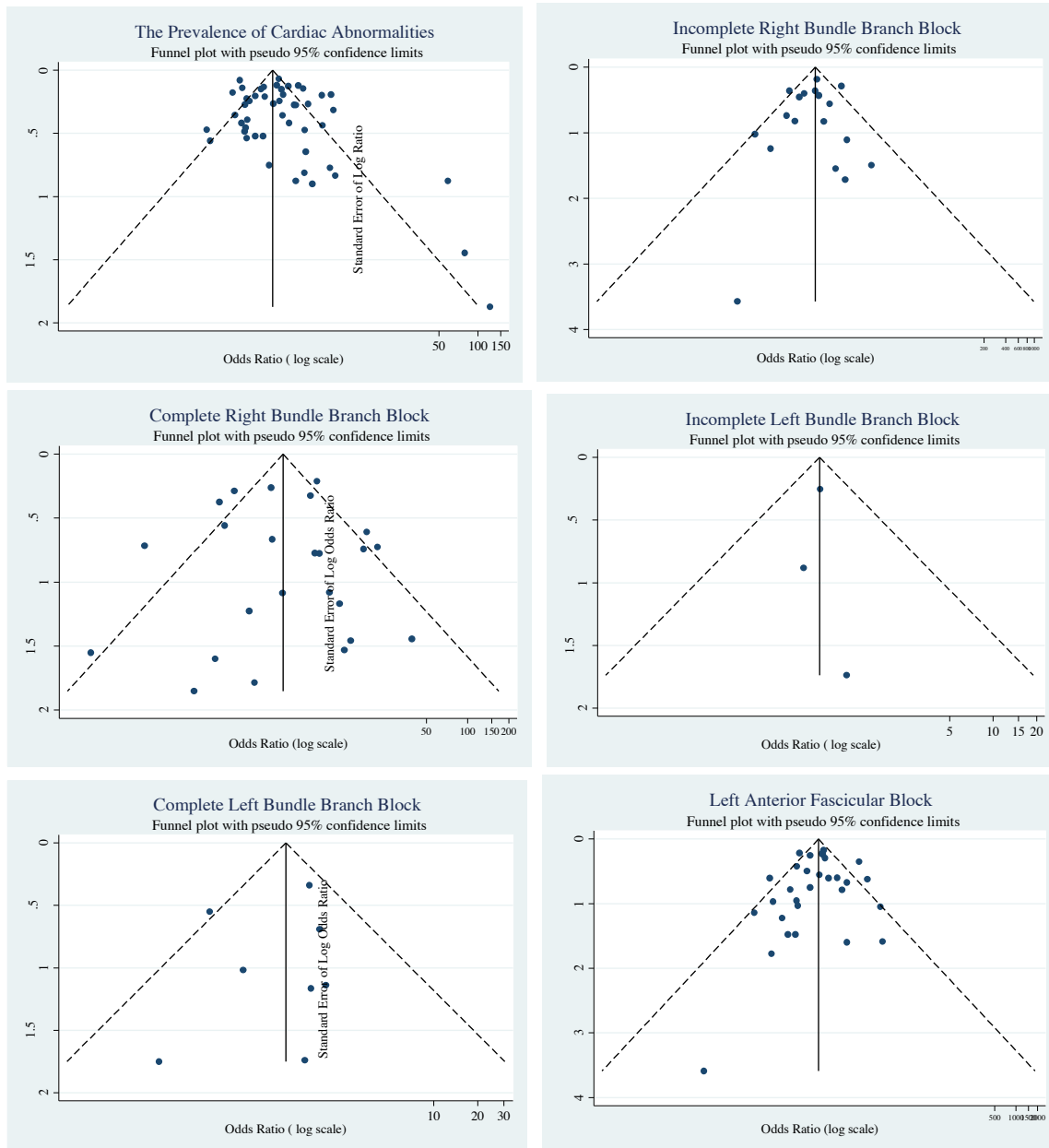
S28 Fig. Meta-analysis estimates (Overall ECG abnormalities), given named study is omitted

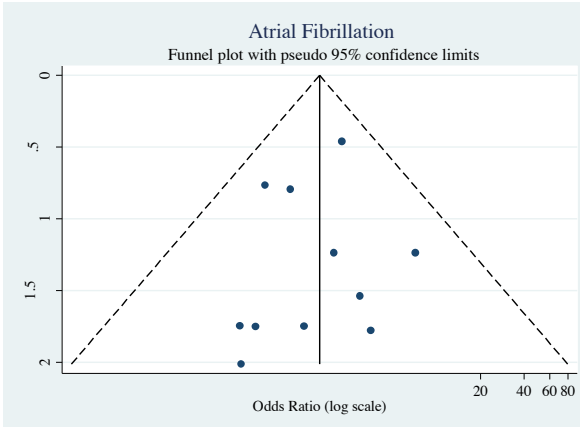
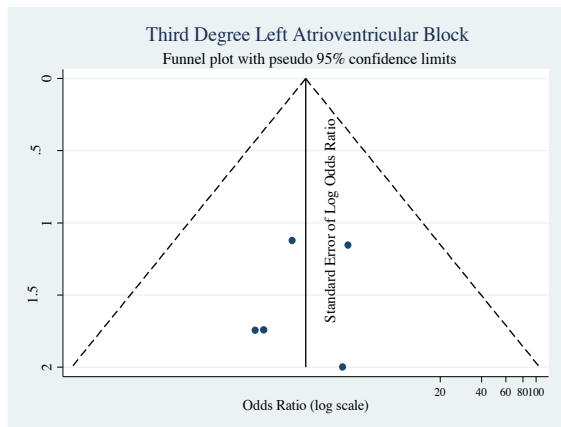
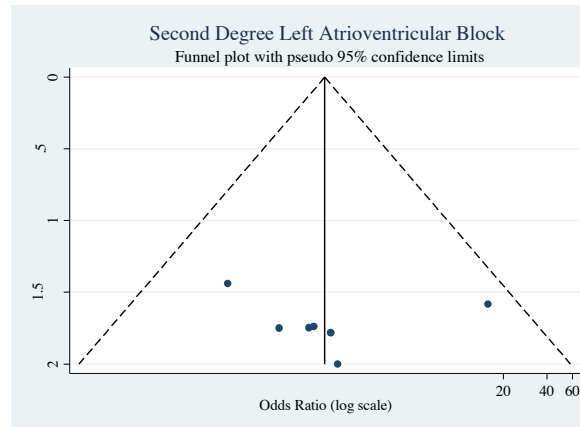
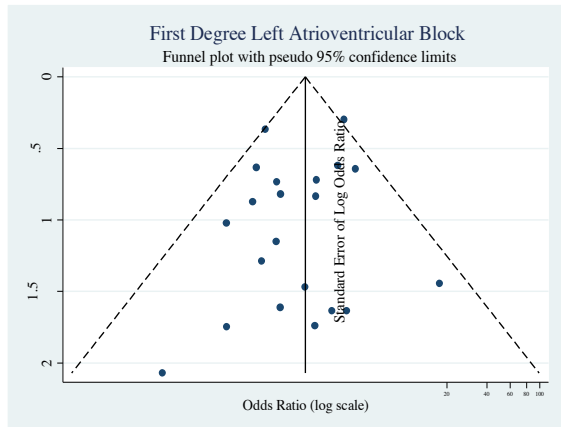
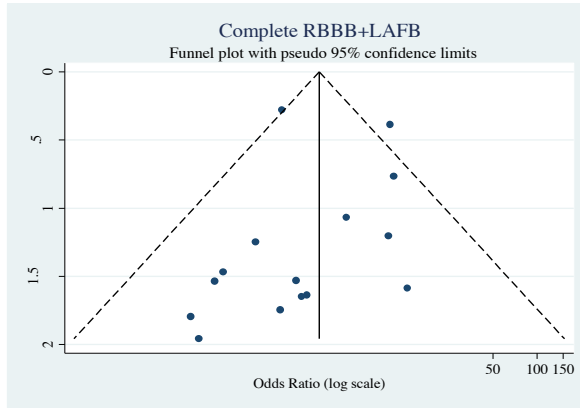
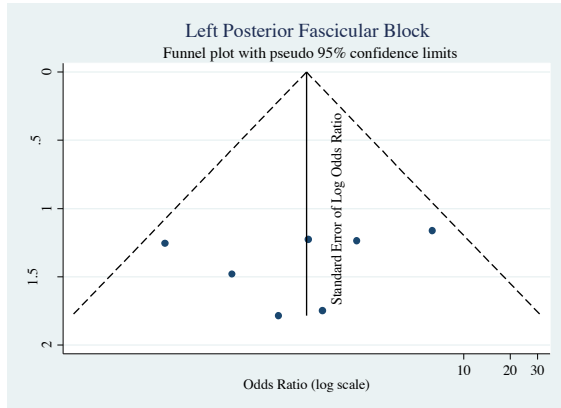


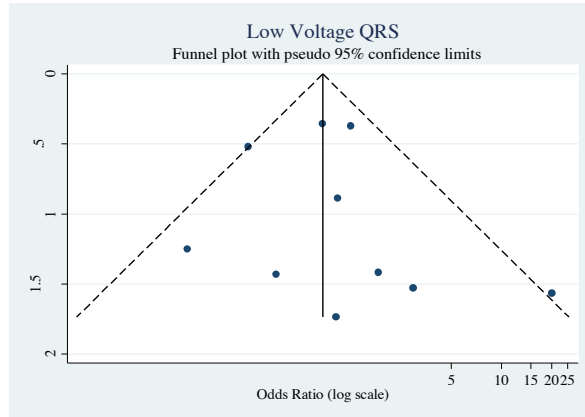
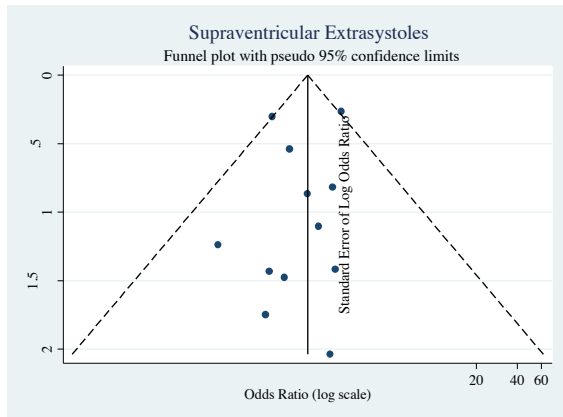
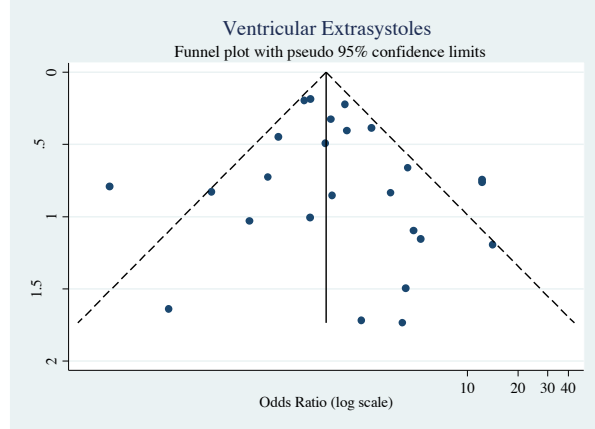
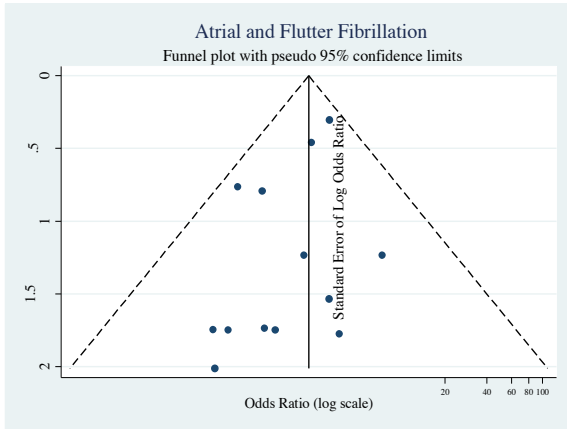
S29 Fig. Pooled odds ratios for the prevalence of ECG abnormalities Chagas disease by age of participants (exclude Aguilera M et al. 1996)



S30 Fig. Assessment of small study effects by funnel plots







Anexo 2. Artículo “Echocardiographic parameters, speckle tracking and brain natriuretic peptide levels as indicators of progression of indeterminate stage to Chagas cardiomyopathy”.

Título: Echocardiographic parameters, speckle tracking and brain natriuretic peptide levels as indicators of progression of indeterminate stage to Chagas cardiomyopathy

Autores: Luis E. Echeverría*, **Lyda Z. Rojas***, María C. Villamizar, Carlos Luengas, Angel M. Chaves, Jaime A. Rodríguez, Rafael Campo, Claudia Clavijo, Adriana M. Redondo, Luis A. López, Carlos A. Morillo, Oscar L. Rueda-Ochoa, Oscar H Franco

*Indicates equal contribution

Revista: En proceso de publicación.

Echocardiographic parameters, speckle tracking and brain natriuretic peptide levels as indicators of progression of indeterminate stage to Chagas cardiomyopathy

Brief title: Echo and NT-proBNP Parameters by Severity Stages of Chagas Disease.

Luis E. Echeverría, MD^{a,b,c,*}; Lyda Z. Rojas, RN, MSc^{b,d,e,*}; María C. Villamizar, RN^c; Carlos Luengas, MD^c; Angel M. Chaves, MD, MSc^c; Jaime A. Rodríguez, MD, MSc^{a,c}; Rafael Campo, MD^c; Claudia Clavijo, MD^c; Adriana M. Redondo, MD^a; Luis A. López, RN, MSc^f; Carlos A. Morillo, MD^{g,h}; Oscar L. Rueda-Ochoa, MD, MSc^{e,i}; Oscar H Franco, MD, PhD^{e,j}

^aHeart Failure and Transplant Clinic, Cardiovascular Foundation of Colombia, Floridablanca, Colombia

^bPublic Health and Epidemiological Studies Group, Cardiovascular Foundation of Colombia, Floridablanca, Colombia

^cNon-invasive Cardiovascular Diagnostic, Cardiovascular Foundation of Colombia, Floridablanca, Colombia

^dDepartment of Paediatrics, Obstetrics, Gynaecology and Preventative, Universidad Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

^eDepartment of Epidemiology, Erasmus MC, University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, the Netherlands

^fResearch Group and Development of Nursing Knowledge (GIDCEN-FCV), Research Institute, Cardiovascular Foundation of Colombia, Floridablanca, Santander, Colombia

^gDepartment of Cardiac Sciences, Libin Cardiovascular Institute of Alberta, University of Calgary, Alberta, Canada

^hDepartment of Medicine, Cardiology Division, McMaster University, PHRI-HHSC, Hamilton, Ontario, Canada

ⁱElectrocardiography Research Group, Medicine School, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

^jInstitute of Social and Preventive Medicine (ISPM), University of Bern, Bern, Switzerland

*Indicates equal contribution

Funding: LZR and LEE were supported by the Colombian government through Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación-COLCIENCIAS (project code 656665740365, CT 648-2014); URL: <http://www.colciencias.gov.co/>. The funder had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Disclosures: None.

Corresponding authors: Dr. Luis Eduardo Echeverría Correa, MD-Cardiology, Heart Failure and Transplant Clinic of Cardiovascular Foundation of Colombia, Floridablanca, Colombia. Calle 155A # 23-58 Urbanización El Bosque. P.O. Box 681001 Floridablanca, Colombia, Telephone: +57 6 39 92 92 Ext: 166 – 140. E-mail addresses: luissecheverria@fcv.org, luisedo10@gmail.com

Lyda Z. Rojas, RN, MSc, PhD(c) Biomedical Research Methodology and Public Health, Department of Paediatrics, Obstetrics, Gynaecology and Preventative, Universidad Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. Department of Epidemiology, Erasmus University Medical Center, Dr. Molewaterplein 50, Office NA29-14, P.O. Box 2040, 3000 CA Rotterdam, The Netherlands. Telephone: +31 0653150924. E-mail addresses: l.rojassanchez@erasmusmc.nl, lydarojas@fcv.org

Acknowledgments: The authors thank patients with Chagas for their participation in this study.

ABSTRACT

BACKGROUND Identification of echocardiographic (Echo) variables and natriuretic peptide levels in the initial phases of cardiac alterations in Chagas disease (ChD) is essential for diagnosis, prognosis and management. Few studies have characterized Echo transitions from the indeterminate ChD to Chagas cardiomyopathy (CCM). Furthermore cut-off thresholds to differentiate the asymptomatic from myocardial involvement stage have not been systematically determined.

OBJECTIVES To characterize multiple Echo parameters, Speckle-tracking and N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) in patients with different stages of CCM, and to identify cut-off thresholds of early changes in these parameters to distinguish different stages of CCM.

METHODS Corte transversal study conducted in 273 patients with different CCM stages. Echo parameters, NT-proBNP and other clinical variables were measured. Logistic regression models (dichotomized in stage A versus B, C and D) adjusted for age, sex, body mass index (BMI) and NT-proBNP were performed to analyze the Echo variables that succeeded in identifying significant differences between CCM severity stages using ANOVA or Kruskal-Wallis analysis. We also calculated the area under curve (AUC) and the best cut-offs for each variable.

RESULTS Left ventricular global longitudinal strain (LV GLS), mitral flow E velocity, LV mass index) and NT-proBNP, identified early changes useful to distinguish stages A vs B, C, and D. The highest AUC was for LV GLS with a cutoff -20.5% (AUC 92.88%; sensitivity 80.85%, specificity 86.67%), which improved when it was additionally adjusted by NT-proBNP with a cutoff -20.0% (AUC 94.44%; sensitivity 89.36% and 87.88% specificity). No significant differences were evident in AUC between these Echo variables and NT-proBNP (p-value=0.186 and 0.068).

CONCLUSIONS Ours findings suggest that LV GLS, mitral flow E velocity, LV mass index and NT-proBNP may be used as diagnostic variables in detecting the onset of myocardial alterations in patients with indeterminate stage of ChD. Prospective longitudinal studies are needed to validate these findings.

KEYWORDS Chagas disease, Chagas Cardiomyopathy, Echocardiography, Speckle tracking, Global longitudinal strain, NT-proBNP.

CONDENSED ABSTRACT

A Corte transversal study was conducted, including 273 patients with different severity stages of Chagas cardiomyopathy. Our findings suggest that left ventricular global longitudinal strain, mitral flow E velocity, left ventricular mass index and NT-proBNP may be used as diagnostic variables in detecting the onset of myocardial alterations in patients with indeterminate stages of Chagas disease, with a remarkably high sensitivity, specificity and areas under curve to distinguish the indeterminate form (stage A) from cardiac involvement (stages B, C, D).

ABBREVIATIONS AND ACRONYMS

AUC-ROC= Area under the receiver operating characteristic curve

BMI= Body mass index

CCM= Chagas cardiomyopathy

ChD= Chagas disease

ECG= Electrocardiogram

Echo= Echocardiogram/Echocardiographic

GLS= Global longitudinal strain

LA= Left atrial

LV= Left ventricular

LVEF= Left ventricular ejection fraction

NT-proBNP= NT-terminal pro B-type natriuretic peptide

NYHA= New York Heart Association

ST= Speckle-tracking

RV= Right ventricular

INTRODUCTION

Chagas Disease (ChD) is an important cause of heart failure in endemic countries (1). Almost half of all seropositive *T. cruzi* individuals will ultimately develop Chagas cardiomyopathy (CCM) (2) within two or three decades after initial infection (3). ChD patients have an almost 2-fold higher annual mortality rate compared to non-infected patients (4). Despite the economic impact, high morbidity and mortality associated with ChD, important aspects of its pathophysiology remain poorly understood (5-7).

CCM physiopathology is distinct from other etiologic causes of dilated cardiomyopathy as it primarily behaves as a progressive chronic myocarditis with focal fibrosis (8). Important differences exist from the clinical perspective as ChD is characterized by classical intraventricular and auricular-ventricular conduction disorders, life threatening ventricular arrhythmias often presenting as sudden death, and thromboembolic events (9-11). Predicting which patients will develop clinical manifestations of the disease and to which severity remains a challenge (5-6). Timely and accurate ChD diagnosis often requires specialized clinical expertise to recognize the unique characteristics of this disease (12).

Echocardiography has rapidly evolved in the past decade allowing further evaluation beyond systolic function (12-15). Speckle-tracking (ST), one of the newer echocardiographic techniques for measurement of myocardial strain (ϵ), quantifies global and segmental left ventricular systolic function noninvasively and may assess myocardial function deterioration early in different stages of myocardial involvement (16). Additionally, ST is a promising technique to evaluate right ventricular (RV) dysfunction providing a superior sensitivity compared to conventional 2D and Doppler assessment (17).

Few studies have characterized echocardiographically the transition from the indeterminate form of ChD to CCM. Furthermore, cutoffs to differentiate asymptomatic phases from myocardial impairment have not been clearly established (18). The need of comparative studies to estimate the sensitivity and specificity of echocardiographic (Echo) abnormalities have been suggested in order to provide an index of progression of the disease (13). Echo variables identified during the early stages of heart involvement in ChD is essential to establish diagnosis, assess prognosis and management (12). Hence, we aimed to assess multiple Echo parameters, including Speckle-tracking and level of NT-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP)

in patients in different stages of CCM, and identify the best cut-offs in these parameters to distinguish stages A vs B, C and D.

METHODS

Study Population

A Corte transversal study was conducted between July 2015 and January 2017 in the Heart Failure and Transplant Clinic and Non-invasive Cardiovascular Diagnostic services at the Cardiovascular Foundation of Colombia, in Floridablanca, Colombia.

Inclusion criteria were: (i) 18 years old or older (ii) positive IgG antibodies for *T. cruzi*, and (iii) with or without Echo and/or electrocardiographic (ECG) abnormalities consistent with CCM (left anterior fascicular block, right bundle branch block, atrioventricular blocks, ventricular premature beats, atrial fibrillation or flutter, bradycardia ≤ 50 beats/min and/or Echo findings suggestive of myocardial impairment) as evaluated by a cardiologist. Patients with uncontrolled hypertension, diabetes mellitus, history of coronary heart disease and mitral stenosis were excluded.

Patients were classified by severity stages of CCM based on electrocardiogram (ECG) and Echo results, previously reported (19-20); Stage A (normal ECG and left ventricular ejection fraction (LVEF) $>55\%$), Stage B (ECG abnormalities consistent with CCM and LVEF $>55\%$), Stage C (ECG abnormalities consistent with CCM and LVEF 40-55%), and Stage D (ECG abnormalities consistent with CCM and LVEF $<40\%$). This classification was performed by a cardiologist specialized in CCM. All patients provided written informed consent and the protocol was approved by the institutional Research Ethics committee.

Clinical Screening

At the time of enrolment, all patients underwent a structured interview and physical examination. All participants provided information on age, sex and medication use. Body mass index (BMI), New York Heart Association (NYHA) functional class and NT-proBNP measured by the electrochemiluminescence method (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), were also collected.

Echocardiography

Transthoracic echocardiography was performed using a GE Vivid S6 ultrasound system with an M4S matrix-array transducer of 1.6 - 4.3 MHz. Acquisitions were performed by a single certified and experienced cardiac sonographer blinded to the patient data. Cardiac dimensions and Doppler measurements were obtained in accordance with American Society of Echocardiography and European Association of Echocardiography recommendations (14, 21-26). M-mode echocardiography was used to measure left atrial (LA) diameter and LV end-diastolic and end-systolic diameters. Two dimensional LA and LV volumes were determined using modified Simpson's rule, with images obtained from the apical four-chamber and two-chamber views. Pulsed-wave Doppler was performed in the apical four-chamber view. From transmitral recordings, early peak (E) and late (A) diastolic filling velocities, E/A ratio, E wave deceleration time, velocity-time integral (VTI) of the E wave (VTIE), A-wave VTI (VTIA), and LA filling fraction $[VTIA/(VTIE + VTIA)]$ were obtained. The e' lateral velocity (tissue Doppler), and the E/ e' ratio was calculated. Peak S-wave inflow velocity during ventricular systole, peak D-wave in flow velocity during early phase of ventricular diastole and the corresponding S/D ratio, and peak reversed atrial wave (Ar) velocity during LA contraction were measured from pulmonary vein velocities obtained at the right upper pulmonary vein. Isovolumic relaxation time was measured from continuous-wave Doppler obtained in the apical five-chamber view. RV systolic pressure was derived from continuous-wave Doppler interrogation of tricuspid regurgitation. RV systolic function was evaluated by measuring the peak systolic myocardial velocity (RV S0) of the lateral tricuspid annulus, and tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE).

By speckle-tracking echocardiography, longitudinal strain was obtained from apical long axis, apical two-chamber and apical four-chamber views. The software automatically defined the region of interest (ROI) for the entire myocardial layer, which was divided in six color-coded segments. Special attention was given to not include pericardium or myocardial trabeculae and in most cases manual correction was required. Three cardiac cycles from each view were recorded for online analyses with a frame rate > 50 frames/sec. Peak negative longitudinal strain was assessed in 16 LV segments, defined as the peak negative value during the entire cardiac cycle, hence including postsystolic shortening, and was averaged as GLS. GLS analyses were not feasible in fourteen patients due to persistently poor tracking (94.9% with images of good quality).

Statistical Analysis

Categorical variables are presented as total number and proportions. Normality of continuous variables was assessed by histogram and the Shapiro-Wilk test. Variables with normal distribution are presented as mean \pm standard deviation, otherwise as median with first and third quartiles. To determine whether differences in variables across CCM stages were present, Chi-square and Fischer exact test were used when appropriate in categorical variables, and continuous variables were analyzed with ANOVA or Kruskal-Wallis tests followed by Bonferroni post hoc test.

Logistic regression models dichotomized in stage A versus B, C and D adjusted for age, sex, BMI (Model 1) were performed to analyze the Echo variables that succeeded in identifying significant differences between CCM severity stages in ANOVA or Kruskal-Wallis analysis. Additionally, we further adjusted for NT-proBNP levels (Model 2). The discriminatory ability of the Echo variables and NT-proBNP with the area under the receiver operating characteristic curve (AUC-ROC) were also assessed. Youden index was used to identify the best cutoff for Echo variables to distinguish stages A from B, C and D of CCM and box plots were made. A p-value < 0.05 was considered significant. All statistical tests were two-sided. All data were analyzed using STATA Statistical Software Version 15.0.

RESULTS

Study population

The study included 273 patients with different stages of ChD, distributed as follows: 96 patients had stage A, 50 stage B, 55 stage C, and 72 stage D. Median age was 56 years (Q1=49; Q3=64), and 52.01% patients were women. There was a significant increase in age (51 vs 55 vs 59 vs 64 years), and NT-proBNP (57 vs 68 vs 370 vs 2192 pg/mL) across CCM severity stages **Table 1**.

Echocardiography

LVEF tended to decrease across CCM severity stages (median 62 vs 60 vs 47 vs 28%). Four parameters of systolic function succeeded in distinguishing stage A from B, C, and D; end-diastolic interventricular septum diameter, end-diastolic posterior wall diameter, end-systolic posterior wall diameter and LV mass index.

However, the clearest pattern was for LV mass index, which increased in patients with more advanced stages of the cardiac form (median 71 vs 90 vs 107 vs 150 g/m²) (**Table 2 and Figure 1**).

In diastolic function, mitral flow E velocity and E/A ratio showed an initial decrease, and subsequent increase; conversely, A wave and DT had an initial increase and then a decrease. With respect to the e' lateral velocity and E/e' ratio, a progressive decrease and increase was observed, respectively, through the advance in the severity of the CCM stages, while mitral A duration and mitral E wave deceleration showing statistically significant differences between stages A vs C and D, but not stage B. Mitral flow E velocity was the only variable capable of distinguishing stage A from B (median 80 vs 65 vs 60 vs 74 cm/s) (**Table 2 and Figure 1**). LV GLS showed a significant decreasing trend across stages: median of -22.4 vs -19.5 vs -15.2 vs -7.2 %, p-value <0.000 (**Table 3**).

Echocardiographic parameters discrimination ability

The AUC-ROC and best cut-off point for each echocardiographic parameter and NT-proBNP that successfully distinguished stages A from B, C, D are shown in **Table 4 and Figure 2-3**.

The highest AUC-ROC was found for LV GLS (92.88%), followed by NT-proBNP (91.27%), LV mass index (86.72%) and mitral E velocity (77.71%) adjusted by age, sex, and BMI. Sensitivity and specificity to detect differences between stage A vs B, C, D for LV GLS >-20.5% were 80.85% and 86.67% respectively, while for NT-proBNP <39.0 pg/mL, sensitivity and specificity were 83.33% and 83.05% respectively. No significant difference was found in the AUC-ROC between LV GLS and NT-proBNP (AUC 92.88 vs 91.27%, p-value=0.186) (**Table 4 and Figure 2**). When the AUC-ROC were additionally adjusted by NT-proBNP all AUC improved their performance: LV GLS (94.44%), mitral flow E velocity (93.44%) and LV mass index (92.36%) (**Table 4 and Figure 3**). Cut-off of end-diastole interventricular septum diameter, end-diastole posterior wall diameter and end-systolic posterior wall diameter was not established because these variables are non-ChD specific.

DISCUSSION

The main findings of this study were determined by a clear progression in several markers of systolic and diastolic ventricular function that clearly correlated with severity and progression of Chagas disease. We identified 3 functional markers and a biomarker able to track the progression within the different stages of CCM, all with high diagnostic performance.

One of the main challenges in ChD is posed by early identification of infected individuals that will ultimately progress to develop CCM. The pathophysiological causes that lead to progressive deterioration in CCM remain uncertain. Persistent low grade infection appears to trigger an autoimmune response that leads to chronic pancarditis (27-28). Microvascular alterations that induce ischemia in the distal areas of the coronary arteries predominantly in the apex and inferior and inferolateral walls have also been reported (29-31). Garcia-Alvarez A et al. have also reported early diastolic dysfunction associated with worsening contractile function, and decreased untwisting velocity, contributing to ventricular dysfunction (32). Tassi EM et al. (33) suggested that endomyocardial fibrosis can be present in initial ChD stages in patients without systolic dysfunction; additionally, ChD patients with segmental wall motion abnormalities and preserved LVEF have worse prognosis (33). Regional GLS alteration support the pathophysiological hypothesis of a predominant focal endomyocardial fibrosis as an inherent feature of ChD leading to aneurysmatic remodeling of basal segments of the inferolateral, lateral, and all apical segments (12, 33-36).

Other investigators (32), measuring ST globally, radially and circumferentially, showed a significant decreasing trend between the groups, with lower values of longitudinal strain in the CMM group compared with the control group (non-ChD) in the midlateral, basal-septal, basal-anterior, and midanterior segments, and they found no differences in the longitudinal strain between the indeterminate patients and control group. Barbosa et al. (37) using a 2D longitudinal ST found a lower ST in the basal inferior, and inferoseptal walls, as well apical segment of the inferolateral wall compared to the control group. The GLS did not differ between controls and Chagas patients, however, Chagasic patients with focal contractile abnormalities had a lower ST than healthy controls (37). In contrast, we evidenced that GLS showed a significant decreasing trend across stages with apparently sequential order in segmental wall compromise.

In our study, LV mass index was related to CCM severity, which increased in patients with more advanced stages of CCM. This marker was able to differentiate progression among stages. Our findings are in

agreement with Nascimento et al. (38) who demonstrated significant differences across severity stages of CCM in LV mass index. In contrast, Lima et al. (39) found no differences in 8 individuals with ChD indeterminate form, 13 CCM and 21 healthy controls in LV mass index.

Other investigators (40), have previously described significant alterations in diastolic function in the indeterminate phase when compared with normal controls. Barros et al. (41) reported progression of diastolic dysfunction related with the deterioration of systolic function. Garcia-Alvarez et al. (42) found correlation of these changes in left ventricular relaxation with endomyocardial fibrosis in cardiac magnetic resonance with late enhancement, suggesting that the fundamental mechanism could be endomyocardial fibrosis. However, not all studies show diastolic dysfunction in ChD (43).

Interestingly, we observed that right ventricular dysfunction was not significantly affected in early ChD stages and changes of the right ventricular function assessed by TAPSE (a powerful surrogate of RV function), occur in a delayed manner and was only significantly altered in the final phase of the disease when the left ventricular function is very deteriorated. Our findings are in agreement with Nunes et al. (44-45) concluding that right ventricular involvement was associated with a previous severe dilatation of the left ventricle without finding isolated right heart failure in early stages.

In summary, echo showed a progressive and significant impairment in LVEF, as well as an increase in both left ventricular end systolic and diastolic diameters, and gradual increase of the LV mass index with a progression towards predominantly eccentric hypertrophy. The indices that evaluate diastolic ventricular function evidenced a deterioration to grade 2 and 3 diastolic dysfunction, given mostly by the marked decrease in e' lateral velocity, increases in mitral flow E velocity and E/A ratio.

NT-ProBNP levels were significantly increased as cardiac function worsened, as expected. Garcia-Alvarez et al. (42) suggest that the combining diastolic function and BNP levels may improve stratification of patients with ChD. Our AUC-ROC of Echo parameters improved when these were adjusted by NT-proBNP. Currently heart failure guidelines recommend assessment of NT-proBNP to establish primary diagnosis and guide heart failure treatment, given that natriuretic peptide has is objectivity, reproducible, and there is

widespread availability (11,46-47). Our findings suggest that this may also be the case in patients with Chagas cardiomyopathy.

The comparability of Echo findings with other authors become difficult owed to that we have neither included sero-negative healthy participants, nor measured radial and circumferential strain. Also, possible explanations for the differences found in findings with other authors they could be low statistical power of previous studies with limited sample size, differences regarding studied population characteristics or echocardiographic methodology and mainly differences in the classification of the groups of comparison, among other.

We performed comprehensive measures of Echo parameters in a large number of patients with different stages of ChD. We excluded other pathologies that may alter the Echo parameters examined, further strengthening our findings. Our study is probably the first to determine cut-off thresholds of early changes in these Echo variables capable of distinguishing among the different stages of CCM. However, some important limitations include; 1) Corte transversal design and therefore only association, no causal relation between Echo parameters and severity stages of CCM may be clearly established, 2) acquisitions and analyses were performed by a single experienced cardiac sonographer and cardiologist, and intra-observer variability was not evaluated, potentially limiting the reproducibility of the measurements reported, and 3) we did not included sero-negative healthy participants (Chagas-disease free) for comparison purposes, nor measured radial and circumferential strain.

CONCLUSION

We identified 3 functional markers and a biomarker able to track the progression within the different stages of CCM, all with high diagnostic performance. These easily obtained markers may be useful to detect the onset of myocardial alterations in *T. cruzi* seropositive patients, with remarkably sensitivity, specificity and areas under curve capable of distinguishing subjects in the indeterminate form (stage A) from those with cardiac involvement (stages B, C and D).

COMPETENCY IN MEDICAL KNOWLEDGE

Left ventricular global longitudinal strain, mitral flow E velocity, left ventricular mass index and NT-proBNP levels may be used as risk markers to detect the onset of myocardial alterations in *T. Cruzi* seropositive patients for Chagas disease, with a remarkably high sensitivity, specificity and areas under curve capable of identifying patients in the indeterminate form from those with Chagas cardiomyopathy.

TRANSLATIONAL OUTLOOK

Left ventricular global longitudinal strain, mitral flow E velocity, left ventricular mass index and NT-proBNP levels may represent a valuable markers for detection, management and prognosis of *T. cruzi* seropositive patients at high risk of cardiac deterioration, and may serve to direct trypanocidal and heart failure therapies in an attempt to prevent progression of CCM. Large longitudinal studies with extended follow-up are required to validate these findings.

REFERENCES

1. Costa SA, Rassi S, Freitas E et al. Prognostic Factors in Severe Chagasic Heart Failure. *Arq Bras Cardiol* 2017;108:246-254.
2. Rojas LZ, Glisic M, Pletsch-Borba L et al. Electrocardiographic abnormalities in Chagas disease in the general population: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 2018;12:e0006567.
3. Benziger CP, do Carmo GA, Ribeiro AL. Chagas Cardiomyopathy: Clinical Presentation and Management in the Americas. *Cardiol Clin* 2017;35:31-47.
4. Cucunuba ZM, Okuwoga O, Basanez MG, Nouvellet P. Increased mortality attributed to Chagas disease: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors* 2016;9:42.
5. Viotti R, Vigliano C, Lococo B et al. Clinical predictors of chronic chagasic myocarditis progression. *Rev Esp Cardiol* 2005;58:1037-44.
6. Ribeiro AL, Cavalvanti PS, Lombardi F, Nunes Mdo C, Barros MV, Rocha MO. Prognostic value of signal-averaged electrocardiogram in Chagas disease. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2008;19:502-9.
7. Lescure FX, Le Loup G, Freilij H et al. Chagas disease: changes in knowledge and management. *Lancet Infect Dis* 2010;10:556-70.

8. Moreira HT, Volpe GJ, Marin-Neto JA et al. Evaluation of Right Ventricular Systolic Function in Chagas Disease Using Cardiac Magnetic Resonance Imaging. *Circ Cardiovasc Imaging* 2017;10.
9. Lidani KCF, Bavia L, Ambrosio AR, de Messias-Reason IJ. The Complement System: A Prey of *Trypanosoma cruzi*. *Front Microbiol* 2017;8:607.
10. Perez-Molina JA, Molina I. Chagas disease. *Lancet* 2017.
11. Shen L, Ramires F, Martinez F et al. Contemporary Characteristics and Outcomes in Chagasic Heart Failure Compared With Other Nonischemic and Ischemic Cardiomyopathy. *Circ Heart Fail* 2017;10.
12. Nunes MCP, Badano LP, Marin-Neto JA et al. Multimodality imaging evaluation of Chagas disease: an expert consensus of Brazilian Cardiovascular Imaging Department (DIC) and the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI). *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2017.
13. Acquatella H. Echocardiography in Chagas heart disease. *Circulation* 2007;115:1124-31.
14. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J et al. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2010;23:685-713; quiz 786-8.
15. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2015;16:233-70.
16. Zegkos T, Parcharidou D, Ntelios D, Efthimiadis G, Karvounis H. The Prognostic Implications of Two-Dimensional Speckle Tracking Echocardiography in Hypertrophic Cardiomyopathy: Current and Future Perspectives. *Cardiol Rev* 2017.
17. Romano MMD, Moreira HT, Schmidt A, Maciel BC, Marin-Neto JA. Imaging Diagnosis of Right Ventricle Involvement in Chagas Cardiomyopathy. *Biomed Res Int* 2017;2017:3820191.
18. Moreira HT, Volpe GJ, Marin-Neto JA et al. Right Ventricular Systolic Dysfunction in Chagas Disease Defined by Speckle-Tracking Echocardiography: A Comparative Study with Cardiac Magnetic Resonance Imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2017;30:493-502.
19. Okamoto EE, Sherbuk JE, Clark EH et al. Biomarkers in *Trypanosoma cruzi*-infected and uninfected individuals with varying severity of cardiomyopathy in Santa Cruz, Bolivia. *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8:e3227.

20. Echeverria LE, Rojas LZ, Calvo LS et al. Profiles of cardiovascular biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2017;227:577-582.
21. Parada H, Carrasco HA, Anez N, Fuenmayor C, Inglessis I. Cardiac involvement is a constant finding in acute Chagas' disease: a clinical, parasitological and histopathological study. *Int J Cardiol* 1997;60:49-54.
22. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr* 2009;10:165-93.
23. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2016;17:1321-1360.
24. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2016;29:277-314.
25. Flachskampf FA, Biering-Sorensen T, Solomon SD, Duvernoy O, Bjerner T, Smiseth OA. Cardiac Imaging to Evaluate Left Ventricular Diastolic Function. *JACC Cardiovasc Imaging* 2015;8:1071-93.
26. Hu K, Liu D, Herrmann S et al. Clinical implication of mitral annular plane systolic excursion for patients with cardiovascular disease. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2013;14:205-12.
27. Cossio PM, Diez C, Szarfman A, Kreutzer E, Candiolo B, Arana RM. Chagasic cardiopathy. Demonstration of a serum gamma globulin factor which reacts with endocardium and vascular structures. *Circulation* 1974;49:13-21.
28. Schmunis GA, Cossio PM, Szarfman A, Coarasa L, Arana RM. Tissue-reacting antibodies (EVI antibodies) in nifurtimox-treated patients with Chagas's disease. *J Infect Dis* 1978;138:401-4.
29. Rochitte CE, Oliveira PF, Andrade JM et al. Myocardial delayed enhancement by magnetic resonance imaging in patients with Chagas' disease: a marker of disease severity. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1553-8.
30. Rossi MA, Tanowitz HB, Malvestio LM et al. Coronary microvascular disease in chronic Chagas cardiomyopathy including an overview on history, pathology, and other proposed pathogenic mechanisms. *PLoS Negl Trop Dis* 2010;4.

31. Simoes MV, Pintya AO, Bromberg-Marin G et al. Relation of regional sympathetic denervation and myocardial perfusion disturbance to wall motion impairment in Chagas' cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2000;86:975-81.
32. Garcia-Alvarez A, Sitges M, Regueiro A et al. Myocardial deformation analysis in Chagas heart disease with the use of speckle tracking echocardiography. *J Card Fail* 2011;17:1028-34.
33. Tassi EM, Continentino MA, Nascimento EM, Pereira Bde B, Pedrosa RC. Relationship between fibrosis and ventricular arrhythmias in Chagas heart disease without ventricular dysfunction. *Arq Bras Cardiol* 2014;102:456-64.
34. Pazin-Filho A, Romano MM, Almeida-Filho OC et al. Minor segmental wall motion abnormalities detected in patients with Chagas' disease have adverse prognostic implications. *Braz J Med Biol Res* 2006;39:483-7.
35. Terzi FV, Siqueira Filho AG, Nascimento EM, Pereira Bde B, Pedrosa RC. Regional left ventricular dysfunction and its association with complex ventricular arrhythmia, in chagasic patients with normal or borderline electrocardiogram. *Rev Soc Bras Med Trop* 2010;43:557-61.
36. Taleb MM. An Infrequent Cause of Apical Ventricular Aneurysm in the United States. *Heart Views* 2017;18:54-57.
37. Barbosa MM, Costa Rocha MO, Vidigal DF et al. Early detection of left ventricular contractility abnormalities by two-dimensional speckle tracking strain in Chagas' disease. *Echocardiography* 2014;31:623-30.
38. Nascimento CA, Gomes VA, Silva SK et al. Left atrial and left ventricular diastolic function in chronic Chagas disease. *J Am Soc Echocardiogr* 2013;26:1424-33.
39. Lima MS, Voos MC, Mathias W, Jr., Tsutsui JM. Indeterminate form of Chagas disease: is left ventricular torsional mechanics a clue to subclinical myocardial abnormalities? *J Echocardiogr* 2017;15:6-12.
40. Cianciulli TF, Lax JA, Saccheri MC et al. Early detection of left ventricular diastolic dysfunction in Chagas' disease. *Cardiovasc Ultrasound* 2006;4:18.
41. Barros MV, Machado FS, Ribeiro AL, Rocha MO. Diastolic function in Chagas' disease: an echo and tissue Doppler imaging study. *Eur J Echocardiogr* 2004;5:182-8.
42. Garcia-Alvarez A, Sitges M, Pinazo MJ et al. Chagas cardiomyopathy: the potential of diastolic dysfunction and brain natriuretic peptide in the early identification of cardiac damage. *PLoS Negl Trop Dis* 2010;4.

43. Pazin-Filho A, Romano MM, Gomes Furtado R et al. Left ventricular global performance and diastolic function in indeterminate and cardiac forms of Chagas' disease. *J Am Soc Echocardiogr* 2007;20:1338-43.
44. Nunes Mdo C, Barbosa Mde M, Brum VA, Rocha MO. Morphofunctional characteristics of the right ventricle in Chagas' dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2004;94:79-85.
45. Nunes Mdo C, Rocha MO, Ribeiro AL et al. Right ventricular dysfunction is an independent predictor of survival in patients with dilated chronic Chagas' cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2008;127:372-9.
46. Yang F, Wang Q, Zhi G et al. The application of lung ultrasound in acute decompensated heart failure in heart failure with preserved and reduced ejection fraction. *Echocardiography* 2017;34:1462-1469.
47. M FP. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice : The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts). *Int J Behav Med* 2017;24:321-419.

Table 1. Patient characteristics according to severity stages of Chagas cardiomyopathy

Variables	Stages					p-value
	All (n=273)	A (n=96)	B (n=50)	C (n=55)	D (n=72)	
Sex						
Women	142 (52.01)	63 (44.37)	22 (15.49)	27 (19.01)	30 (21.13)	0.009
Men	131 (47.99)	33 (25.19)	28 (21.37)	28 (21.37)	42 (32.06)	
Age (years)	56 (49-64)	51 (44-56)	55 (46-64)	59 (54-66)	64 (56-70)	0.000
BMI (kg/m²)	26 (23-29)	26 (23-30)	26 (23-30)	26 (23-28)	24 (22-27)	0.005
NYHA functional class						
I-II	248 (90.84)	96 (38.71)	45 (18.15)	51 (20.56)	56 (22.58)	0.000
III-IV	25 (9.16)	0 (0.00)	5 (20.00)	4 (16.00)	16 (64.00)	
NT-proBNP (pg/mL)	159 (56-957)	57 (31-87)	68 (37-188)	370 (186-646)	2192 (1133-6283)	0.000
Medications						
ACEI or ARB	128 (46.89)	5 (3.91)	18 (14.06)	42 (32.81)	63 (49.22)	0.000
Beta-blocker	139 (50.92)	7 (5.04)	19 (13.67)	44 (31.65)	69 (49.64)	0.000
Aldosterone antagonist	92 (33.70)	0 (0)	8 (8.70)	24 (26.09)	60 (65.22)	0.000
Diuretic	72 (26.37)	2 (2.78)	8 (11.11)	15 (20.83)	47 (65.28)	0.000
Digoxin	26 (9.52)	0 (0)	1 (3.85)	5 (19.23)	20 (76.92)	0.000

Continuous variables are expressed as median (first-third quartile). Categorical variables are expressed as absolute values and %. p-value of Kruskal-Wallis, Chi²/Exact Fischer test.

Abbreviations: BMI=Body mass index; NYHA=New York Heart Association; NT-proBNP=N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide; ACEI=angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARB= Angiotensin receptor blocker.

Table 2. Echocardiographic findings according to severity stages of Chagas cardiomyopathy

Variable	Stages					p-value
	All (n=273)	A (n=96)	B (n=50)	C (n=55)	D (n=72)	
Systolic Function						
LVEF (%)	55 (39-61)	62 (59-65) ^{CD}	60 (58-65) ^{CD}	47 (44-52) ^D	28 (20-35)	0.000
LV end-diastole (mm)	53 (48-63)	49 (46-52) ^{CD}	51 (47-53) ^{CD}	57(52-62) ^D	68 (63-74)	0.000
LV end-systolic (mm)	36 (30-50)	30 (27-32) ^{CD}	32 (30-36) ^{CD}	43 (37-47) ^D	59 (52-66)	0.000
LV IVS end-diastole (mm)	9 (7-11)	8 (7-9) ^{BCD}	9 (8-11) ^{CD}	10 (8-12) ^D	10 (7-11)	0.000
LV IVS end-systolic (mm)	13 (11-14)	13 (11-14)	13 (12-15) ^D	13 (11-14) ^D	11 (9-14)	0.000
LV posterior wall end-diastole (mm)	8 (7-9)	8 (7-8) ^B	9 (7-10) ^D	8 (7-9)	7 (6-9)	0.000
LV posterior wall end-systolic (mm)	12 (10-14)	13 (11-14) ^{BCD}	14 (13-15) ^{CD}	11 (9-14) ^D	9 (7-11)	0.000
LV mass index (g/m ²)	93 (71-125)	71 (61-81) ^{BCD}	90 (75-103) ^{CD}	107 (83-132) ^D	150 (118-184)	0.000
LV relative wall thickness	0.29 (0.23-0.35)	0.31 (0.27-0.35) ^D	0.35 (0.30-0.39) ^{CD}	0.29 (0.24-0.34) ^D	0.22 (0.17-0.26)	0.000
TAPSE (mm)	18.4±5.0	21.3±3.6 ^{CD}	20.7±3.7 ^{CD}	17.5±4.2 ^D	13.8±4.4	0.000
MAPSE (mm)	12 (8-14)	14 (12-15) ^{CD}	13 (11-15) ^{CD}	10 (8-12) ^D	7 (5-9)	0.000
Diastolic Function						
Mitral flow E velocity (cm/s)	73 (56-89)	80 (69-93) ^{BC}	65 (59-79)	60 (46-81) ^D	74 (54-93)	0.000
Mitral flow A velocity (cm/s)	58 (44-73)	55 (46-71)	63 (43-75)	61 (53-73)	55 (30-74)	0.139
E/A ratio	1.2 (0.8-1.8)	1.4 (1.0-1.8) ^C	1.1 (0.8-1.5)	0.9 (0.6-1.2) ^D	1.7 (0.7-3.1)	0.000
Mitral E wave deceleration	199 (162-244)	196 (174-223) ^{CD}	224 (181-251) ^D	239 (192-280) ^D	161 (142-204)	0.000
A Duration (ms)	155 (139-166)	144 (139-161) ^{CD}	155 (144-166)	161 (144-177)	161 (144-177)	0.012

e' lateral velocity (cm/s)	10 (7-13)	13 (11-16) ^{CD}	12 (9-15) ^{CD}	8 (6-11)	7 (5-9)	0.000
a' lateral velocity (cm/s)	10.7±3.7	11.9±3.4 ^D	12.1±3.1 ^D	10.9±3.3 ^D	7.8±3.3	0.000
E/e' lateral ratio	6.8 (5.2-9.3)	5.8 (5.0-7.2) ^{CD}	5.8 (4.3-7.6) ^{CD}	7.8 (5.7-9.7) ^D	9.9 (7.8-13.3)	0.000
Diastolic Function						
Normal	150 (58.59)	90 (93.75)	36 (75.00)	19 (37.25)	5 (8.20)	***
I	45 (17.58)	5 (5.21)	8 (16.67)	17 (33.33)	15 (24.59)	
II	31 (12.11)	0 (0.0)	2 (4.17)	13 (25.49)	16 (26.23)	
III-IV	30 (11.72)	1 (1.04)	2 (4.17)	2 (3.92)	25 (40.98)	
Grade of aortic insufficiency						
Normal (no insufficiency)	233 (86.30)	92 (95.83)	45 (90.00)	44 (81.48)	52 (74.29)	0.001
I-II	23 (8.52)	2 (2.08)	5 (10.00)	5 (9.26)	11 (15.71)	
III-IV	14 (5.19)	2 (2.08)	0 (0.00)	5 (9.26)	7 (10.00)	
Grade of mitral insufficiency						
Normal (no insufficiency)	185 (68.01)	93 (96.88)	42 (84.00)	35 (63.64)	15 (21.13)	0.000
I-II	41 (15.07)	3 (3.13)	8 (16.00)	14 (25.45)	16 (22.54)	
III-IV	46 (16.91)	0 (0.00)	0 (0.00)	6 (10.91)	40 (56.34)	
Other parameters						
LA volume index (mL/m ²)	34 (25-51)	27 (23-31) ^{CD}	31 (23-39) ^{CD}	41 (31-55) ^D	59 (43-82)	0.000

Continuous variables are expressed as mean (standard deviation) or median (first-third quartile). p-value of ANOVA/Kruskal-Wallis test. Values with superscript letter are significantly different from each of the indicated groups based on multiple comparison Bonferroni test ($p < 0.05$).

Abbreviations: LVEF=left ventricular ejection fraction; LV=left ventricular; IVS=interventricular septum; TAPSE=tricuspid annular plane systolic excursion; MAPSE=mitral annular plane systolic excursion; LA= Left auricular.

Table 3. Left ventricular myocardial longitudinal strain according to severity stages of Chagas cardiomyopathy

Variable		Stages					p-value
		All (n=273)	A (n=96)	B (n=50)	C (n=55)	D (n=72)	
LV GLS (%)		-18.9 (-21.6;-11.1)	-22.4 (-24.2; -20.6) ^{BCD}	-19.5 (-20.9; -17.6) ^{CD}	-15.2 (-17.4; -12.6) ^D	-7.2 (-9.9; -5.6)	0.000
Septal wall	Basal (%)	-14 (-17;-10)	-17 (-19; -15) ^{BCD}	-14 (-17; -11) ^D	-13 (-16; -8.5) ^D	-8 (-11; -5)	0.000
	Mid (%)	-19 (-22; -13)	-22.5 (-25;-20) ^{BCD}	-20 (-22; -18) ^D	-18 (-20; -14) ^D	-10 (-13; -5)	0.000
	Apical (%)	-22 (-29; -13)	-29 (-32; -27) ^{BCD}	-24 (-27; -21) ^{CD}	-19 (-23.5; -16) ^D	-7 (-12; 2)	0.000
Lateral wall	Basal (%)	-16 (-21; -4)	-21 (-24; -18) ^{CD}	-19 (-22; -16) ^{CD}	-12 (-16; -3.5) ^D	3 (-7; 7)	0.000
	Mid (%)	-18.5 (-22; -7)	-22 (-25; -20) ^{CD}	-21 (-22; -18) ^{CD}	-14 (-18; -10) ^D	-2 (-6; 4)	0.000
	Apical (%)	-19 (-25; -9)	-25.5 (-29; -22) ^{BCD}	-21 (-24; -17) ^{CD}	-17 (-20; -9.5) ^D	-6 (-10; 0)	0.000
Inferior wall	Basal (%)	-16 (-21; -11)	-21 (-24; -18) ^{CD}	-18 (-21; -15) ^{CD}	-15 (-17.5; -12) ^D	-7 (-12; -2)	0.000
	Mid (%)	-19 (-23; -12)	-23 (-25; -21) ^{BCD}	-20 (-22; -17) ^D	-16 (-19; -14) ^D	-7 (-11; -4)	0.000
	Apical (%)	-22 (-27; -13)	-28 (-31; -25) ^{BCD}	-22 (-27; -20) ^D	-19.5 (-22.5; -14.5) ^D	-6 (-12; 4)	0.000
Anterior wall	Basal (%)	-16 (-20; -11)	-19.5 (-23; -16) ^{CD}	-17 (-20; -15) ^{CD}	-14 (-18; -11) ^D	-8 (-12; -1)	0.000
	Mid (%)	-18 (-23; -13)	-23 (-24; -19) ^{CD}	-21 (-23; -18) ^{CD}	-17 (-20; -15) ^D	-8 (-13; -4)	0.000
	Apical (%)	-18 (-24; -9)	-24 (-28; -20) ^{BCD}	-21 (-23; -17) ^D	-17 (-20; -10) ^D	-4 (-9; 0)	0.000
Inferolateral wall	Basal (%)	-15 (-20; -4)	-20.5 (-23; -17) ^{CD}	-17 (-21; -14) ^{CD}	-13 (-16; 4.5) ^D	3 (-6; 6)	0.000
	Mid (%)	-19 (-23; -9)	-23 (-25; -20) ^{BCD}	-21 (-23; -18) ^{CD}	-15 (-21; -10) ^D	-4 (-8; 4)	0.000
Anteroseptal wall	Basal (%)	-17 (-20; -12)	-19 (-23; -16) ^{CD}	-18 (-21; -16) ^D	-16.5 (-20; -11) ^D	-12 (-15; -8)	0.000
	Mid (%)	-20 (-23; -13)	-23 (-25; -20) ^{CD}	-22 (-23; -18) ^D	-19 (-21.5; -15) ^D	-10 (-14; -7)	0.000

Continuous variables are expressed as median (first-third quartile). p-value of Kruskal-Wallis test. Values with superscript letter are significantly different from each of the indicated groups based on multiple comparison Bonferroni test (p<0.05). **Abbreviations:** LV= left ventricular; GLS= global longitudinal strain.

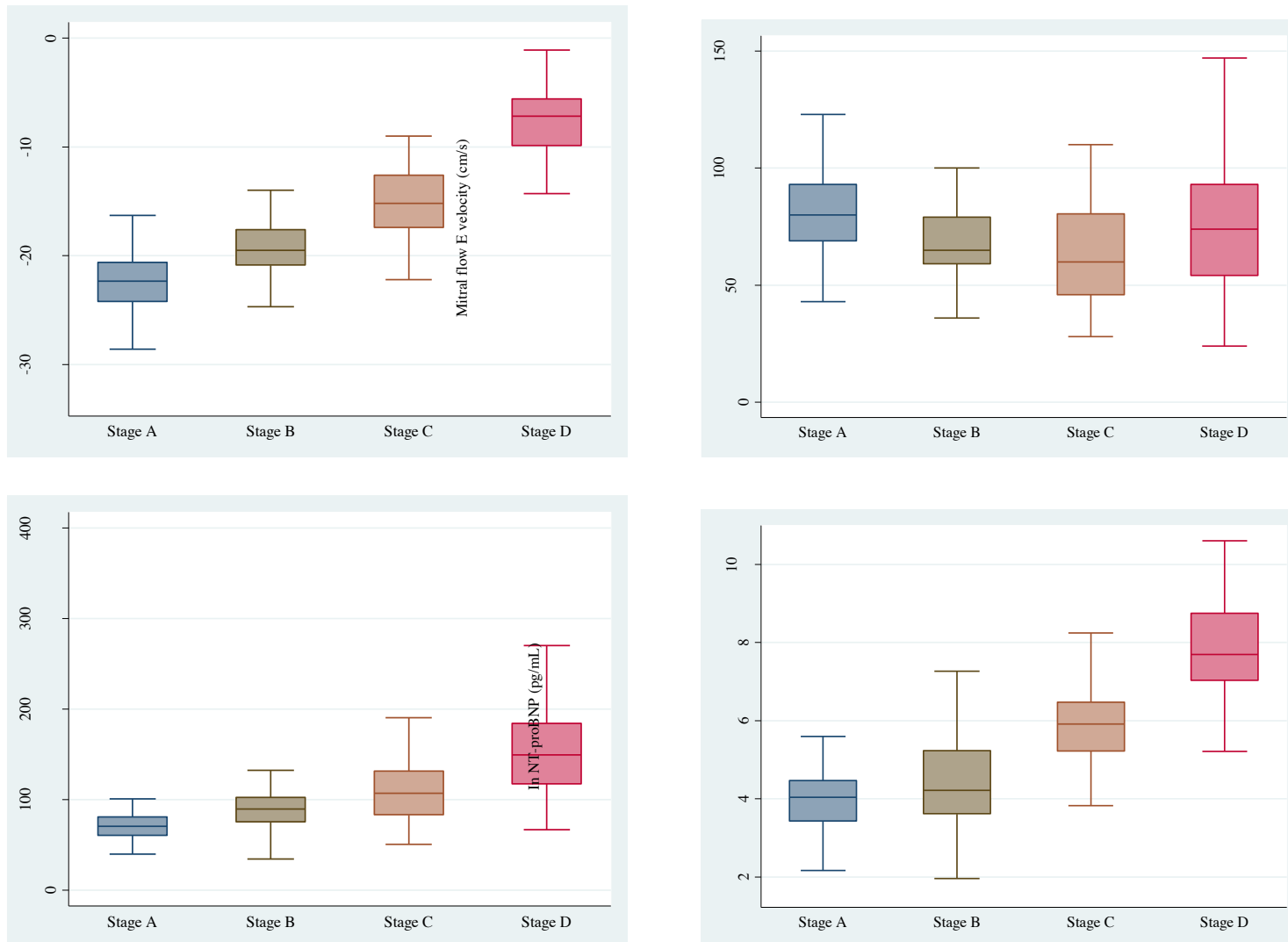
Table 4. ROC curves of echocardiographic parameters and NT-proBNP to discriminate severity Chagas cardiomyopathy (stages A vs B, C, D)

Parameters	AUC* (%)	95% CI	Select cut-off	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Correctly classified (%)
LV GLS (%)*	92.88	89.91; 95.85	-20.5	80.85	86.67	84.56
NT-proBNP (pg/mL)*	91.27	87.88; 94.66	39.1	83.33	83.05	83.15
LV mass index (g/m ²)*	86.72	82.29; 91.14	62.6	70.53	86.21	80.67
Mitral flow E velocity (cm/s)*	77.71	71.86; 83.55	87.0	49.47	85.29	72.45
LV GLS (%)†	94.44	91.79; 97.09	-20.0	89.36	87.88	88.42
Mitral flow E velocity (cm/s)†	93.44	90.49; 96.39	75.0	82.11	87.06	85.28
LV mass index (g/m ²) †	92.36	89.23; 95.48	64.9	84.21	84.48	84.39

*AUC for each variable adjusted by age, sex and body mass index; †AUC for each variable adjusted by age, sex, body mass index and NT-proBNP.

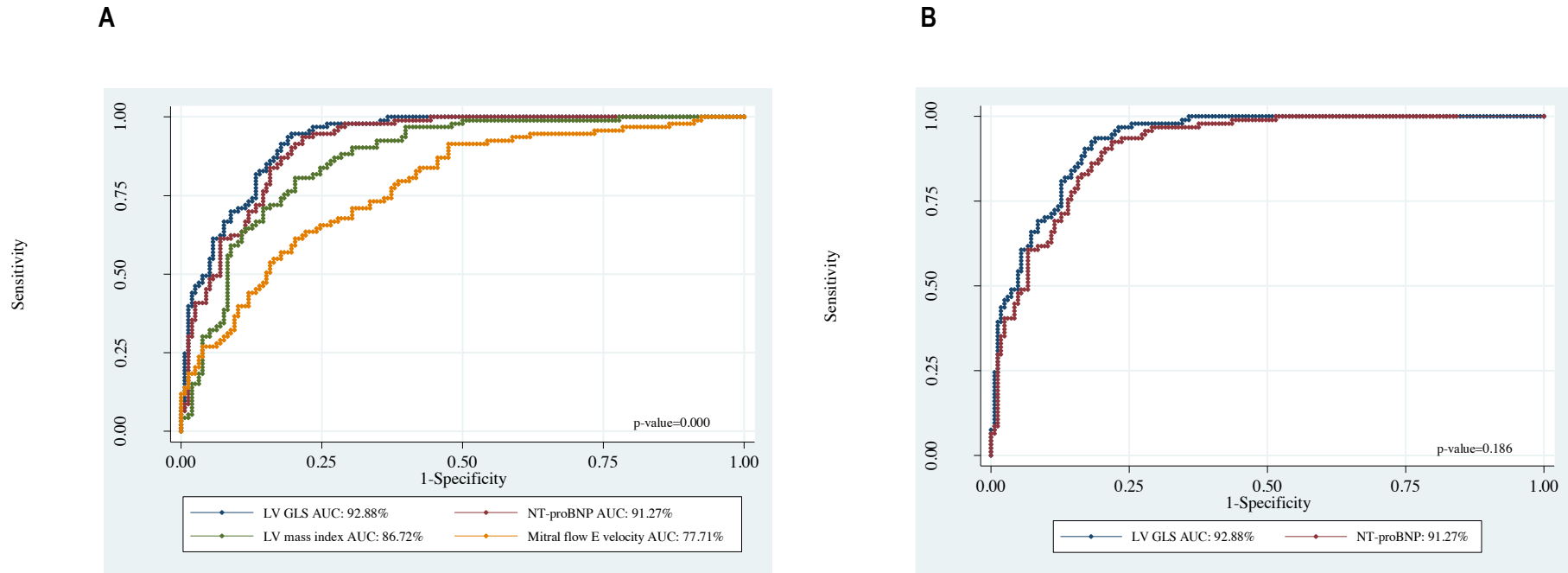
Abbreviations: ROC= Receiver operating characteristic; AUC= Area under curve; LV= left ventricular; GLS= global longitudinal strain; NT-proBNP=N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide.

Figure 1. Box plots of LV GLS, mitral flow E velocity, LV mass index and NT-proBNP according stages severity Chagas cardiomyopathy



Abbreviations: LV= left ventricular; GLS= global longitudinal strain; NT-proBNP=N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide.

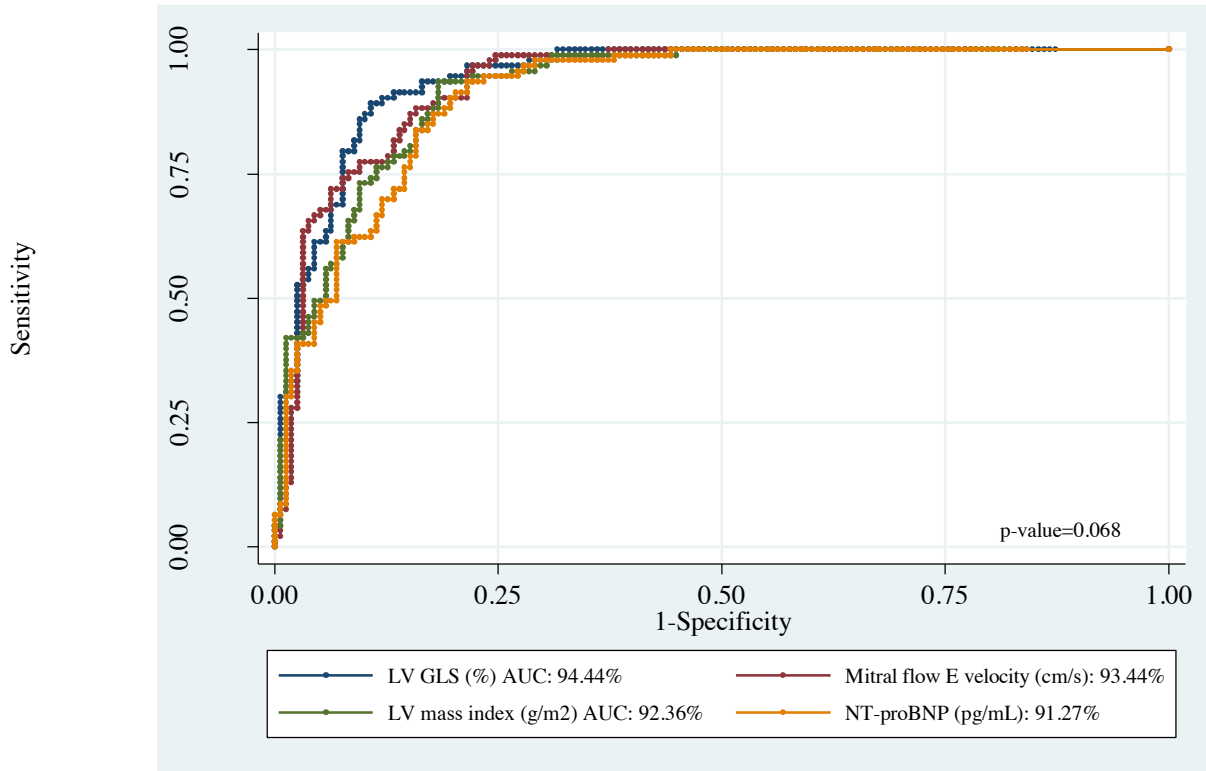
Figure 2. ROC curves. The curves compare stages A vs B,C, D in Chagas cardiomyopathy patients, adjusted by age, sex and body mass index



A. AUC-ROC for each echocardiographic parameter and NT-proBNP; **B.** AUC-ROC of LV GLS compared with NT-proBNP

Abbreviations: **ROC**= Receiver operating characteristic; **AUC**= Area under curve; **LV**= left ventricular; **GLS**= global longitudinal strain; **NT-proBNP**=N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide.

Figure 3. ROC curves for each echocardiographic parameter and NT-proBNP. The curves compare stages A vs B,C, D in Chagas cardiomyopathy patients, adjusted by age, sex, body mass index and NT-proBNP



Abbreviations: ROC= Receiver operating characteristic; AUC= Area under curve; LV= left ventricular; GLS= global longitudinal strain; NT-proBNP=N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide.

Anexo 3. Artículo “Profiles of cardiovascular biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy” y material suplementario.

Título: Profiles of cardiovascular biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy

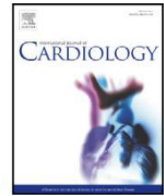
Autores: Luis E. Echeverría*, **Lyda Z. Rojas***, Lauren S. Calvo, Zayne M. Roa, Oscar L. Rueda-Ochoa, Carlos A. Morillo, Taulant Muka, Oscar H. Franco

*Indican igual contribución

Revista: International Journal of Cardiology. 2017; (227): 577-582.

Factor de Impacto 2016: 6.189 Q1

DOI: 10.1016 / j.ijcard.2016.10.098.



Profiles of cardiovascular biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy☆



Luis E. Echeverría^{a, 1,2}, Lyda Z. Rojas^{b,c,d, 1,3}, Lauren S. Calvo^{d,2}, Zayne M. Roa^{d,2}, Oscar L. Rueda-Ochoa^{c,e,4}, Carlos A. Morillo^{f,5}, Taulant Muka^{c,4}, Oscar H. Franco^{c,6}

^a Heart Failure and Heart Transplant Clinic, Fundación Cardiovascular de Colombia, Floridablanca, Colombia

^b Department of Paediatrics, Obstetrics, Gynaecology and Preventative, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain

^c Department of Epidemiology, Erasmus MC — University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, The Netherlands

^d Research Center Fundación Cardiovascular de Colombia, Floridablanca, Colombia

^e Electrocardiography Research Group, Medicine School, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

^f Department of Medicine, Cardiology Division, McMaster University, PHRI-HHSC, Hamilton, Ontario, Canada

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 August 2016

Received in revised form 27 October 2016

Accepted 28 October 2016 Available online 1

November 2016

Keywords:

Chagas disease
Cardiomyopathy
Biomarkers
Heart failure

ABSTRACT

Background/objectives: Up to 30 to 40% of Chagas patients exhibit cardiomyopathy with different degrees of cardiac involvement. Biomarkers may help in differentiation of the severity of Chagas cardiomyopathy (CCM). This study sought to examine the diagnostic value of a panel of biomarkers to distinguish the severity of (CCM).

Methods: 100 patients with CCM were included in this cross-sectional study. Based on electrocardiogram and echocardiogram, CCM patients were classified in three stages according to disease's severity. Levels of high-sensitivity cardiac troponin T (Hs-cTnT), N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP), galectin-3 (Gal-3), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), soluble ST2 (sST2) and cystatin-c (Cys-c) were measured. Logistic regression models were used to assess the association between levels of natural log-transformed values of biomarkers and stages C/D versus B. We also calculated the area under curve (AUC) for each of the models.

Results: In models adjusted for age, sex, body mass index, kidney function and medication use, increased levels of NT-proBNP (per 1 unit natural log-transformed values, odds ratio (OR) = 5.55; 95CI%:1.65–18.72) and Hs-cTnT (per 1 unit natural log-transformed values, OR = 7.11; 95CI%:1.41–35.90) showed significant association with the severity of CCM per 1 unit increase of biomarkers. The accuracy of NT-proBNP and Hs-cTnT for diagnosis of the severity of CCM was high: AUC of 0.968 and 0.956 respectively. No significant difference was found in the AUC between NT-proBNP and Hs-cTnT. No association was found between Gal-3, NGAL, sST2 and Cys-C and severity of CCM.

Conclusions: NT-proBNP and Hs-cTnT have both same diagnostic value in distinguishing severity of CCM.

© 2016 Published by Elsevier Ireland Ltd.

Abbreviations: AUC-ROC, area under the receiver operating characteristic curve; CCM, Chagas cardiomyopathy; Cys-c, cystatin c; ECG, electrocardiographic; Echo, echocardiographic; eGFR, estimated glomerular filtration rate; Gal-3, galectin-3; HF, heart failure; Hs-cTnT, high sensitivity troponin T; LVEF, left ventricular ejection fraction; NGAL, neutrophil gelatinase-associated lipocalin; NT-proBNP, N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide; sST2, soluble ST2.

☆ All authors take responsibility for all aspects of the reliability and freedom from bias of the data presented and their discussed interpretation.

Correspondence to: L.E. Echeverría, Fundación Cardiovascular de Colombia, Calle 155ª No 23–58 Urbanización El Bosque, P.O. Box 681001, Floridablanca, Colombia.

Correspondence to: L.Z. Rojas, Department of Epidemiology, Erasmus University Medical Center, Dr. Molewaterplein 50, Office NA29-14, P.O. Box 2040, 3000 CA Rotterdam, The Netherlands.

E-mail addresses: luisecheverria@fcv.org, luisedo10@gmail.com (L.E. Echeverría), l.rojassanchez@erasmusmc.nl, lydarojas@fcv.org (L.Z. Rojas), laurencalvo@fcv.org (L.S. Calvo),

zayneroa@fcv.org (Z.M. Roa), o.ruedaochoa@erasmusmc.nl (O.L. Rueda-Ochoa), morillo@hhsc.ca (C.A. Morillo), t.muka@erasmusmc.nl (T. Muka), o.franco@erasmusmc.nl (O.H. Franco).¹

Indicates equal contribution.

² Calle 155A No 23–58 Urbanización El Bosque., Box 681001, Floridablanca, Colombia. ³ Dr.

Molewaterplein 50, Office Na 29–14, 3000 CA Rotterdam, The Netherlands.

⁴ Dr. Molewaterplein 50, Office Na 29–05, 3000 CA Rotterdam, The Netherlands. ⁵ 237

Barton St. E., Hamilton, Ontario L8L2x2, DBCVSRI, Rm. C3-120, Canada.

⁶ Dr. Molewaterplein 50, Office Na 29–16, 3000 CA Rotterdam, The Netherlands.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.10.098>

0167-5273/© 2016 Published by Elsevier Ireland Ltd.

1. Introduction

Chagas, a disease caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, affects 8–10 million worldwide [1,2]. Infection with *T. cruzi* has two successive phases: acute and chronic, separated by an indeterminate period, in which the patient is relatively asymptomatic [3]. 30 to 40% of chronically infected patients progress to cardiac and/or digestive pathologic involvement, with cardiomyopathy being the main clinical feature of chronic Chagas [4]. Chagas cardiomyopathy (CCM) is characterized by conduction abnormalities, arrhythmias and left ventricular diastolic and/or systolic dysfunction with or without heart failure (HF) [5]. HF and sudden death account for 70% and 30% of deaths respectively [6,7].

Biomarkers that correlate with disease's severity can help clinical decision making to improve the care of patients with Chagas cardiomyopathy. While several biomarkers have been established to have diagnostic and prognostic value in HF of other etiologies, to date, few studies have been carried out in patients with CCM to identify bio-markers that can be used in the classification of cardiomyopathy [8–10]. CCM, while shares some common pathophysiological features with classical heart failure, has several peculiarities, such as frequent ventricular arrhythmias, and several forms and grades of conduction disturbances, including sinus bradycardia, complete atrioventricular block, and right bundle block [11–13]. Few reports from Latin America including CCM patients have examined the role of cardiac biomarkers, such N-terminal pro B-type natriuretic and high-sensitivity cardiac troponin and have shown their levels to relate to the severity of CCM [8–10]. It remains unknown, however, whether other markers of cardiac function, including, galectin-3 and soluble ST2 [14,15], can be used to distinguish the severity of CCM. Also, neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin-c are markers of kidney injury, and their levels correlate with HF severity but little is known about their role in CCM [16,17].

In this study, we tested the diagnostic value of six plasma biomarkers to differentiate the severity of CCM.

2. Material and methods

2.1. Study population

A cross-sectional pilot study was performed between July to December 2015 in the Heart Failure and Heart Transplant Clinic of Fundación Cardiovascular, in Floridablanca, Colombia. All patients attending a medical check were eligible for inclusion and the first 100 patients were invited to participate in a detailed standardized evaluation. In this study, we included patients if they (i) were 18 years old or older (ii) had positive IgG antibodies for *T. cruzi*, and (iii) had echocardiographic (echo) and/or electrocardiographic (ECG) abnormalities consistent with CCM (left anterior fascicular block, left bundle branch block, right bundle branch block, atrioventricular blocks, ventricular premature beats, atrial fibrillation or flutter, bradycardia ≤ 50 h/min and/or echocardiographic finding suggested myocardial compromise) as evaluated by a cardiologist. We did not include patients with uncontrolled hypertension, diabetes mellitus, history of coronary heart disease and mitral stenosis. All patients gave written informed consent and the Committee on Research Ethics of the institution approved the research protocol.

2.2. Clinical screening

All participants were asked about their socioeconomic status, lifestyle factors, and medication use. For all participants, we additionally assessed body mass index, left ventricular ejection fraction (LVEF), estimated glomerular filtration rate (eGFR) and collected fasting serum samples for assessment of six biomarkers: N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) was measured using the electrochemiluminescence method (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). High sensitivity troponin T (Hs-cTnT) was measured with a highly sensitive assay on an automated platform (ECLIA Elecsys 2010 analyzer, Roche Diagnostics, Germany). Galectin-3 (Gal-3) was assessed by using a quantitative method. It is an ELFA (enzyme-linked fluorescent assay) technique (VIDAS, Biomerieux, Marcy l'Étoile, France). The Alere Triage® NGAL test was used to assess Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL). Soluble ST2 (sST2) was measured from banked serum by Critical Diagnostics Presage™ sST2 assay kit via enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Cystatin c (Cys-c) was measured by an immunologic turbidimetric assay (Tina-quant Cystatin C cobas®).

2.3. Chagas cardiomyopathy classification

Patients were classified by severity stages of CCM based on ECG and echocardiogram results, taking into account the criteria utilized previously by Okamoto et al. [10]; stage B (ECG abnormalities consistent with CCM and LVEF $\geq 55\%$), stage C (ECG abnormalities consistent with CCM and LVEF 40–55%), and stage D (ECG abnormalities consistent with CCM and LVEF $\leq 40\%$). The classification was done by a cardiologist specialized in CCM. We decided a priori not to include asymptomatic patients with stage A of CCM in the study.

2.4. Statistical analysis

Continuous variables are reported as median and first and third percentile unless stated otherwise and categorical variables were presented as percentages. To see if there were differences in population characteristics across CCM stages, we used Chi-square and Fischer exact test for categorical variables and Kruskal-Wallis test. We used natural log-transformed values of biomarkers concentrations to better approximate normal distribution. ANOVA tests and Bonferroni test was used to explore whether levels of natural log-transformed biomarkers were different across severity stages of CCM. Because of a limited number of patients included in the 3 stages of CCM, the outcome was dichotomized in stage C/D (LVEF $\leq 55\%$) versus B (LVEF $\geq 55\%$). First, univariate (Model 1) logistic regression analyses were performed to analyze biomarkers (as continuous variables) in relation to CCM stages (stage C/D versus B). Then, in Model 2, we adjusted for age, sex, body mass index and kidney function. Subsequently, to account for the effect of treatment, we further adjusted for medications use (Model 3) (angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker, beta-blocker, aldosterone antagonist and diuretic). We quantified the discriminatory ability of the biomarkers with the area under the receiver operating characteristic curve (AUC-ROC). Youden index was used to identify the best bio-markers cut off level to distinguish among stage C/D versus B of CCM. Also, we compared the AUC of NT-proBNP versus all biomarkers. Furthermore, as a sensitivity analysis, we (i) repeated all main analyses using normal values of biomarkers; and (ii) examined the association of biomarkers with left ventricular ejection fraction. A p-value ≤ 0.05 was considered significant. All statistical tests were two-sided. All data were analyzed using Stata Statistical Software, version 14.

3. Results

3.1. Characteristics of the study population

Characteristics of the study population are shown in Table 1. The age of the participants varied from 29 to 79 years. Out of 100 included participants, 26 patients had stage B of CCM, 29 stage C and 45 stage D. No significant differences were found by sex or functional class across CCM stages while age tended to increase across CCM severity stages (p-value = 0.014). There was a significant decrease in LVEF (61 vs. 47 vs. 25%, p-value < 0.000), body mass index (27.2 vs. 25.7 vs. 23.8 kg/m², p-value < 0.008) and eGFR (61 vs. 61 vs. 55 mL/min/1.73m², p-value < 0.000) as the severity stage increase (Table 1).

3.2. Biomarkers and severity of CCM

Table 2 shows biomarker levels across CCM stages. Mean levels of NT-proBNP (4.35 vs. 6.14 vs. 7.99 pg/mL), Hs-cTnT (1.59 vs. 2.43 vs. 3.15 ng/L), NGAL (4.25 vs. 4.40 vs. 4.94 ng/mL) and Cys-c (−0.08 vs. 0.05 vs. 0.036 mg/L) increased with increasing severity of CCM. NT-proBNP and Hs-cTnT levels were statistically significantly different between all severity stages of CCM (stage B vs. C, B vs. D and C vs. D), while there was no significant difference in the levels of other biomarkers between intermediate stages (B and C). In multivariable logistic regression models adjusted for body mass index, age, sex and eGFR, higher levels of natural log transformed NT-proBNP (per 1 unit increase, OR = 7.224, p = 0.000), Hs-cTnT (per 1 unit increase, OR = 6.327, p = 0.001), NGAL (per 1 unit increase, OR = 6.047, p = 0.016) and Cys-C (per 1 unit increase, OR = 111.97, p = 0.017) were associated with increased odds of having stage C/D versus B. Further adjustment for medication use did not materially affect the associations of Hs-cTnT and NT-proBNP with severity of CCM, but abolished the associations of NGAL and Cys-C (Table 3). No associations were found between sST2 and Gal-3 levels with CCM's severity (Table 3).

Table 1
Sociodemographic and clinical characteristics according to severity stages of Chagas cardiomyopathy (n = 100).

Variable	Stage B (n = 26)	Stage C (n = 29)	Stage D (n = 45)	p-Value
Sex				
Women	13	13	19	0.817
Men	13	16	26	
Age (years)	55 (46–64)	61 (56–67)	65 (56–74)	0.014*
NYHA functional class				
I–II	22	24	29	0.105
III–IV	4	5	16	
LVEF (%)	61 (59–65)	47 (43–52)	25 (20–31)	0.000*
Body mass index (kg/m ²)	27.2 (24.5–32.0)	25.7 (23.3–27.7)	23.8 (21.3–27.5)	0.008*
eGFR (mL/min/1.73m ²)	61 (61–61)	61 (56–61)	55 (43–61)	0.000*
Medications				
ACEI or ARB				
Yes	7	24	40	0.000*
No	19	5	5	
Beta-blocker				
Yes	9	25	43	0.000*
No	17	4	2	
Aldosterone antagonist				
Yes	3	15	40	0.000*
No	23	14	5	
Digoxin				
Yes	0	2	15	0.000*
No	26	27	30	
Diuretic				
Yes	4	11	35	0.000*
No	22	18	10	
Antiplatelet				
Yes	6	14	9	0.024*
No	20	15	36	

Stage A wasn't included; this table contains %, median and first and third quartile.

Abbreviations: NYHA = New York Heart Association; LVEF = left ventricular ejection fraction; eGFR = estimated glomerular filtration rate; ACEI = angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARB = angiotensin receptor blocker; * = p-value b 0.05 of chi2, exact Fischer or Kruskal–Wallis test.

3.3. Diagnostic test

AUC-ROC for each biomarker with the best cut-off point for the detection of the severity of CCM is shown in Table 4. The highest AUC (0.968) was found for NT-proBNP, followed by Hs-cTnT (0.956), Cys-c (0.944), NGAL (0.944), sST2 (0.938) and Gal-3 (0.935). The sensitivity and specificity to detect the severity of CCM for NT-proBNP >4.49 pg/ml were 93.24% and 76.92% respectively; while for Hs-cTnT >2.66 ng/L, the sensitivity and specificity were 95.95% and 73.08% respectively (Table 4). No significant difference was found in the AUC between NT-proBNP and Hs-cTnT (AUC 0.968 vs. 0.956, p-value = 0.424) (Fig. 1). Also, compared to individual assessment of NT-proBNP and Hs-cTnT, a different combination of biomarkers did not provide any additional diagnostic value in distinguishing the severity stages of CCM (Supplementary Tables S4–S5).

3.4. Sensitivity analysis

Using original values of biomarkers provided similar results (Supplementary Tables S1–S3). Also, we found that higher levels of NT-proBNP,

Hs-cTnT, ST2, NGAL and cystatin C were associated with low left ventricular ejection fraction (all p-values <0.002, Supplementary Table S6). No association was found between galactin-3 and left ventricular ejection fraction (Supplementary Table S6).

3.5. Discussion

In this cross-sectional study of CCM patients, we found that among 6 biomarkers examined, NT-proBNP and Hs-cTnT were associated with staged of CCM severity. Also, we showed that NT-proBNP and Hs-cTnT were the biomarkers to have the highest diagnostic value in differentiating the severity of CCM, with no difference between the two biomarkers.

In our study, NT-proBNP, a diagnostic marker for HF severity, was related with CCM severity and had high accuracy in differentiating stages B with C and/or D. Similarly, Muñoz et al. [9], showed statistical differences in levels of NT-proBNP across severity stages of CCM in patients with asymptomatic chronic Chagas disease. Similarly, in another study of 183 individuals with Chagas disease, NT-proBNP levels tend to increase with severity of CCM but, it did not distinguish CCM from other

Table 2
Biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy (n = 100).

Variable	Stage B (n = 26)	Stage C (n = 29)	Stage D (n = 45)	p-value*
NT-proBNP (pg/mL)	4.35 ± 1.22	6.14 ± 1.28	7.99 ± 1.17	B vs. C: <0.000; B vs. D: <0.000; C vs. D: <0.000
Hs-cTnT (ng/L)	1.59 ± 0.52	2.43 ± 0.90	3.15 ± 0.94	B vs. C: <0.001; B vs. D: <0.000; C vs. D: <0.002
Soluble ST2 (ng/mL)	3.07 ± 0.35	3.07 ± 0.32	3.49 ± 0.66	B vs. D: <0.003; C vs. D: <0.002
Galectin-3 (ng/mL)	2.55 ± 0.19	2.56 ± 0.39	2.83 ± 0.48	B vs. D: <0.016; C vs. D: <0.014
NGAL (ng/mL)	4.25 ± 0.38	4.40 ± 0.43	4.94 ± 0.46	B vs. D: <0.000; C vs. D: <0.000
Cystatin c (mg/L)	−0.08 ± 0.15	0.05 ± 0.21	0.36 ± 0.29	B vs. D: <0.000; C vs. D: <0.000

All biomarkers are natural log transformed. This table contains mean and standard deviation.

Abbreviations: NT-proBNP = N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide; Hs-cTnT = high sensitivity cardiac troponin T; NGAL = neutrophil gelatinase-associated lipocalin; *Comparing mean and standard deviation, ANOVA and Bonferroni's test.

Table 3
Association between biomarkers and severity stages (stages C and D vs. B) of Chagas cardiomyopathy (n = 100).

Biomarker	Model 1			Model 2			Model 3		
	OR	95% IC	p-Value	OR	95% IC	p-Value	OR	95% IC	p-Value
NT-proBNP (pg/mL)	4.128	2.321–7.342	0.000	7.224	2.534–20.592	0.000	5.558	1.650–18.720	0.006
Hs-cTnT (ng/L)	9.539	3.730–24.391	0.000	6.327	2.185–18.317	0.001	7.115	1.410–35.909	0.018
Soluble ST2 (ng/mL)	2.938	1.050–8.223	0.040	2.261	0.559–9.138	0.252	1.313	0.155–11.076	0.802
Galectin-3 (ng/mL)	2.796	0.891–8.776	0.078	0.649	0.133–3.161	0.593	0.200	0.023–1.747	0.146
NGAL (ng/mL)	10.389	2.902–37.195	0.000	6.047	1.404–26.032	0.016	2.729	0.307–24.199	0.367
Cystatin c (mg/L)	424.72	23.73–7601.05	0.000	111.97	2.34–5346.47	0.017	14.51	0.07–3016.97	0.326

All biomarkers are natural log transformed. Model 1 = crude odds ratio; Model 2 = odds ratio adjusted by body mass index, age, sex and estimated glomerular filtration rate; Model 3 = Model 1+ further adjustment for angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker, beta-blocker, aldosterone antagonist and diuretic.

Abbreviations: NT-proBNP = N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide; Hs-cTnT = high sensitivity cardiac troponin T; NGAL = neutrophil gelatinase-associated lipocalin.

cardiomyopathies [10]. The Same study also reported an AUC of 0.78 for NT-proBNP in discriminating stages AB and CD [10]. In the present study, we found that NT-proBNP can discriminate patients with stage B of Chagas cardiomyopathy, and therefore without ventricular dysfunction, those who progressed to stage C/D with impaired systolic left ventricular function and therefore, in need of anti-remodeling therapy.

Natriuretic peptides are available in three types, known as ANP (atrial natriuretic peptide), BNP (B-type natriuretic peptide or brain natriuretic peptide) and CNP (C-type natriuretic peptide). ANP is secreted primarily from the atrium, BNP is secreted from cardiac ventricles and CNP is localized in endothelium. Natriuretic peptides are produced in response to myocardial fiber stretching in the context of physiologic and pathologic processes, and in the case of increased ventricular wall tension, proBNP is produced in both right and left ventricles. Production of proBNP, by neurohormonal mechanisms, decreases smooth muscle proliferation of vessels, decreases natriuresis and diuresis, and decreases myocardial fibrosis [18]. It has been shown that natriuretic peptides are robust markers of ventricular dysfunction in early stages of cardiovascular disease and that cutoff points of their levels are established for therapeutical decision making [19,20]. Although early elevation of natriuretic peptides has been observed in other studies of cardiomyopathies of different etiologies, the characteristics of the CCM features involving an early commitment of cardiac conduction (stage B) prior to early damage of systolic function (stage C), make it particularly important to determine also whether these biomarkers may have therapeutic implications in this group of patients.

Our results on Hs-cTnT are in line with Saravia et al. [8] reporting lower values of Hs-cTnT in patients with mild or moderate cardiomyopathy (median 1.5 ng/L; range, 1.5–25.1 ng/L) compare with severe cardiomyopathy (median 3.0 ng/L; range, 1.5–35.9 ng/L). Hs-cTnT is a marker of myocardial injury and is associated with prognosis of ischemic heart disease [21]. Also, its elevation in dilated cardiomyopathy has been linked to prognosis since more than a decade [22,23]. Our results also show that Hs-cTnT levels have high diagnostic value in differentiating CCM severity with no significant difference from NT-proBNP. Further studies need to reinforce these findings and to examine whether Hs-cTnT levels have therapeutic implications as well.

Table 4
Area under curve of biomarkers to discriminate severity Chagas cardiomyopathy (stages C and D vs. B) (n = 100).

Biomarker	AUC	Select cut-point	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Correctly classified (%)
NT-proBNP (pg/mL)	0.9683	4.49	93.24	76.92	89.00
Hs-cTnT (ng/L)	0.9563	2.66	95.95	73.08	90.00
Soluble ST2 (ng/mL)	0.9387	2.54	95.95	73.08	90.00
Galectin-3 (ng/mL)	0.9350	2.28	97.30	76.92	92.00
NGAL (ng/mL)	0.9444	4.56	94.59	73.08	89.00
Cystatin c (mg/L)	0.9449	0.03	95.95	73.08	90.00

All biomarkers are natural log transformed.

Abbreviations: AUC = Area under curve adjusted by body mass index, age, sex and estimated glomerular filtration, angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker, beta-blocker, aldosterone antagonist and diuretic; NT-proBNP = N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide; Hs-cTnT = high sensitivity cardiac troponin T; NGAL = neutrophil gelatinase-associated lipocalin.

To our knowledge, this is the first study to examine the role of NGAL, Cys-c, sST2 and Gal-3 in CCM. These biomarkers have been studied in HF of other etiologies (e.g., due to ischemic heart disease) but very little is known about their role in CCM. NGAL, a marker of acute kidney injury, has been associated with an increased risk of cardiovascular events and mortality in heart failure patients, also among them who present normal kidney function [16,24,25]. Furthermore, recent evidence shows for enhanced systemic and myocardial expression of NGAL after acute myocardial infarction [26]. Cys-c is also an early marker of renal insufficiency and its levels have prognostic value in long-term adverse outcomes in acute and chronic HF [17,27]. Gal-3, a beta-galactoside-binding lectin that appears to be a mediator of cardiac fibrosis, has been associated with kidney function, increased plasma concentrations of NT-proBNP [15], and mortality in individuals with HF [28]. sST2, a novel biomarker integrating inflammation, fibrosis, and cardiac stress, is not a valuable marker for the diagnosis of HF, but in acute and chronic HF, sST2 is strongly associated with measures of HF severity and poor outcome, including mortality [14]. In our study, NGAL, sST2, Gal-3, NGAL and Cys-c weren't associated with CCM's severity after adjustment for treatment.

3.6. Study strengths and limitations

The strengths of our investigation include the comprehensive measures of a panel of circulating biomarkers in CCM patients. Also, in our study, we excluded patients with uncontrolled hypertension, diabetes mellitus, history of coronary heart disease and mitral stenosis, which might alter the levels of biomarkers examined. The present study has, however, some important limitations to consider. First, our study is cross-sectional design and therefore we cannot establish a causal relationship between biomarkers and severity stages of CCM. Further-more, due to the limited sample size, in order to optimize the model's performance, our main analyses were mainly based in two categories (lower vs. higher ejection fraction) of CCM severity's stages. Also, we did not include patients with stage A (positive for T. cruzi, but ECG and echo normal), which could have allowed us to examine the role of the selected biomarkers in asymptomatic patients. Also, while our study provides information on the diagnostic value of biomarkers in CCM,

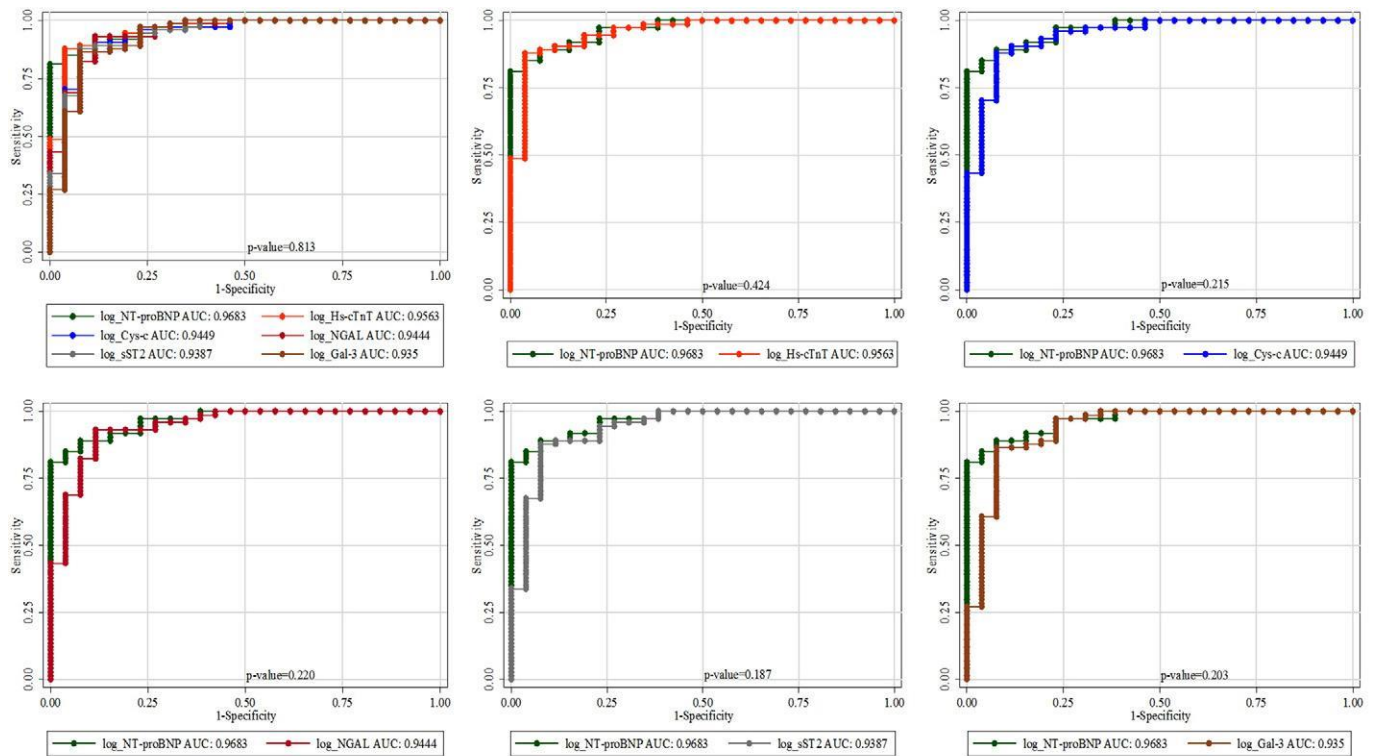


Fig. 1. Area under curve for each biomarkers (natural log transformed). The curves compare severity stages CD versus B in patients with CCM. Abbreviations: Adjusted by body mass index, age, sex and estimated glomerular filtration rate, angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker, beta-blocker, aldosterone antagonist and diuretic; NT-proBNP = N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide; Hs-cTnT = high sensitivity cardiac troponin T; Cys-c = cystatin c; NGAL = neutrophil gelatinase-associated lipocalin; sST2 = soluble ST2; Gal-3 = galectin-3.

does not provide any prognostic information of these biomarkers: further research focusing on the prognostic value is required.

4. Conclusions

Access to advanced diagnostic methods, in the first instance, such as echocardiography, is limited in poor countries affected by *T. cruzi* infection, and therefore, biomarkers such as NT-proBNP and Hs-cTnT could be useful in screening programs in populations with high prevalence of infection in order to detect early myocardial involvement. Conducting follow-up studies are needed to evaluate the utility of these biomarkers in the short and long-term prognosis of these patients and in the evaluation of outcomes such as hospitalization, disease progression, and complications including arrhythmias and sudden death. In addition, further studies are needed to assess the clinical utility of these biomarkers in guiding the best therapeutic option of CCM patients.

In summary, in this study of patients with CCM, we found that both NT-proBNP and Hs-cTnT could be used as diagnostic biomarkers in detecting the onset of myocardial commitment in the Chagasic patients. However, more research is needed to assess their role as initial screen-ing tools for severity of CCM.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Source of funding

This research was supported by Colciencias-RED CHAGAS COLOMBIA, code 501453730398, CT 380–2011. Taulant Muka and Oscar H Franco work in ErasmusAGE, a center for aging research across the life course funded by Nestlé Nutrition (Nestec Ltd.); Metagenics Inc.; and AXA. These funding sources had no role in design and conduct of this

manuscript; collection, management, analyses, and interpretation of the data; and preparation, review or approval of this manuscript.

Acknowledgments

Assay support was provided by Roche (donor reagents for NT-proBNP, Hs-cTnT and Cys-c). The donor had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish or preparation of the manuscript.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at doi:10.1016/j.ijcard.2016.10.098.

References

- [1] N.A. Giraldo, N.I. Bolanos, A. Cuellar, F. Guzman, A.M. Uribe, A. Bedoya, et al., Increased CD4+/CD8+ double-positive T cells in chronic Chagasic patients, *PLoS Negl. Trop. Dis.* 5 (2011) e1294 (electronic resource).
- [2] C.S. Cardoso, E.C. Sabino, C.D. Oliveira, L.C. de Oliveira, A.M. Ferreira, E. Cunha-Neto, et al., Longitudinal study of patients with chronic Chagas cardiomyopathy in Brazil (SaMi-Trop project): a cohort profile, *BMJ Open* 6 (2016), e011181.
- [3] H. Rodríguez-Zanella, J. Salas Pacheco, G. Meléndez-Ramirez, J. Arias Godínez, N. Avila-Vanzini, M. Ruiz Esparza, et al., Advanced imaging in Chagas heart disease: from diagnosis to sudden death risk stratification, *Int. Cardiovasc. Forum J.* 7 (2016) 5–10.
- [4] P.M. Guedes, F.R. Gutierrez, G.K. Silva, R. Dellalibera-Joviliano, G.J. Rodrigues, L.M. Bendhack, et al., Deficient regulatory T cell activity and low frequency of IL-17-producing T cells correlate with the extent of cardiomyopathy in human Chagas' disease, *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6 (2012) e1630 (electronic resource).
- [5] M.N. García, K.O. Murray, P.J. Hotez, S.N. Rossmann, R. Gorchakov, A. Ontiveros, et al., Development of Chagas cardiac manifestations among Texas blood donors, *Am. J. Cardiol.* 115 (2015) 113–117.
- [6] E.C. Manzullo, R. Chuit, Risk of death due to chronic Chagasic cardiopathy, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94 (Suppl. 1) (1999) 317–320.

- [8] S.G. Saravia, A. Haberland, S. Bartel, R. Araujo, G. Valda, D.D. Reynaga, et al., Cardiac troponin T measured with a highly sensitive assay for diagnosis and monitoring of heart injury in chronic Chagas disease, *Arch. Pathol. Lab. Med.* 135 (2011) 243–248.
- [9] S.G. Munoz Saravia, A. Haberland, S. Bartel, R. Araujo, G. Valda, D.D. Reynaga, et al., Combined measurement of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and highly sensitive cardiac troponin T for diagnosis and monitoring of heart injury in chronic Chagas' disease, *Clin. Biochem.* 46 (2013) 1615–1618.
- [10] E.E. Okamoto, J.E. Sherbuk, E.H. Clark, M.A. Marks, O. Gandarilla, G. Galdos-Cardenas, et al., Biomarkers in *Trypanosoma cruzi*-infected and uninfected individuals with varying severity of cardiomyopathy in Santa Cruz, Bolivia, *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8 (2014) e3227 (electronic resource).
- [11] A.L. Ribeiro, M.P. Nunes, M.M. Teixeira, M.O. Rocha, Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy, *Nat. Rev. Cardiol.* 9 (2012) 576–589.
- [12] C. Mady, R.H. Cardoso, A.C. Barretto, P.L. da Luz, G. Bellotti, F. Pileggi, Survival and predictors of survival in patients with congestive heart failure due to Chagas' cardio-myopathy, *Circulation* 90 (1994) 3098–3102.
- [13] A. Rassi Jr., A. Rassi, S.G. Rassi, Predictors of mortality in chronic Chagas disease: a systematic review of observational studies, *Circulation* 115 (2007) 1101–1108.
- [14] B. Dieplinger, T. Mueller, Soluble ST2 in heart failure, *Clin. Chim. Acta* 443 (2015) 57–70.
- [15] F. Stoltze Gaborit, H. Bosselmann, C. Kistorp, K. Iversen, T. Kumler, F. Gustafsson, et al., Galectin 3: association to neurohumoral activity, echocardiographic parameters and renal function in outpatients with heart failure, *BMC Cardiovasc. Disord.* 16 (2016) 117.
- [16] H. Villacorta, R.A. Santos, M.A. Marroig, G.P. Pereira, A.R. Xavier, S. Kanaan, Prognostic value of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with heart failure, *Rev. Port. Cardiol.* 34 (2015) 473–478.
- [17] M.G. Shlipak, R. Katz, L.F. Fried, N.S. Jenny, C. Stehman-Breen, A.B. Newman, et al., Cystatin-C and mortality in elderly persons with heart failure, *J. Am. Coll. Cardiol.* 45 (2005) 268–271.
- [18] P. Ponikowski, A.A. Voors, S.D. Anker, H. Bueno, J.G. Cleland, A.J. Coats, et al., 2016 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: the task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC, *Eur. J. Heart Fail.* 18 (2016) 891–975.
- [19] M.A. Nadir, S. Gandy, S. Ireland, T. MacDonald, E. Dow, G. Houston, et al., An in-creased B-type natriuretic peptide in the absence of a cardiac abnormality identifies those whose left ventricular mass will increase over time, *JACC Heart Fail.* 3 (2015) 87–93.
- [20] M. Suzuki, K. Yamamoto, S. Watanabe, T. Iwata, M. Hamada, K. Hiwada, Association between elevated brain natriuretic peptide levels and the development of left ven-tricular hypertrophy in patients with hypertension, *Am. J. Med.* 108 (2000) 627–633.
- [21] K. Thygesen, J. Mair, H. Katus, M. Plebani, P. Venge, P. Collinson, et al., Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care, *Eur. Heart J.* 31 (2010) 2197–2204.
- [22] E.M. Ohman, P.W. Armstrong, R.H. Christenson, C.B. Granger, H.A. Katus, C.W. Hamm, et al., Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial is-chemia. GUSTO IIA investigators, *N. Engl. J. Med.* 335 (1996) 1333–1341.
- [23] K. Setsuta, Y. Seino, N. Takahashi, T. Ogawa, K. Sasaki, A. Harada, et al., Clinical signif-icance of elevated levels of cardiac troponin T in patients with chronic heart failure, *Am. J. Cardiol.* 84 (1999) 608–611 (A9).
- [24] G. Minana, E. Rumiz, P. Palau, E. Valero, V. Bodi, E. Nunez, et al., Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin and long-term mortality in patients with acute heart failure and normal renal function, *Int. J. Cardiol.* 214 (2016) 51–53.
- [25] A. Palazzuoli, G. Ruocco, M. Beltrami, B. Franci, M. Pellegrini, B. Lucani, et al., Admis-sion plasma neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) predicts worsening renal function during hospitalization and post discharge outcome in patients with acute heart failure, *Acute Card. Care* 16 (2014) 93–101.
- [26] D.N. Cruz, S. Gaiao, A. Maisel, C. Ronco, P. Devarajan, Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of cardiovascular disease: a systematic review, *Clin. Chem. Lab. Med.* 50 (2012) 1533–1545.
- [27] J. Lassus, V.P. Harjola, R. Sund, K. Siirila-Waris, J. Melin, K. Peuhkurinen, et al., Prognostic value of cystatin C in acute heart failure in relation to other markers of renal function and NT-proBNP, *Eur. Heart J.* 28 (2007) 1841–1847.
- [28] Y.S. Chen, W.T. Gi, T.Y. Liao, M.T. Lee, S.H. Lee, W.T. Hsu, et al., Using the galectin-3 test to predict mortality in heart failure patients: a systematic review and meta-analysis, *Biomark. Med* 10 (2016) 329–342.

Online Supplementary Material

Supplementary Table S1. Biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy (n=100).

Supplementary Table S2. Association between biomarkers and severity stages (stages C and D vs B) of Chagas cardiomyopathy (n=100).

Supplementary Table S3. Area under curve of biomarkers to discriminate severity Chagas cardiomyopathy (stages C and D vs B) (n=100).

Supplementary Table S4. Area under curve of NT-proBNP combined with others biomarkers and severity stages (stages C and D vs B) of Chagas cardiomyopathy (n=100).

Supplementary Table S5. Area under curve of Hs-cTnT combined with others biomarkers and severity stages (stages C and D vs B) of Chagas cardiomyopathy (n=100).

Supplementary Table S6. Association between biomarkers and left ventricular ejection fraction (n=100)

Supplementary Table S1. Biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy (n=100).

Variable	Stage B	Stage C	Stage D	p-value*
	(n=26)	(n=29)	(n=45)	
NT-proBNP (pg/mL)	67 (26-211)	551 (209-911)	2791 (1423-7207)	B vs. C:<0.002; B vs. D:<0.000; C vs. D:<0.000
Hs-cTnT (ng/L)	4 (3-7)	11 (6-21)	20 (12-33)	B vs. C:<0.001; B vs. D:<0.000; C vs. D:<0.007
Soluble ST2 (ng/mL)	22 (19-25)	22 (18-27)	30 (22-44)	B vs. D: <0.001; C vs. D:<0.002
Galectin-3 (ng/mL)	13 (11-14)	12 (11-16)	17 (13-22)	B vs. D:<0.002; C vs. D:<0.009
NGAL (ng/mL)	68 (60-88)	81 (57-103)	133 (104-166)	B vs. D:<0.000; C vs. D:<0.000
Cystatin c (mg/L)	0.9 (0.8-1.0)	1.1 (0.9-1.2)	1.3 (1.2-1.9)	B vs. D:<0.000; C vs. D:<0.000

Using original value of biomarkers. Stage A wasn't include; This table contains median and first and third quartile.

Abbreviations: NT-proBNP=N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide; Hs-cTnT=High sensitivity cardiac troponin T; NGAL=Neutrophil gelatinase-associated lipocalin; *Comparing median (Q1-Q3), Kruskal-Wallis H-test and Bonferroni's test.

Supplementary Table S2. Association between biomarkers and severity stages (stages C and D vs B) of Chagas cardiomyopathy (n=100).

Biomarker	Model 1			Model 2			Model 3		
	OR	95% IC	p-value	OR	95% IC	p-value	OR	95% IC	p-value
NT-proBNP (pg/mL)	1.005	1.002-1.008	0.000	1.006	1.002-1.010	0.003	1.005	1.001-1.010	0.020
Hs-cTnT (ng/L)	1.332	1.154-1.537	0.000	1.258	1.079-1.466	0.003	1.262	1.027-1.550	0.027
Soluble ST2 (ng/mL)	1.048	0.999-1.099	0.051	1.034	0.976-1.095	0.246	1.015	0.936-1.100	0.714
Galectin-3 (ng/mL)	1.119	1.015-1.235	0.024	1.003	0.894-1.125	0.956	0.946	0.814-1.100	0.477
NGAL (ng/mL)	1.025	1.009-1.042	0.001	1.017	1.000-1.034	0.044	1.011	0.998-1.035	0.335
Cystatin c (mg/L)	353.77	18.16-6891.17	0.000	104.95	2.192-5025.26	0.018	14.976	0.084-2644.04	0.305

Using original value of biomarkers. Stage A wasn't include. **Model 1**=Crude odds ratio; **Model 2**=Odds ratio adjusted by body mass index, age, sex and estimated glomerular filtration rate; **Model 3**= Model 2+ further adjustment for angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker, beta-blocker, aldosterone antagonist and diuretic.

Abbreviations: NT-proBNP=N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide; Hs-cTnT=High sensitivity cardiac troponin T; NGAL=Neutrophil gelatinase-associated lipocalin.

Supplementary Table S3. Area under curve of biomarkers to discriminate severity Chagas cardiomyopathy (stages C and D vs B) (n=100).

Biomarker	AUC*	Select cut-point	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Correctly classified (%)
NT-proBNP (pg/mL)	0.9719	352.0	94.59	73.08	89.00
Hs-cTnT (ng/L)	0.9595	9.2	95.95	73.08	90.00
Soluble ST2 (ng/mL)	0.9397	12.7	95.95	73.08	90.00
Galectin-3 (ng/mL)	0.9335	9.8	95.95	73.08	90.00
NGAL (ng/mL)	0.9444	84.0	95.95	73.08	90.00
Cystatin c (mg/L)	0.9465	1.03	95.95	73.08	90.00

Using original value of biomarkers. Stage A wasn't include.

Abbreviations: *AUC=Area under curve adjusted by body mass index, age, sex and estimated glomerular filtration rate, angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker, beta-blocker, aldosterone antagonist and diuretic; **NT-proBNP**=N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide; **Hs-cTnT**=High sensitivity cardiac troponin T; **NGAL**=Neutrophil gelatinase-associated lipocalin.

Supplementary Table S4. Area under curve of NT-proBNP combined with others biomarkers and severity stages (stages C and D vs B) of Chagas cardiomyopathy (n=100).

Biomarker	AUC	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Correctly classified (%)
NT-proBNP +Hs-cTnT	0.9563	95.95	76.92	91.00
NT-proBNP +sST2	0.9381	95.95	73.08	90.00
NT-proBNP +Gal-3	0.9423	95.95	73.08	90.00
NT-proBNP +NGAL	0.9449	94.59	73.08	89.00
NT-proBNP +Cys-c	0.9387	95.95	73.08	90.00

Using cutoff of natural log-transformed all biomarkers.

Abbreviations: AUC=Area under curve adjusted by body mass index, age, sex and estimated glomerular filtration, angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker, beta-blocker, aldosterone antagonist and diuretic; **NT-proBNP**=N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide; **Hs-cTnT**=High sensitivity cardiac troponin T; **sST2**= Soluble ST2; **Gal-3**= Galectin -3; **NGAL**=Neutrophil gelatinase-associated lipocalin; **Cys-c**= cystatin-c.

Supplementary Table S5. Area under curve of Hs-cTnT combined with others biomarkers and severity stages (stages C and D vs B) of Chagas cardiomyopathy (n=100).

Biomarker	AUC	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Correctly classified (%)
Hs-cTnT +sST2	0.9558	95.95	76.92	91.00
Hs-cTnT +Gal-3	0.9397	95.95	73.08	90.00
Hs-cTnT +NGAL	0.9543	95.95	73.08	90.00
Hs-cTnT +Cys-c	0.9465	94.59	73.08	89.00

Using cutoff of natural log-transformed all biomarkers.

Abbreviations: AUC=Area under curve adjusted by body mass index, age, sex and estimated glomerular filtration, angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker, beta-blocker, aldosterone antagonist and diuretic; Hs-cTnT=High sensitivity cardiac troponin T; sST2= Soluble ST2; Gal-3= Galectin -3; NGAL=Neutrophil gelatinase-associated lipocalin; Cys-c= cystatin-c.

Supplementary Table S6. Association between biomarkers and left ventricular ejection fraction (n=100).

	Model 1			Model 2			Model 3		
	β	95% IC	p-value	β	95% IC	p-value	β	95% IC	p-value
NT-proBNP (pg/mL)	-0.175	-0.206, -0.145	0.000	-0.185	-0.226, -0.144	0.000	-0.157	-0.206, -0.108	0.000
Hs-cTnT (ng/L)	-0.259	-0.327, -0.192	0.000	-0.206	-0.289, -0.123	0.000	-0.137	-0.220, -0.055	0.001
Soluble ST2 (ng/mL)	-0.393	-0.535, -0.250	0.000	-0.267	-0.411, -0.124	0.000	-0.254	-0.383, -0.125	0.000
Galectin-3 (ng/mL)	-0.421	-0.618, -0.224	0.000	-0.154	-0.378, 0.699	0.175	-0.123	-0.320, 0.073	0.217
NGAL (ng/mL)	-0.480	-0.619, -0.342	0.000	-0.331	-0.488, -0.174	0.000	-0.252	-0.411, -0.093	0.002
Cystatin c (mg/L)	-0.889	-1.118, -0.661	0.000	-1.040	-1.422, -0.658	0.000	-0.825	-1.189, -0.462	0.000

All biomarkers and left ventricular ejection fraction are natural log transformed. **Model 1**=Crude odds ratio; **Model 2**=Odds ratio adjusted by body mass index, age, sex and estimated glomerular filtration rate; **Model 3**= Model 2+ further adjustment for angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker, beta-blocker, aldosterone antagonist and diuretic.

Abbreviations: NT-proBNP=N-terminal fragment of the pro B-type natriuretic peptide; Hs-cTnT=High sensitivity cardiac troponin T; NGAL=Neutrophil gelatinase-associated lipocalin.