

REVISTA PARASITOLOGÍA LATINOAMERICANA

Vol. 64/ Nº 2 - SEPTIEMBRE 2015

Versión: ISSN: 0719-6326

Artículos originales

- Ascariasis en vía biliar: Rol de las imágenes médicas
- Fecal monitoring of ruminants in Cruz das Almas, Recôncavo region of Bahia, Brazil
- Pérdida económica por caprinos infectados con *Trypanosoma cruzi*. IV Región de Coquimbo, Chile.
- Monte Carlo simulation of Rabies dynamics: effects of constant rate of vaccination and single vaccination camping
- Mosquitoes: disease vectors in context of climate change in Chile
- Determinación coproscópica de formas parasitarias en heces de conejos (*Oryctolagus cuniculus*) pertenecientes a la comuna de Concepción, Chile
- Formas parasitarias de importancia zoonótica, en heces de perros en playas de la ciudad de La Serena, Chile.

Nota taxonómica

- *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* en Chile

Libro de Resúmenes

- V Reunion Nacional Integrada Prevención y Control enfermedad de Chagas
- VI Simposio Internacional sobre enfermedad de Chagas



REVISTA

PARASITOLOGÍA LATINOAMERICANA

Volumen 64 N° 2-2015

ISSN: 0719-6326



REVISTA

PARASITOLOGÍA LATINOAMERICANA

Editor

Mauricio Canals (Chile)

Editores Asociados

Héctor Alcaino (Chile)
Werner Apt (Chile)
Pedro E. Cattán (Chile)
Fernando Fredes (Chile)
Catalina Muñoz (Chile)
Marisa Torres (Chile)
Inés Zulantay (Chile)
Mario George-Nascimento (Chile)

Editores Adjuntos

Guillermo Denegri (Argentina)	Arturo Ferreira (Chile)
Benjamín Cimerman (Brasil)	Ana Fliser (México)
David Botero (Colombia)	Luis Gil (Chile)
Rodrigo Zeledón (Costa Rica)	David Gorla (Argentina)
Jorge Sapunar (Chile)	Alejandro Llanos-Cueto (Perú)
Ramón Lazo (Ecuador)	Santiago Mas-Coma (España)
Raúl Romero (México)	Patricia Muñoz (Chile)
César Náquira (Perú)	Isabel Noemí (Chile)
Oswaldo Ceruzzi (Uruguay)	Chris Schofield (Inglaterra)
George Hillyer (Puerto Rico)	Aldo Solari (Chile)
Alejandro Schijman (Argentina)	Patricio Torres (Chile)
Anne Petavy (Francia)	Daniel González (Chile)
Michel Tivarenck (Francia)	Thomas Weitzel (Alemania)
Naftale Kats (Brasil)	Michael Miles (Alemania)
Ives Carlier (Bélgica)	Claudio Lazzari (Argentina)
Paulo Coelho (Brasil)	Felipe Guhl (Colombia)
Telmo Fernández (Ecuador)	Liliana Semenas (Argentina)

Secretarias

Rosa Ávila
Lucía Canals

Editorial

De macro y microparásitos

La interacción entre el hombre y el medio ambiente biótico puede dar origen a una serie de relaciones interespecíficas que van desde el mutualismo al parasitismo y la depredación. Esta interacción puede ser tan simple como la interacción entre dos especies: el hombre y un agente infeccioso; o involucrar un gran número de especies constituyéndose en un problema de comunidades biológicas. Cuando en esta interacción el hombre sufre un daño agudo o crónico y la relación es de parasitismo hablamos de una enfermedad infecciosa (o parasitaria). En este contexto, desde la perspectiva ecológica la enfermedad infecciosa constituye una relación entre el hombre y otra especie, el agente, inserta en un medio ambiente particular. Esto es lo que constituye la conocida tríada ecológica de la enfermedad: Hospedero-Agente-Ambiente.

Desde la perspectiva médica, tal vez por tradición o por razones prácticas, existe una separación entre la parasitología y la infectología, preocupándose la primera en general de las enfermedades causadas por animales, incluyendo protozoos, y la segunda por bacterias, virus y hongos. Sin embargo existen evidentes interfaces entre estas dos especialidades médicas especialmente en algunos grupos cuya naturaleza es o era incierta como por ejemplo *Pneumocystis jiroveci* y los microsporidios.

En términos ecológicos, esta separación desaparece, constituyendo las enfermedades infecciosas una relación de parasitismo donde la población de parásitos recibe un beneficio y el hospedero, individuo o población, recibe un daño. Es por tanto, una interacción positivo-negativa. Y entre éstas, donde una especie es beneficiada y la otra perjudicada, existen claras diferencias de comportamiento, a nivel de la dinámica poblacional y del daño individual. A pesar que el parasitismo constituye un solo tipo de relación ecológica, una clara división se produce entre los denominados Microparásitos y Macroparásitos. Los primeros incluyendo a virus, bacterias y protozoos y los segundos a nematodos, platelmintos y artrópodos.

Tabla 1. Características de los diferentes subgrupos ecológicos de parásitos.

Característica	Microparásito	Macroparásito	Parasitoide	Depredador
Razón entre las esperanzas de vida	$\ll 1$	< 1	≈ 1	> 1
Razón entre los tamaños corporales	Mucho menor que el hospedero	Menor que el hospedero	Estados maduros similares	Mayor que la presa
Tasa de crecimiento intrínseco	Mucho mayor que la del hospedero	Mayor que la del hospedero	Comparable a la del hospedero	Menor que la del hospedero
Efecto en el hospedero	Mediana o altamente deletérea	Variable o intermedia	Letal	Letal
Razón entre el número de especies	Muchas especies e individuos en cada hospedero	Mediana cantidad de especies con pocos individuos en cada hospedero	Varios hospederos por parasitoide	Varias presas por depredador

Los microparásitos son en general muy pequeños en relación al hospedero, se reproducen directamente en el hospedero con tasas reproductivas (r) muy elevadas, tiempos generacionales (G) cortos y sin hospederos intermediarios. En cambio los macroparásitos son más grandes, con menores tasas reproductivas, mayores tiempos generacionales y en general con hospederos intermediarios. Estas diferencias ecológicas tienen consecuencias en los aspectos médicos, como la generación de inmunidad, la naturaleza transitoria de la enfermedad, la unidad de análisis, y también consecuencias a nivel de la dinámica poblacional de las enfermedades micro y macroparasitarias.

Mauricio Canals Lambarri (M.D., Ph.D.)

Editor

Parasitología Latinoamericana

Ascariasis En Vía Biliar: Rol De Las Imágenes Médicas

VENEGAS A. ¹, BARROS C. ², BARROS P. ³, BARROS A. ⁴

- ¹ Interno de Medicina, Universidad de Santiago de Chile. Santiago - Chile.
- ² Interno de Medicina, Universidad de Santiago de Chile. Santiago - Chile.
- ³ Radiólogo, Unidad de Imagenología Fundación Arturo López Pérez. Santiago - Chile.
- ⁴ Radiólogo, Unidad de Imagenología Fundación Arturo López Pérez. Santiago - Chile.

Correspondencia:
Álvaro Venegas Galindo, Teléfono: + 56 9 7957 1324
Correo electrónico: alvaro.vg@gmail.com

Biliary ascariasis: Role of images.

Summary: Objective

The objective of this article was to review the literature on the presentation of bile duct ascariasis and imaging findings. *Ascaris Lumbricoides* is a parasite of worldwide distribution, found mainly in developing countries. Both as larva and adult, *Ascaris Lumbricoides* may have erratic migration within bile duct, gallbladder and liver having different clinical manifestations. Currently, advances in imaging techniques have optimized diagnosis using ultrasound and MRI.

Key words: *Ascaris lumbricoides*, ascariasis

Introducción

Ascaris Lumbricoides es un parásito nemátodo que típicamente mide 15-45 cms de longitud, siendo la hembra de mayor tamaño, el cual es transmitido por vía fecal-oral (Sinha et al. 2012, Ortega et al. 2010, Zavala et al. 2011). Esta parasitosis tiene enorme importancia epidemiológica, pues las zonas donde se presenta con mayor frecuencia son las de gran pobreza. Afecta de 25 a 35% de la población mundial (Zavala et al. 2011), siendo más frecuente en países tropicales (Sinha et al. 2012, Ortega et al. 2010). Este parásito es altamente prevalente en la mayoría de los países en desarrollo, siendo los hospederos usualmente infestados por numerosos ejemplares (Boland 2014).

El humano actúa como hospedero de *Ascaris Lumbricoides*. El sitio de establecimiento preferencial y definitivo del parásito es el intestino delgado. Macho y hembra copulan en el lumen intestinal y después de varios días la hembra deposita sus huevos; éstos caen al lumen intestinal y son arrojados hacia el exterior junto con las deposiciones. Los huevos no son infectivos en esos momentos; requieren 15 a 21 días para que se larve en su interior con las condiciones adecuadas. En la tierra el huevo forma en su interior una larva de primer estadio; 5 a 10 días después la larva muda y se transforma en larva de segundo estadio. En ese momento se adquiere la fase infectante para el humano (Zavala et al. 2011).

Una vez ingerido el huevo se libera una larva que penetra la pared duodenal, entra al torrente sanguíneo, es transportado hasta el hígado y corazón para luego pasar a la circulación pulmonar. Las

larvas quedan libres en los alveolos pulmonares, donde crecen y experimentan mudas, lo que se conoce como ciclo de Loos. Al cabo de unas 3 semanas son expulsadas del sistema respiratorio con la tos y deglutidas para regresar de nuevo al intestino delgado (Murray et al. 2007).

Ascaris Lumbricoides produce alteraciones anatomopatológicas en su fase de migración (larvas), en la fase de estado (adulto) y como resultado de migraciones erráticas (Zavala et al. 2011). Clínicamente se puede manifestar con síntomas digestivos (ej. ictericia, dolor abdominal, diarrea), síntomas respiratorios (ej. síndrome de Löfller), baja de peso, entre otros (Sinha et al. 2012, Zavala et al. 2011). Dado que tiene una alta prevalencia, las complicaciones y mortalidad son frecuentes (Ortega et al. 2010).

El diagnóstico se puede realizar con la visualización del parásito eliminado o mediante el examen coproparasitológico seriado que revela la presencia de huevos fecundados o no fecundados (Murray et al. 2007, Zavala et al. 2011). Sin embargo, los hallazgos en imágenes son altamente específicos y pueden apuntar hacia el diagnóstico de ascariasis (Ortega et al. 2010). El radiólogo puede visualizar también estos parásitos en el intestino y vía biliar (Murray et al. 2007).

Ascariasis en vía biliar

La ascariasis de vía biliar es más común en zonas endémicas y existe un predominio en las mujeres, con una relación de mujeres y hombres de 3:1. Se ha visto comúnmente en la tercera década de vida, con

un rango que va desde los 4 – 70 años (Das 2014). Es menos común en niños debido a que poseen una vía biliar de calibre más pequeño.

Ascaris Lumbricoides es un organismo muy móvil que tiende a explorar y penetrar todos los orificios posibles (Catalano et al. 2009). Dada su naturaleza delgada, pueden introducirse a la vía biliar a través de la ampolla de Vater, pudiéndose alojar posteriormente en el conducto colédoco, la ampolla misma, ductos hepáticos o en cualquier sitio del árbol biliar, pudiendo causar obstrucción biliar y pancreatitis. En ocasiones, un *Ascaris* puede dirigirse hacia proximal desde el conducto hepático e incluso llegar a nivel de la vesícula biliar (Boland 2014), siendo esto último bastante raro dada la tortuosidad y menor diámetro del conducto cístico (Slesak et al. 2007, Das 2014). Un solo parásito puede causar cólico biliar; pudiendo tener complicaciones relacionadas a esto como formación de litiasis biliar, colecistitis, colangitis, abscesos hepáticos y pancreatitis (Sinha et al. 2012, Ortega et al. 2010). La colangitis recurrente piogénica es atribuida a ascariasis en áreas de alta prevalencia (Ortega et al. 2010).

Aquellos pacientes que han tenido cirugía biliar previa como colecistectomía, coledocolitotomía, esfinteroplastia ó esfinterotomía) se cuentan como pacientes de riesgo de desarrollar ascariasis en vía biliar (Das 2014). El 30% de los pacientes afectados por ascariasis de vía biliar tienen el antecedente de colecistectomía, la cual lleva a largo plazo a la dilatación del conducto biliar común, lo que podría promover el paso del parásito a lo largo del árbol biliar (Chan et al. 2012). Se podría decir que en general, pacientes que han tenido exploraciones o cirugías a nivel biliar los hace más propensos a que estos parásitos se establezcan en vía biliar (Catalano et al. 2009).

Se ha comparado la prevalencia de mujeres embarazadas frente a las no embarazadas, estando las primeras con un mayor riesgo, probablemente debido a la relajación del esfínter atribuida a los altos niveles de progesterona (Chan et al. 2012, Das 2014).

El diagnóstico depende de la demostración del parásito en el árbol biliar en un paciente con clínica compatible, especialmente en zonas endémicas. Esto no es siempre posible dado que frecuentemente la mayoría de los *ascaris* se trasladan dentro y fuera de los ductos biliares dentro de un periodo de 7 días (Das 2014).

Rol de las imágenes

un rastreamiento do parasito em curto período de Las imágenes medicas tienen un rol relevante en al menos un 50% de las parasitosis, participando prácticamente en todas las etapas diagnósticas como en la hidatidosis, neurocisticercosis y fasciolosis y otras en las que prácticamente no tiene ningún rol. El rol fundamental se encuentra en el apoyo diagnóstico, la extensión y complicaciones y pronóstico. En el caso de la Ascariasis, el rol de las imágenes ha sido considerado como secundario (Canals 2012).

Hallazgos en US

La ecografía ha demostrado que tiene una alta precisión diagnóstica como un procedimiento no invasivo en el diagnóstico de la ascariasis biliar (Mukhopadhyay et al. 2009). La apariencia de la ascariasis biliar depende del número de parásitos al momento del estudio. Lo más frecuente es encontrar un parásito solitario que se muestra como un tubo ó líneas ecogénicas paralelas dentro del conducto biliar sin sombra acústica posterior (Das 2014, Khalili et al. 2011) asociado ó no a una dilatación de la vía biliar (Slesak et al. 2007). La pared del cuerpo del parásito y el tracto alimentario forman una apariencia trilaminar (Sinha et al. 2012). La apariencia es similar a un stent biliar, el cual puede ser excluido dentro de las posibilidades diagnósticas por la historia clínica (Khalili et al. 2011).

En la vista transversal, este gusano redondo rodeado por las paredes del conducto biliar le da la apariencia de una diana (Slesak et al. 2007, Khalili et al. 2011).

Puede estar doblado sobre sí mismo u ocupar cualquier posición del sistema biliar, incluyendo el parénquima hepático, cercano a la cápsula o dentro de la vesícula. El movimiento del áscaris durante el estudio facilita el diagnóstico (Sinha et al. 2012, Slesak et al. 2007, Das 2014, Khalili et al. 2011), siendo estos lentos, pendulares y sin dirección. Sin embargo, en pacientes en que han sido tratados médicamente, al realizar una ecotomografía abdominal de control es posible observar ejemplares a nivel de la vía biliar inmóviles (Slesak et al. 2007), y en caso de que este no cambie de posición después de 10 días en el sistema biliar, se trata usualmente de un ejemplar muerto o macerado (Das 2014).

Cuando la infestación es grande, múltiples gusanos pueden estar adyacentes entre sí, asemejando spaghettis. Ocasionalmente, estos parásitos se pueden mostrar como un defecto de llene amorfo y ecogénico, haciendo el diagnóstico más dificultoso (Khalili et al. 2011).

Esta modalidad diagnóstica tiene algunas limitaciones, como puede ser la interposición de gas abdominal que oscurece el árbol biliar, relacionado con una mayor dificultad para demostrar el parásito en segmentos medios y distales del conducto biliar común (Ding et al. 2011). Otro inconveniente es que en la mayoría de los casos no se visualizan estos parásitos en duodeno o en el orificio ampular, reportándose una falla en el diagnóstico de un 50% de los casos de ascariasis hepatobiliar (Das 2014).

Hallazgos en TC

En la vista transversal, este gusano redondo rodeado por las paredes del conducto biliar le da la apariencia de una diana (Slesak et al. 2007, Khalili et al. 2011).

Puede estar doblado sobre sí mismo u ocupar cualquier posición del sistema biliar, incluyendo el parénquima hepático, cercano a la cápsula o dentro de la vesícula. El movimiento del áscaris durante el estudio facilita el diagnóstico (Sinha et al. 2012, Slesak et al. 2007, Das 2014, Khalili et al. 2011), siendo estos lentos, pendulares y sin dirección. Sin embargo, en pacientes en que han sido tratados médicamente, al realizar una ecotomografía abdominal de control es posible observar ejemplares a nivel de la vía biliar inmóviles (Slesak et al. 2007), y en caso de que este no cambie de posición después de 10 días en el sistema biliar, se trata usualmente de un ejemplar muerto o macerado (Das 2014).

Cuando la infestación es grande, múltiples gusanos pueden estar adyacentes entre sí, asemejando spaghettis. Ocasionalmente, estos parásitos se pueden mostrar como un defecto de llene amorfo y ecogénico, haciendo el diagnóstico más dificultoso (Khalili et al. 2011).

Esta modalidad diagnóstica tiene algunas limitaciones, como puede ser la interposición de gas abdominal que oscurece el árbol biliar, relacionado con una mayor dificultad para demostrar el parásito en segmentos medios y distales del conducto biliar común (Ding et al. 2011). Otro inconveniente

es que en la mayoría de los casos no se visualizan estos parásitos en duodeno o en el orificio ampular, reportándose una falla en el diagnóstico de un 50% de los casos de ascariasis hepatobiliar (Das 2014).

Hallazgos en RM

La colangiopancreatografía por resonancia magnética (MRCP o RMCP) es una excelente técnica no invasiva para delinear el sistema biliar. Avances en la tecnología de adquisición y procesamiento de la RMCP y la disponibilidad rutinaria de secuencias tridimensionales han facilitado la exploración en detalle de la anatomía del sistema biliar (Prabhakar et al. 2010)

La colangio RM es un método para evaluar la vía biliar que ha reemplazado al ERCP como herramienta diagnóstica en muchos casos. Diversos autores han reportado que la ascariasis biliar se presenta como un defecto de llene hipointenso de forma lineal en el conducto biliar en resonadores de 1.5 TESLA ó menos. En cortes delgados en colangio RM de 3 TESLA, la ascariasis biliar muestra una apariencia distintiva (Figuras 1 y 2).

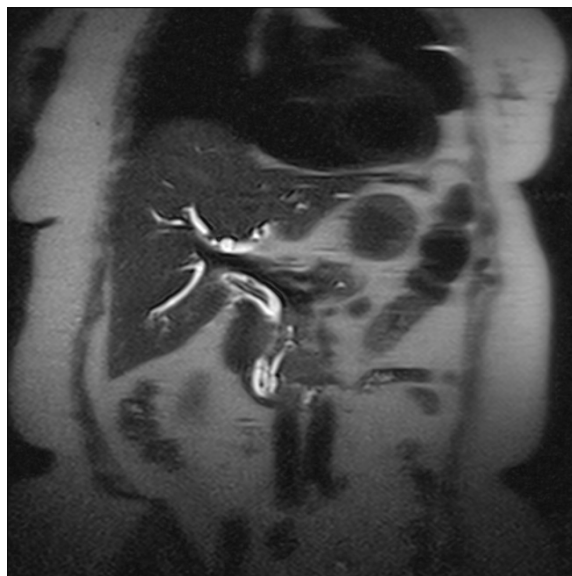
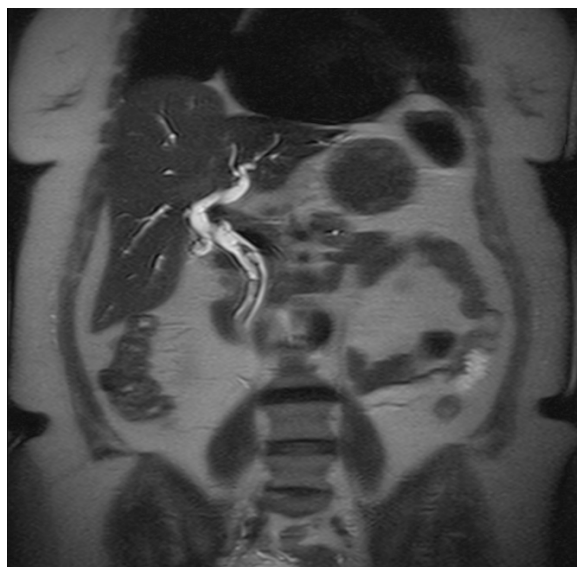


Imagen 1



Imágen 2

Figuras 1 y 2

Colangio RM, corte coronal. Se observa leve dilatación de la vía biliar intrahepática y vía biliar principal. Hepatocolédoco mide 13 mm. Se observa imagen alargada hipointensa que ocupa el hepatocolédoco y llega hasta el colédoco distal. Presenta una imagen hiperintensa alargada en su interior.

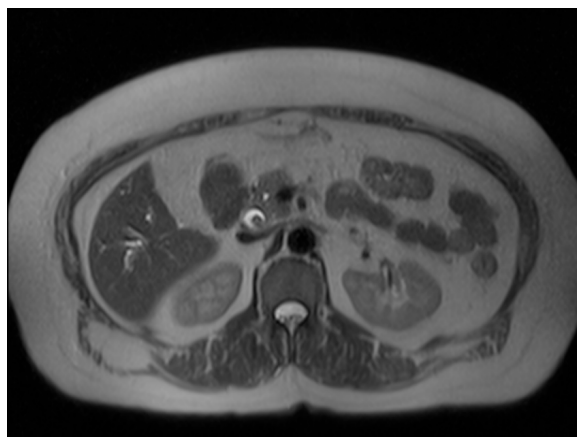


Figura 3

Colangio RM, corte axial. A nivel de colédoco distal se visualiza defecto redondo que mide 7 mm de diámetro con imagen hiperintensa central. El colédoco mide 11 mm a este nivel.

El fluido presente en el interior del intestino del gusano aparece como un línea de alta intensidad. Esta línea de alta intensidad de señal separa el cuerpo tubular del gusano en dos porciones, tomando una apariencia de 3 líneas. En cortes de mayor grosor no se observa este signo de forma clara, sin embargo, cortes gruesos son superiores al momento de evaluar de forma tridimensional la vía biliar. Por otro lado, los cortes gruesos pueden revelar otros posibles hallazgos extrabiliares que no son visualizables en los cortes finos (Ding et al. 2011).

Hallazgos en ERCP

La Colangiopancreatografía endoscópica retrógrada (ERCP) es útil tanto en diagnóstico como en tratamiento (Das 2014). Usualmente muestra los parásitos como un largo defecto de llenado. ERCP debe ser considerado como intervención terapéutica si falla la respuesta a un tratamiento conservador, persistencia del parásito (en ecografías seriadas) o si éste ha muerto dentro del árbol pancreaticobiliar. Se ha reportado en la literatura la extracción exitosa del parásito por vía endoscópica, pero el uso de ERCP debe ser balanceado con las potenciales complicaciones del procedimiento. Por otra parte, la esfinterotomía realizada durante el ERCP para la extracción del *Áscaris* predispone a infestaciones recurrentes (Mukhopadhyay et al. 2009). Por último, considerar que este procedimiento eleva los costos de tratamiento.

Conclusión

Ascaris Lumbricoides es un parásito que se presenta en zonas endémicas, rurales, con altos niveles de pobreza y mal saneamiento ambiental. Para el diagnóstico de esta parasitosis se debe tener un alto índice de sospecha ya que tiene variadas manifestaciones clínicas poco específicas y que obligan al tratante a descartar muchos diagnósticos diferenciales, ya que no se considera frecuentemente como hipótesis diagnóstica. Es por esto que el conocimiento de las presentaciones en exámenes de imagenología puede ser de gran ayuda al clínico para una aproximación al diagnóstico de ascariasis, debido a que los hallazgos son altamente sugerentes de la presencia de este parásito.

Referencias

- Boland G. Gallblader. Boland G. Gastrointestinal Imaging: The requisites. 4th edition. Philadelphia: Elsevier; 2014; pp. 315-346.
- Canals M. Rol de la imagenología en el diagnóstico de las parasitosis. *Rev Ibero-Latinoam Parasitol.* 2012; 72(2):152-159.
- Catalano O, Sahani D, Forcione D, Czermak B, Liu C, Soricelli A, et al. Biliary Infections: Spectrum of Imaging Findings and Management. *RadioGraphics* 2009; 29: 2059-2080.
- Chan W, Showler A, Boggild A. Parasitic Liver Disease in Travelers. *Inf Dis Clin.* 2012; 26: 755-780.
- Das A. Hepatic and Biliary Ascariasis. *J Glob Infect Dis.* 2014; 6: 65-72.
- Ding Z, Yuan J, Chong V, Zhao D, Chen F, Li Y. 3 T MR cholangiopancreatography appearances of biliary ascariasis. *Clin Radiol.* 2011; 66: 275-277.
- Khalili K, Wilson S. The biliary tree and gallbladder. Rumack C, Wilson S, Charboneau J, Levine D. *Diagnostic ultrasound.* 4th edition. Philadelphia: Elsevier; 2011. pp. 172-215.
- Mukhopadhyay M. Biliary Ascariasis in the Indian Subcontinent: A Study of 42 Cases. *Saudi Journal of Gastroenterology : Off J Saudi Gastroenterol Assoc.* 2009; 15(2):121-124.
- Murray P, Rosenthal K, PfaÜer M. *Nemátodos.* Murray P, Rosenthal K, PfaÜer M. *Microbiología Médica.* 5ª Edición. Madrid: Elsevier; 2007. pp. 879-895.
- Ortega C, Ogawa N, Rocha M, Blasbalg R, Motoyama A, Warmbrand G, et al. Helminthic Diseases in the Abdomen: An Epidemiologic and Radiologic Overview. *RadioGraphics* 2010; 30: 253-267.
- Prabhakar P, Prabhakar A, Prabhakar H, Sahani D. Magnetic Resonance Cholangiopancreatography of Benign Disorders of the Biliary System. *Magn Reson Imaging Clin N Am.* 2010; 18(3):497-514.
- Rodriguez E, Gama M, Ornstein S, Anderson W. Ascariasis Causing Small Bowel Volvulus. *RadioGraphics* 2003; 23(5): 1291-1293.
- Sinha R, Rajesh A, Rawat S, Rajiah P, Ramachandran I. Infections and infestations of the gastrointestinal tract. Part 2: Parasitic and other infections. *Clin Radiol.* 2012; 67: 495-504.
- Slesak G, Phanthavong P, Rasphone O, Luangxay K, Anoulakham P, Pahatsalang V, et al. Obstructive biliary ascariasis with cholangitis and hepatic abscesses in Laos: A case report with gall bladder ultrasound video. *J Infect.* 2007; 54: 233-235.
- Zavala J, Becerril M. Ascariasis. Becerril M. *Parasitología Médica.* 3a Edición. Madrid: Mc Graw Hill; 2011. pp. 215-220.

Fecal monitoring of ruminants in Cruz das Almas, Recôncavo region of Bahia Brazil

SANTOS, R.A. ¹, BRITO, J.A ¹, FERREIRA, R. ¹, BISCARDE, C.E.A ¹, SILVA, S.M. ², RIBEIRO, R.R. ^{3*}

- ¹ Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, UFRB, Cruz das Almas, BA, Brazil.
- ² Universidade Federal de Uberlândia, UFU, Uberlândia, MG, Brazil.
- ³ Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF, Juiz de Fora, MG, Brazil.

* Corresponding author:

Raul Rio Ribeiro. Faculdade de Medicina, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Juiz de Fora. Rua José Lourenço Kelmer, s/n - Campus Universitário, Juiz de Fora, MG 36036-900, Brazil. Email: raul.rio@ufff.edu.br

Summary

The dynamics of endoparasite infections in ruminants in Cruz das Almas, in Bahia's Recôncavo region, was studied based on fecal monitoring of cattle, sheep and goats selected randomly and monthly according to different age groups. A total of 1,245 fecal samples were evaluated. The overall findings suggest that goats are more susceptible to infection by endoparasites because they present higher levels of parasite burden than other species, or because young and adult goats show a tendency for similar behavior. The age factor significantly influenced the average egg count in cattle and oocyst count in sheep, and these counts showed declining numbers with increasing age. *Haemonchus* spp. was the most prevalent genus found in coproculture. In addition, cattle parasites showed evidence of ivermectin resistance. The data obtained in this study reinforce that goats are more susceptible to infection by endoparasites than other ruminants. The influence of different aspects in the frequency of endoparasites in ruminants is discussed.

Keywords: Cattle, goats, sheep, endoparasites, EPG, OPG.

Introduction

Livestock breeding is considered one of the main economic activities in Brazil, which today has the largest commercial cattle herd in the world, with approximately 200 million animals (Ibge 2012). The production of small ruminants is also significant, i.e., about 8.6 million goats and 16.7 million sheep. More than 90.7% of the national goat herd and more than half (55.7%) of the national sheep herd are located in the northeast region. One of the most significant problems in ruminant production is endoparasites, which can have a severely economic impact (Grisi et al. 2014).

Helminths and coccidia are distributed worldwide and the expression of most infections follows a chronic and subclinical course, making their diagnosis difficult without adequate laboratory support. Thus, the real impact on herd health and efficiency is, for the most part, unknown to the producer (Silva et al. 2011). The simplest *in vivo* diagnostic technique of helminths and coccidiosis in ruminants is the egg and oocyst count per gram of feces (EPG and OPG, respectively).

In field conditions, it is not difficult to imagine that the vast majority of ruminants harbor some kind of endoparasite. However, this relationship does not necessarily mean a condition of morbidity, because the animal host has immunological mechanisms that control the parasite population. Endoparasitic infections become especially pathogenic when an

imbalance in the host-parasite relationship occurs. This relationship can be influenced by several factors, including the animal's age and breed, intensity and parasite species involved, weather conditions, and the nutritional and physiological status of the host (Pinto et al. 2008, Riet-Correa et al. 2013).

Another problem that has affected global ruminant production is anthelmintic resistance, which is the ability of a parasite population to survive doses of anthelmintics that are lethal to susceptible populations (Torres-Acosta & Hoste 2008). Anthelmintics have been used effectively for decades to control gastrointestinal nematodes. However, the natural consequence of the intensive and indiscriminate use of these chemicals is the rapid development of anthelmintic resistance (Hoste et al. 2005). Thus, the evaluation of anthelmintic efficacy is crucial for the development of appropriate chemical methods to manage and control helminths. To establish a knowledge base of parasite epidemiology for future rational parasite control programs in the region, this study evaluated the infection dynamics of the main endoparasites of ruminants in Cruz das Almas, in Bahia's Recôncavo region, by monitoring the annual elimination of fecal eggs and oocysts of parasites.

Materials and methods

Experimental Groups

The present research adhered to the Principles

of Laboratory Animal Care (NIH publication #85-23, revised in 1985). Ruminants of both sexes from the Zootecnical Sector of the Federal University of Recôncavo of Bahia (UFRB) were selected randomly and monthly between September 2011 and August 2012, according to age: Cattle – Group B1: <1 year (n=15), Group B2: 1-2 years (n=15) and Group B3: >2 years (n=15); Goats – Group C1: <1 year (n=15) and Group C2: >1 year (n=15); Sheep – Group O1: <1 year (n=15) and Group O2: >1 year (n=15).

The nelore-crossbred herd was kept in an extensive production system on *Brachiaria decumbens* pasture supplemented with mineral salt. The type of exploitation of small ruminants (Parda Alpina mixed breed goats and Santa Ines mixed breed sheep) was a semi-extensive production, with all the animals housed in slatted folds at night, separated only by species, and released in the morning to graze on *Brachiaria decumbens*, *B. humidicola* and *Coast Cross* grass.

Collection and Processing of Fecal Samples

All the stool samples were collected directly from the rectum, using disposable plastic bags, always at the same time during the morning. After identification and proper storage in refrigerated Styrofoam boxes, the samples were processed within 24 hours at the Laboratory of Microbiology and Parasitology of UFRB. The EPG and OPG techniques were performed according to Gordon & Whitlock (1939), with modifications. The coproculture technique was performed according to Roberts & O'Sullivan (1950). The EPG and OPG counts were recorded individually. The infective larvae (L3) recovered from fecal culture were identified generically, as described by Ueno & Gonçalves (1998). Additionally, the production characteristics of the herd and weather information were documented throughout the period of evaluation, based on information provided by the Bahia Agricultural Development Company (BADC).

Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT)

The efficiency of the FECRT (n=15/group) was calculated based on the following formula: % efficacy = $1 - [(EPG \text{ medium post-treatment} / \text{average EPG pre-treatment})] \times 100$. The results were analyzed as recommended by the World Association for the

Advancement of Veterinary Parasitology (Coles et al. 1992), which considers a FECRT result of < 90% as indicative of resistance, between 90% and 95% as suspected resistance, and > 95% as anthelmintic efficiency.

Statistical analysis

According to the Kolmogorov-Smirnov test, the experimental data did not show a normal distribution. Consequently, comparisons were made of the mean values of EPG and OPG between age groups, using the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's multiple comparison. The evaluation of the proportion of animals with EPG and OPG counts above the recommended limit was analyzed based on Fischer's Exact Test. For this calculation, we adopted an EPG of 500 and OPG of 1,000 as the maximum recommended limits for bovines, and an EPG of 800 and OPG of 2,000 as the upper limits suggested for small ruminants. All the statistical analyses were performed using GraphPad® 5 (GraphPad Software Inc. USA), at a 95% level of significance.

Results and discussion

General Analysis

A total of 1,245 fecal samples were analyzed, 539 of which belonged to cattle, 368 to goats and 338 to sheep. Out of the 539 cattle fecal samples evaluated, 32.8% (177/539) were from group B1 (<1 year), 32.8% (177/539) from group B2 (between 1-2 years), and 34.4% (185/539) from group B3 (> 2 years). Of the 368 fecal samples from goats, 49.7% (183/368) corresponded to group C1 (<1 year) and 50.3% (185/368) to group C2 (> 1 year). Of the 338 fecal samples from sheep, 45.5% (154/338) belonged to group O1 (<1 year) and 55.5% (184/338) to group O2 (> 1 year).

In general, none of the fecal samples showed significant changes in color, odor or consistency. The presence of adult parasites and/or foreign bodies was also not observed macroscopically.

Gastrointestinal helminths

Irrespective of age groups, the results revealed a prevalence of helminth infection in ruminants

(presence of eggs in feces) of 78.1% (973/1245) over the entire period of this study. Goats presented the highest values: 94.8% (349/368), followed by cattle: 74.9% (404/539) and sheep: 65% (220/338). The fact that more than ¾ of the ruminants eliminated helminth eggs in feces confirms that helminths are the most common cause of parasitic diseases in animal production. The literature considers the presence of gastrointestinal parasites in livestock a common occurrence, and the parasite burden an extremely important point (Correa et al. 2013). Junior et al. (2008) reported fecal eggs of gastrointestinal helminths in 53.1% (196/369) of dairy cows evaluated in Caparaó, Espírito Santo. In a study conducted in Pindamonhangaba, São Paulo, the prevalence of helminth infection in cattle was found to be approximately 50.7% (358/706) (Pereira, 2011).

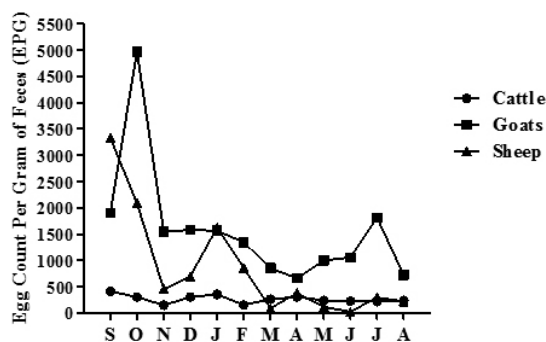


Figure 1 Cattle: n=45/month; Goats: n=30/month; Sheep: n=30/month.

Figure 1 shows the monthly average of EPG throughout the period of this study. Goats were found to show higher counts than other ruminants in almost all the months. The annual average of EPG in goats (1,586 OPG/goat; counts ranging from 0-8,700 OPG), was significantly higher ($p < 0.0004$, Kruskal-Wallis) than that found in the other ruminant species, which showed statistically similar counts, with an average EPG of 849/sheep (scores ranging 0-7,350 EPG) and 266/cattle (scores ranging 0-2,850 EPG). The discrepancies recorded in the elimination of EPG between sheep and goats reared in the same production system can be explained, in part, by differences in their immune response to infection. Over time, goats and sheep have developed different eating habits. While sheep evolved preferentially by

grazing, goats (known as browsers) prioritize leaves and shrubs often found at the tops of plants, which are higher off the ground (Riet-Correa et al. 2013). This natural difference between these two species is the key to their resistance to parasites in pastures. Thus, sheep have developed greater immunity against parasites found in pastures than goats, because they have evolved in close contact with them (Riet-Correa et al. 2013). Another factor to consider is that the Santa Inês breed is genetically more resistant to nematode infections than other breeds (Rocha et al. 2004), which would naturally result in lower counts in the crossbred sheep evaluated in this study.

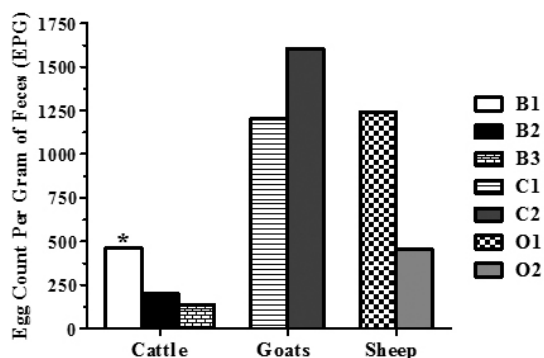


Figure 2 Cattle – Group B1: <1 year (n=177), Group B2: between 1-2 years (n=177) and Group B3: >2 years (n=185); Goats – Group C1: <1 year (n=184) and Group C2: >1 year (n=184); Sheep – Group O1: <1 year (n=169) and Group O2: >1 year (n=169).

* $p < 0.0001$ (Kruskal-Wallis, followed by Dunn's multiple comparison).

Figure 2 shows the average EPG counts for different age groups of ruminants in Cruz das Almas, Recôncavo da Bahia. With the exception of goats, it was found that the mean EPG decreased with increasing age. A statistically significant difference ($p < 0.0001$, Kruskal-Wallis) was found in cattle (B1 = 460 EPG, EPG B2 = 201; B3 = 137 EPG), suggesting a low parasite load in the herd. The zebu breeds or crossbred Nelore, which are the object of this study, are considered more resistant to disease, high temperature and other stressors present in tropical regions than taurine breeds (Kumar et al. 2005). This resistance is attributed to endemic stability, since Zebu cattle have long been in contact with a large number of parasites. Therefore, the selection

of breeds that are more resistant to endoparasites is an important tool to combat helminths in livestock production.

The age groups showed a statistically significant difference ($p < 0.01$, Fisher's Exact Test) in the percentage of animals with high OPG counts (Figure 3).

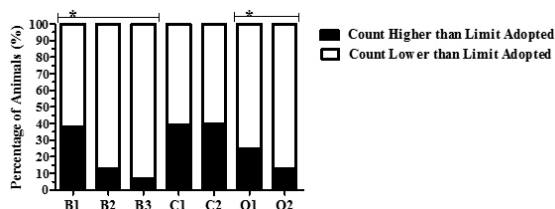


Figure 3. Percentage of animals in different age groups, in Cruz das Almas, Recôncavo region of Bahia, Brazil, during the period of September 2011 to June 2012, with individual counts of eggs per gram of feces (EPG) higher than the limit adopted+.

Among the cattle and sheep, a significantly higher proportion of animals subjected to treatment were concentrated in the groups younger than 12 months (B1 and O1). The higher demand for anthelmintic treatments in young animals, irrespective of the time of year, is once again a result of their immune response to parasites. Susceptibility to parasitism is inversely proportional to age, and the largest ruminants acquire resistance upon reaching adulthood (Ahid et al. 2008). However, goats revealed no statistical difference between the age groups, which can be attributed to the fact that the immune response of this species takes longer to develop (approx. 12 months) than that of the other ruminants. Thus, young and adult goats normally show no difference in susceptibility (Riet-Correa et al. 2013). In contrast, sheep take less time (about 6 months) to develop an effective immune response, with significant differences between young (more susceptible) and (more resistant) adult animals (Hoste et al. 2006).

Among cattle, age also influences susceptibility to helminth infections. Repossi Junior et al. (2006) concluded that animals in the age group of one to 18 months have a higher frequency of gastrointestinal parasite infections. In another study, cattle younger than one year old were more susceptible to helminth infection than adult cattle older than two years (Junior et al. 2008).

Climate (temperature/rainfall) was not found to have a significant influence on the elimination of helminth eggs in any of the ruminant species. In addition to eggs of the superfamily Trichostrongyloidea, all the ruminant species of this study also had eggs from other gastrointestinal helminths, albeit with irregular occurrence and low overall prevalence, including embryonated eggs of the genus *Strongyloides*, biopercolate eggs of the genus *Trichuris*, and eggs of *Moniezia* sp.

The mean annual coproculture revealed the following percentages: *Haemonchus* (85% cattle, 64% goats and 70% sheep), *Trichostrongylus* (7.5% cattle, 21% goats and 13% sheep) and *Oesophagostomum* (6.7% cattle, 15% goats and 16.8% sheep), which were the most prevalent genera of *Trichostrongylus*. *Cooperia* (0.1% bovine) and *Strongyloides papillosus* (0.7% cattle and 0.2% sheep) were also recorded, but not in all the host species. These results are in agreement with similar data reported by other authors (Costa et al. 2011) who considered *Haemonchus* spp. the most prevalent genus in larvae cultures in northeastern Brazil.

Anthelmintic Resistance

The ruminants were subjected to anthelmintic treatment, ivermectin (0.2 mg/kg) in the case of cattle and levamisole (6 mg/kg) for small ruminants. The results of anthelmintic efficacy in cattle (53.5% for B1, 64.3% for B2 and 60.1% for B3) revealed the existence of parasitic resistance to ivermectin. Souza et al. (2008) observed this phenomenon in 82.1% of farms evaluated in the state of Santa Catarina. Other study conducted in northeastern Brazil has found a similar percentage efficacy as that observed in this study (Costa et al. 2011).

Interestingly, after levamisole-based treatment, the results suggested parasitic resistance in goats (- 4.13% in C1 and 54.3% in C2) and anthelmintic efficacy in sheep (92.9% in O1 and 98.6% in O2). This apparently contradictory result can be explained by the fact that goats metabolize anthelmintics faster than sheep and should therefore be treated with higher doses (Torres-Acosta & Hoste, 2008). The dose of levamisole used on goats in this study (6 mg/kg) accounted for only 50% of the optimal dose proposed (12 mg/kg) by other authors (Riet-Correa et al. 2013), which probably influenced the results of the fecal egg count reduction test (FECRT).

Although the products currently marketed in Brazil do not specify dosage sizes for small ruminant species, their pharmacological and pharmacokinetic properties differ (Riet-Correa et al. 2013), and the use of low doses increases the spread of resistance in goat populations (Costa et al. 2011).

Before anthelmintic treatment, 92% of the L3 identified belonged to the genus *Haemonchus*, 5% to *Trichostrongylus* and about 3% to *Oesophagostomum*. In general, the proportion of genera of parasites recovered did not express a significant change after treatment, i.e., 96% of *Haemonchus* and 4% of *Trichostrongylus*. Our results are supported by other study (Melo et al. 2013). According to Blackhall et al. (1998), *Haemonchus* spp. acquires resistance faster than other parasites due to its high biotic potential and wide genetic variability. The anthelmintic resistance recorded in this study may have been promoted, among other factors, by the selective pressure induced by antiparasitic treatment on the farms involved in this study, which showed a slow turnover of drugs, and the use of chemicals as the main source of worm control.

Coccidiosis

The prevalence of coccidial infection in ruminants (presence of oocysts in fecal matter) was 71.6% (891/1,245) throughout the period of this study. The highest prevalence was found in goats (90.5%), followed by sheep (73.1%) and cattle (57.6%).

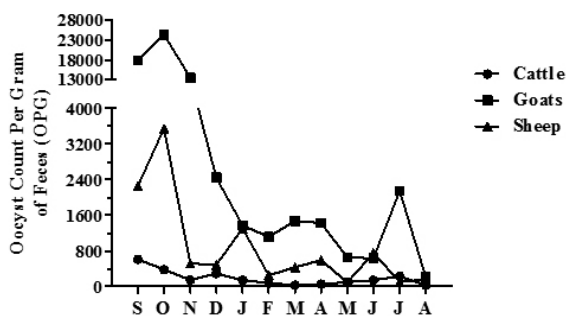


Figura 4 Monthly mean oocysts count per gram of feces (OPG) of coccidia in ruminants in Cruz das Almas, Recôncavo region of Bahia, Brazil, during the period of September 2011 to June 2012.

Figure 4 shows the mean annual values of OPG throughout the study period. It was found that goats showed higher counts than other ruminants in

almost every month. A statistical analysis revealed that the average annual OPG count in goats (5,609 OPG/; ranging from 0-27,600 OPG) was significantly higher ($p < 0.0001$, Kruskal-Wallis) than in sheep (875 OPG/; counts ranging from 0-18,800 OPG) and cattle (187 OPG; counts ranging from 0-5,650 OPG).

The age factor had a significant influence ($p < 0.034$, Kruskal-Wallis) on the OPG only in sheep (O1 = 1,403 OoPG; OPG O2 = 361) (Figure 5).

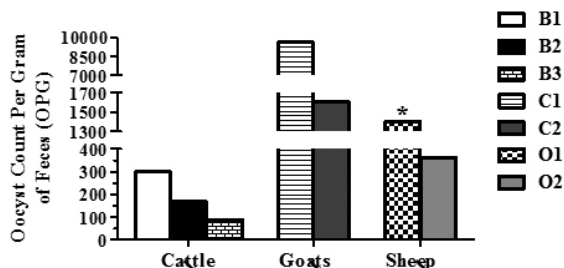


Figure 5. Mean values of oocysts counts per gram of feces (OPG) in different age groups of ruminants in Cruz das Almas, Recôncavo region of Bahia, Brazil, during the period of September 2011 to June 2012.

However, when considering the proportion of animals with OPG higher than the limit adopted (1000 OPG for cattle and 2000 OPG for small ruminants), the difference between the age groups of all the ruminant species proved to be statistically significant ($p < 0.05$, Fisher's Exact Test), with the highest percentage in the younger age groups (Figure 6).

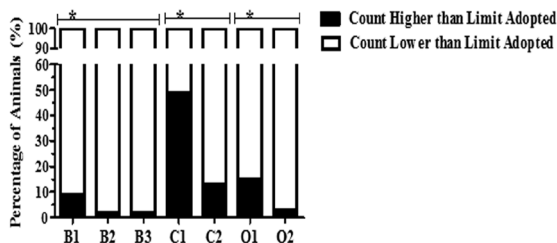


Figure 6. Percentage of animals in different age groups, in Cruz das Almas, Recôncavo region of Bahia, Brazil, during the period of September 2011 to June 2012, with individual counts of oocysts per gram of feces (OPG) higher than the limit adopted+.

This difference was greater in the rainy season (March to July).

Overall, the results suggest that *Eimeria* infection is frequent and that age influences the elimination of the forms of parasite resistance, especially in the rainy season. According to Silva et al. (2014), coccidiosis is more common in young animals, particularly when confined, spreading rapidly due to their low immunity. After the initial months of life, when the first contact with coccidia occurs, ruminants act as reservoirs, eliminating small numbers of parasites in feces, which nevertheless serve as a source of infection for other susceptible hosts (Pinto et al. 2008). The rainy season favors oocyst sporulation and viability, which facilitates infection of non-immune hosts (Fayer et al. 1980). In fact, the practice of crowding small ruminants together at nighttime, regardless of age, also favors the infection of young animals.

The results also revealed the occurrence of simultaneous infections of helminth and coccidia in about 62.3% (776/1,245) of the ruminants evaluated, with mean values of 88.3% (325/368) in goats, 54.4% (184/338) in sheep, and 44.1% (238/539) in cattle. It is noteworthy that coinfection in ruminants is considered common, usually exacerbating the deleterious effects to the host (Hasslinger et al. 1993).

Conclusion

The data obtained in this study reinforce that goats are more susceptible to infection by endoparasites because they present higher levels of parasite burden than other species, or because young and adult goats show a tendency for similar behavior. In addition, this work contributes to the formulation of future programs designed for parasite control under local conditions.

References

- Ahid SMM, Suassuna ACD, Maia MB, Costa VMM, Soares HS. Parasitos gastrintestinais em caprinos e ovinos da região oeste do Rio Grande do Norte, Brasil. *Ciênc. Anim. Bras.* 2008; 9: 212-218.
- Blackhall WJ, Pouliot JF, Prichard RK. *Haemonchus contortus*: selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin- and moxidectin-selected strains. *Exp. Parasitol.* 1998; 190: 42-48.
- Coles GC, Bauer C, Borgsteede FHM, Geerts S, Klei TR, Taylor MA. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 1992; 44: 35-44.
- Correa BR, Simões SVD, Riet-Correa F. Sistemas produtivos de caprinocultura leiteira no semiárido nordestino: controle integrado das parasitoses gastrointestinais visando contornar a resistência anti-helmíntica. *Pesq. Vet. Bras.* 2013; 33: 901-908.
- Costa VMM, Simões SVD, Riet-Correa F. Controle das parasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos na região semiárida do Nordeste do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 2011; 31: 65-71.
- Fayer R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. *Vet. Parasitol.* 1980; 6: 75-103.
- Grisi L, Leite RC, Martins JRS, Barros ATM, Andreotti R, Cançado PHD, Leon AA, Pereira JB, Villela HS. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Braz. Vet. Parasitol.* 2014; 23: 150-156.
- Hasslinger MA, Schenkel F, Ogaylat S, Ulbricht G. Important endoparasites in sheep and goat flocks in Jordan. *J. Vet. Med.* 1993; 4: 329-336.
- Hoste H, Torres Acosta JFJ, Paolini V, Aguilar Caballero AJ, Etter E, Lefrileux Y. Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Rumin. Res.* 2005; 60: 41-51.
- Hoste H, Rulie AC, Prevot F, Bergeaud JP, Grisez C, De La Farge F. Differences in receptivity to gastrointestinal infections with nematodes in dairy ewes: Influence of age and of the level of milk production. *Small Rumin. Res.* 2006; 63: 150-155.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Pesquisa da pecuária municipal: efetivo dos rebanhos. Bahia. 2012. Available from: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2012/default.shtm>
- Junior PIF, Domoner LC, Alevar BR, Nunes LC, Donateli DM, Martins IVF. Estudo parasitológico em bovinos leiteiros da microrregião do Caparaó, Espírito Santo, Brasil. *Rev. Port. Ciênc. Vet.* 2008; 103: 151-156.
- Kumar N, Mitra A, Ganguly I, Singh R, Deb SM, Srivastava SK. Lack of association of brucellosis resistance with (GT)13 microsatellite allele at 30UTR of NRAMP1 gene in Indian zebu (*Bos indicus*) and crossbred (*Bos indicus* x *Bos taurus*) cattle. *Vet. Microbiol.* 2005; 111: 139-143.
- Melo LRB, Vilela VLR, Feitosa TF, Almeida Neto JL, Morais

DF. Resistência anti-helmíntica em pequenos ruminantes do semiárido da Paraíba, Brasil. *Ars. Veterinaria* 2013; 29: 104-108.

Pereira JR. Práticas de controle e prevalência de helmintos gastrintestinais parasitos de bovinos leiteiros em Pindamonhangaba, São Paulo, Brasil. *Rev. Ciênc. Agron.* 2011; 10: 16-22.

Pinto JMS, Oliveira MAL, Álvares CT, Costa-Dias R, Santos MH. Relação entre o periparto e a eliminação de ovos de nematóides gastrintestinais em cabras anglo nubiana naturalmente infectadas em sistema semi-extensivo de produção. *Brazil. J. Vet. Parasitol.* 2008; 17: 138-143.

Reposi Junior PF, Barcellos MP, Trivilin LO, Martins IVF, Silva PCAR. Prevalência e controle das parasitoses gastrintestinais em bezerros do município de Alegre, Espírito Santo. *Brazil. J. Vet. Parasitol.* 2006; 15: 147-150.

Riet-Correa B, Simões SVD, Riet-Correa F. Sistemas produtivos de caprinocultura leiteira no semiárido nordestino: controle integrado das parasitoses gastrointestinais visando contornar a resistência anti-helmíntica. *Pesq. Vet. Bras.* 2013; 33: 901-908.

Rocha RA, Amarante AFT, Bricarello PA. Comparison of the susceptibility of Santa Inês and Ile de France ewes to nematode parasitism around parturition and during lactation. *Small Rum. Res.* 2004; 55: 65-75.

Silva RM, Facury-Filho EJ, Souza MF, Ribeiro MFB. Natural infection by *Eimeria* spp. in a cohort of lambs raised extensively in Northeast Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 2011; 20: 134-139.

Silva LMR, Vila-Viçosa MJM, Nunes T, Taubert A, Hermosilla C, Cortes HCE. *Eimeria* infections in goats in Southern Portugal. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 2014; 23: 280-286.

Souza AP, Ramos CI, Vellato V, Sartor AA, Schelbauer CA. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. *Ciência Rural* 2008; 38: 1363-1367.

Torres-Acosta JFJ, Hoste H. Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ru-min. Res.* 2008; 7: 159-173.

Pérdida económica por caprinos infectados con *Trypanosoma cruzi*. IV Región de Coquimbo, Chile

*Economic loss by goats infected with *Trypanosoma cruzi*. IV Region, Coquimbo Chile*

AGUILERA C.¹, ZULANTAY I.², SAAVEDRA M.², APT W.², MARTÍNEZ G.², RODRÍGUEZ J.³

- ¹ Universidad de Santiago de Chile (USACH). Facultad Tecnológica. Ingeniería en Agronegocios.
- ² Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Instituto de Ciencias Biomédicas. Programa de Biología Celular y Molecular. Laboratorio de Parasitología Básico-Clinico.
- ³ Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Escuela de Salud Pública.

Correspondencia:

Inés Zulantay Alfaro

izulanta@med.uchile.cl

Laboratorio Parasitología Básico-Clinico. Programa Biología Celular y Molecular

Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Independencia 1027, Casilla 9183 Santiago1, Santiago, Chile

Summary

Goats are part of the zoonotic cycle of *Trypanosoma cruzi* and constitute an important income sources in the Coquimbo region of Chile, endemic zone of Chagas disease. With a 54% of participation in the total goa existence, in recent years major advances in its marketing has been obtained. In Chile, previous studies performed in goats, have demonstrated percentages of 6,5% and 35,7% of serologic prevalence and parasitemia by PCR *T. cruzi*, respectively. In this descriptive exploratory study, the infection of *T. cruzi* was investigated in 100 goats proceeding of rurals localities of the Combarbalá commune and the economic loss was determined. The blood samples and xenodiagnosis (XD) were performed with informed consent of the goat breeders. 35% of the goats serologically studied by Indirect Immunofluorescence IgG, were infected with *T. cruzi* and in 88,6% of them the specific band of 330 bp by *T. cruzi* PCR was detected the. Pprojecting the percentage of serologic prevalence of *T. cruzi* to the goat existence in the Coquimbo Region reaches 435.236 heads. It is estimated that the damage would reach a loss of US\$.6.6.659.110, corresponding to 152.332 infected goats. Rising information is required in the endemic area of Chagas disease in Chile on the presence of triatomine vectors (specially *Mepraia spinolai*) in the perodomicile, corrals and feeding goats sites, including open system. Governement standards are required to prevent animal oral transmission for lack of control of *T. cruzi* enzootic cycles, through the consumption of biological waste from slaughtered goats. No regulation exists in relation to *T. cruzi* infection of goat meat, for eventual export processes, but even in this case the parasitosis is not considered.

Keywords: Goats, *Trypanosoma cruzi*, economic loss, oral infection

Introducción

Trypanosoma cruzi, agente etiológico de la enfermedad de Chagas (ECh), parasita aproximadamente a 100 especies de reservorios silvestres y domésticos. Sus vectores biológicos se distribuyen desde el sur de los Estados Unidos hasta la Patagonia en Argentina, donde existen alrededor de 6-7 millones de personas infectadas (WHO 2015). El caprino forma parte del ciclo zoonótico silvestre o peri-domiciliario de *T. cruzi* y sólo en la Región de Coquimbo habitan aproximadamente 500.000 ejemplares en una superficie de más de 3 millones de hectáreas. Esta especie constituye una de las principales fuentes de ingreso económico en esta región, con una participación del 54% del total de existencias caprinas a nivel país (ODEPA 2014). En Chile, estudios previos realizados en caprinos, han evidenciado porcentajes de infección serológica por *T. cruzi* del 6,5% y parasitemia determinada mediante PCR del 35,7%. El objetivo de este estudio es conocer la prevalencia serológica y parasitemia circulante por *T. cruzi* en caprinos procedentes de cuatro localidades endémicas de la comuna de Combarbalá IV Región Chile y determinar las pérdidas económicas que representa dicha infección para la región y crianceros locales.

Material y Métodos

Diseño y población en estudio

Estudio de tipo descriptivo exploratorio. En base a la información disponible en literatura sobre infección de *T. cruzi* en caprinos (Alcaíno et al.1995, Rozas et al. 2007), se estimó un tamaño de muestra mínimo de 100 caprinos machos o hembras de las localidades de El Huacho, Pama, Chipel y El Parral, comuna de Combarbalá, IV Región de Coquimbo, seleccionados al azar.

Consentimiento Informado

El consentimiento informado fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación en animales de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (Protocolo CBA N° 0657-2014). Una copia del documento fue entregada a los crianceros participantes.

Muestras biológicas

Sangre periférica: se realizó una pequeña incisión (0.5 mm) con bisturí estéril, en la zona auricular del caprino, previa limpieza con alcohol de 70°, lo que permitió el flujo de gotas de sangre que fueron absorbidas en dos papeles filtro Wathman N°1 previamente rotulados, secados a temperatura

ambiente y protegidos en envases individuales. Los papeles filtros fueron mantenidos a 4°C hasta la elución del suero.

Xenodiagnóstico (XD): a cada uno de los caprinos en estudio se aplicó, según técnica descrita por Schenone (1999), una caja de XD que contenía siete ninfas de tercer estadio de *Triatoma infestans*, las que fueron alimentadas durante 30 minutos en la zona exterior del cuello del caprino. Posteriormente, las cajas fueron mantenidas a 27°C y 75% de humedad, hasta la obtención de las deyecciones.

Reacción de Inmunofluorescencia IgG (IFI-IgG)

Según recomendaciones descritas en Contreras et al (1984), se marcó una superficie de 2 cm² en el papel filtro que contenía la muestra de sangre y se cortó en pequeños trozos que fueron introducidos en un tubo Eppendorf que contenía 300 µl de buffer fosfato pH 7,2. Con el fin de lograr máxima elución, los tubos fueron incubados a 4°C durante 24 horas. Posteriormente, se extrajo 200 µl de eluido por muestra, considerando que dos centímetros cuadrados absorben 100 µl de solución. Los eluidos fueron congelados a -20°C hasta su uso. Como controles positivos se seleccionaron casos con XD y PCR positivo (tripomastigotes móviles observados al microscopio óptico y presencia de la banda de 330 pb en el gel de electroforesis, respectivamente). Como controles negativos fueron utilizados sueros de caprinos de áreas rurales donde no se encuentra el vector biológico de la ECh. Para determinar el título diagnóstico, se realizaron ensayos en que se combinaron diluciones crecientes de sueros negativos y positivos (1/5, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 y 1/160) y conjugado anti-IgG de cabra (*Anti-Goat IgG whole molecule-FITC antibody produced in rabbit, F7367 Sigma-Aldrich Co.*) (1/100, 1/200, 1/400 y 1/800). La lectura se realizó con microscopio Nikon AlphaPhot 2 YS2. El criterio de positividad se estableció al observar fluorescencia color verde en los controles positivos y ausencia de fluorescencia en los controles negativos

Obtención de las muestras de deyecciones de triatominos

Mediante presión abdominal ejercida con ayuda de pinza metálica en campana de bioseguridad, se obtuvo el pool de deyecciones (heces-orina) de cada uno de los siete insectos contenidos en las cajas de

XD. Las deyecciones fueron recibidas en un tubo Eppendorf que contenía 500 µl de buffer fosfato pH 7,2. Posteriormente, la solución fue incubada a 98°C en Baño María con el fin de destruir las formas infectantes del parásito y deconcatenar los minicírculos del kinetoplasto. Luego de hervidas, las muestras fueron mantenidas a -20°C hasta la extracción de ADN (Saavedra et al. 2013).

Extracción y purificación de ADN de *Trypanosoma cruzi*

La extracción de ADN de los pools de deyecciones de triatominos, contenidos en las cajas de XD alimentados sobre los 100 caprinos, se realizó según describe Saavedra et al (2013) con el kit Favorgen (Biotech. Corp. Australia). El proceso se realizó en serie de 6 muestras, para evitar contaminación.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Se aplicó según técnica descrita por Zulantay et al (2004). La mezcla de reacción estuvo compuesta por 5 µl de la muestra de ADN problema, 1 µl de cada uno de los oligonucleótidos kinetoplastídicos 121 (5'-AAATAATGTACGGG (T/G) GAGATGCATGA3') y 122 (5'GGTTCGATTGGGGTTGGTGTAAATATA-3') a una concentración de 0,5 µM, del Sistema Gotaq® Flexi ADN Polimerase (Promega) se utilizaron 4 µl de buffer Taq polimerasa 10x con buffer de carga incorporado, 2 µl de MgCl₂ (25 mM), 0,4 µl (1 mM) de los cuatro dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0,2 µl de Taq polimerasa (5 U) y 6,4 µl de agua destilada estéril libre de nucleasas para un volumen final de 20 µl. La reacción de PCR se llevó a cabo en un termociclador TC-412 (Techne) y comprendió 2 ciclos de 98°C por 1 minuto y 64°C por 2 minutos, seguido por 33 ciclos de 94°C por 1 minuto, 64°C por 1 minuto y 72°C por 1 minuto; para finalmente un ciclo de extensión de 72°C por 10 minutos. Una vez terminado el proceso, las muestras fueron mantenidas a 4°C. De los amplificados se tomaron 5 µl, que se sometieron a electroforesis durante aproximadamente 90 min, a 100 volts en gel de agarosa al 2% en buffer Tris Borato EDTA 1x teñido con 15 µl de red gel. En cada reacción se incluyó un control negativo (ADN caprino no chagásico), un control positivo (kADN-*T. cruzi* de caprino XD y PCR positivo), un tubo sin ADN y un marcador de 100pb (Blench Top 100bp ADN Ladder). Finalmente cada gel fue fotografiado. Una reacción de PCR fue

considerada positiva cuando fue visible una banda de 330 pb, comparable al control positivo, sin señales de contaminación en los controles negativos y control mix.

Determinación del precio de venta de carne caprina y cálculo de pérdidas económicas a causa de la infección por *Trypanosoma cruzi*

Para estimar las pérdidas económicas, se recolectó información de diversos agentes que actúan en la comercialización de carne caprina, como crianceros del mercado informal, establecimientos del mercado interno (pequeñas carnicerías de la comuna) e INDAP. El precio de venta por animal entero y faenado se obtuvo a partir del monto actual que pagan compradores externos a crianceros de la comuna de Combarbalá, con intervención de INDAP como gestor de la comercialización, correspondiente a un precio único y mayorista de \$1.800 por kilo de carne en vara para un peso aproximado de 17 kg por animal faenado siendo el precio de comercialización al consumidor de \$4.398 por kilo de carne. Por tanto, el precio de comercialización de caprino que se utilizó en este estudio fue de \$30.600 por animal entero y faenado. No se consideraron precios de comercialización del mercado informal y mercado interno debido a que caprinos nuevos, cabritillos, cabrillonas y chivatos, son adquiridos a diferentes precios por intermediarios, pero ofrecidos al mismo precio al consumidor. El cálculo de pérdida económica para la comuna de Combarbalá se realizó para cada una de las localidades encuestadas a partir del precio de carne de caprino en vara. La proyección de pérdida económica global se determinó según el porcentaje de infección por *T. cruzi* en los 100 animales encuestados, precio de venta del animal entero faenado y existencias de ganado caprino de la comuna de Combarbalá y Región de Coquimbo correspondientes a 47.986 y 435.236 cabezas de ganado, respectivamente.

Resultados

Título diagnóstico para *Trypanosoma cruzi* en caprinos

Los sueros de caprinos utilizados como controles positivos en la estandarización, corresponden a casos con XD y PCR positivo (parasitemia confirmada), mientras que los controles negativos corresponden a

sueros de caprinos procedentes de zona no endémica para ECh, es decir, libres de la presencia del vector biológico. Todos los sueros controles, positivos y negativos, fueron enfrentados en diluciones crecientes de los sueros y diluciones crecientes del conjugado anti-IgG de cabra (Sigma-Aldrich Co.). El título diagnóstico fue establecido en dilución de suero 1/40 y dilución de conjugado 1/400.

Prevalencia serológica de infección por *Trypanosoma cruzi*

En la Tabla 1 se observan los casos de caprinos serológicamente positivos para *T. cruzi*, según sector rural de procedencia de la comuna de Combarbalá. En un 35% de los casos investigados, se detectaron anticuerpos específicos de tipo IgG contra *T. cruzi*. El mayor y menor porcentaje de casos, fue detectado en los corrales de Parral y Pama, con el 50% y 20% de positividad serológica, respectivamente.

Procedencia del corral	Total de casos estudiados	Casos positivos	%
El Huacho 1	18	4	22%
El Huacho 2	17	5	29%
Chipel	19	9	47%
Parral	26	13	50%
Pama	20	4	20%
Total	100	35	35%

Tabla 1. Seropositividad para *Trypanosoma Cruzi* en caprinos procedentes de diversas localidades rurales de la comuna de Combarbalá, IV Región, Chile. Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta IgG. Título Diagnóstico 1/40. Conjugado anti-IgD cabra 1/400 (Sigma - Aldrich Co.)

Detección de *Trypanosoma cruzi* circulante

En los casos seropositivos y seronegativos para *T. cruzi*, se investigó la presencia de parasitemia mediante PCR convencional aplicado en las deyecciones de triatomos alimentados sobre los animales mediante la aplicación del XD. En 31 de los 35 casos IFI IgG positiva, se observó la banda específica de 330 pb de *T. cruzi*, es decir, el 88,6% de los casos evidenció parasitemia mediante esta técnica. De los casos serológicamente negativos, ninguno tuvo PCR positivo (Tabla 2).

IFI IgG	PCR		Total	%
	Positivo	Negativo		
Positivo	31	4	35	88.6
Negativo	0	65	65	0.0

Tabla 2. Parasitemia por *Trypanosoma cruzi*, determinada mediante PCR en caprinos procedentes de corrales de la comuna de CONbarbalá, IV Región, Chile

Pérdidas económicas estimadas para los crianceros sujetos a estudio y proyección de la pérdida económica en la comuna de Combarbalá y Región de Coquimbo según sus existencias, a causa de la infección de ganado caprino por *Trypanosoma cruzi*

En la Tabla 3 se puede observar las pérdidas económicas estimadas para cada una de las localidades, teniendo en cuenta la cantidad de animales infectados, precio de caprinos en mercado formal mayorista (\$1.800 por kilo de carne en vara), y peso que demanda la empresa compradora correspondiente a 17 kg/peso vivo. Es decir, animales que posean este peso son comercializados a través de INDAP a un valor de \$30.600.

Localidad	Animales	Animales Infectados	Total capital caprino	Pérdidas estimadas
			\$	\$
El Huacho 1	18	4	550.800	122.400
El Huacho 2	17	5	520.200	153.000
Chipel	19	9	581.400	275.400
Parral	26	13	795.600	397.800
Pama	20	4	612.000	122.400
Total	100	35	3.060.000	1.071.000

Tabla 3. Pérdidas económicas para los crianceros sujetos a estudio de la comuna de Combarbalá, Chile, a causa de la infección del ganado caprino por *Trypanosoma cruzi*.

En la Tabla 4 se aprecia la proyección de pérdidas económicas a causa de la infección por *T.cruzi* en 100 caprinos para la comuna de Combarbalá y Región de Coquimbo, considerando un porcentaje de prevalencia serológica por *T. cruzi* del 35% y un valor de \$30.600, que corresponde al precio mayorista por animal vivo.

Lugar	Ganado caprino Existencias n	Proyección ganado infectado por <i>T. cruzi</i> n	Pérdidas estimadas \$
Comuna Combarbalá	47.986	16.795	513.930.060
Región de Coquimbo	435.236	152.332	4.661.377.560

Tabla 4. Pérdidas económicas estimadas y proyectadas para la comuna de Combarbalá y Región de Coquimbo, a causa de la infección del ganado caprino por *Trypanosoma cruzi*.

Discusión

En la actualidad, la producción caprina se ha convertido en una actividad rentable y conservadora del medio ambiente, cuando se generan productos sanos de buena calidad (leche, carne, pelo y piel) y se hace manejo adecuado del ganado y recursos forrajeros (Azócar 2011). Las ventajas comparativas del rubro caprino, según Arbiza (1986) son: adaptabilidad a diferentes situaciones como condiciones extremas de clima, aridez y elevación del terreno; adaptación a diversas condiciones de manejo, pues se adaptan con facilidad a condiciones de nomadismo y trashumancia, consumen y digieren alimentos toscos y de baja aceptación para otras especies; adaptabilidad para consumir gran variedad de alimentos ampliando su ecosistema y hábitat, incluida su capacidad para aprovechar los desechos de la agricultura; capacidad para producir leche, carne, pelo y pieles de primera calidad en zonas inhóspitas; mantiene el equilibrio ecológico, pues ha mostrado ser la especie que mejor aprovecha la vegetación herbácea y matorrales y, presenta importantes beneficios económicos, demostrando ser un rubro rentable y sustentable para diversas zonas del mundo representando mayor bienestar para comunidades rurales en que miles de ganaderos dependen de los productos de la especie caprina. No obstante, en Chile y específicamente región de Coquimbo, donde se concentra la mayor cantidad de existencias de ganado caprino del país, estas ventajas no han logrado constituir desarrollo sustentable para la Región y a la fecha las exportaciones de la carne caprina y sus derivados son prácticamente nulas (INDAP Combarbalá 2015). La encuesta de ganado Caprino 2010, evidencia que se ha producido un incremento en la masa caprina desde la Región de Atacama a la Región de Araucanía. Las ocho regiones consideradas totalizan 667.052 cabezas, lo que representa un aumento de un 10,3% respecto al VII Censo Nacional Agropecuario y Forestal de 2007 (INE 2007). Dentro de las regiones estudiadas destaca claramente la Región de Coquimbo con 435.236 cabezas, con un 9,7% de incremento respecto a 2007. En el otro extremo se aprecia la Región Metropolitana con sólo un 2,1% de las existencias (13.917 cabezas) y un incremento de un 30,6%, entre el año 2007 y 2010. En la comuna de Combarbalá, las existencias de ganado caprino corresponden a 47.986 cabezas, siendo ésta la mayor cifra de las comunas de

la Provincia de Limarí (INE 2010).

En relación a la presencia de vectores biológicos de *T. cruzi* en la IV Región de Coquimbo, se describe *Mepraia spinolai* (Frias-Laserre 2010), vector silvestre y *T. infestans* que si bien es de hábitos esencialmente domiciliarios, refiere procesos de "asilvestración" (Bacigalupo et al. 2006). El caprino constituye una importante fuente de alimento para los triatomos silvestres y peri-domiciliarios, proceso que ocurre sin control de los crianceros, puesto que rutinariamente, los animales pastan a campo abierto durante el transcurso del día (sistema extensivo) (Azócar 2011). A *M. spinolai* en Chile, se suman otras especies en el continente latinoamericano, tales como *Triatoma brasiliensis* en Brasil (Fernández et al. 1994); *Triatoma infestans* en Argentina (Gorla et al. 2011), *Triatoma maculata* en Venezuela (Rojas et al. 2008), o *Rhodnius ecuadoriensis* en Ecuador (Grijalva et al. 2014). En relación a la infección por *T. cruzi* en caprinos en Chile, Schenone et al (1985) y Apt et al (1986), compilan una serie de trabajos que suman 597 y 1325 caprinos, respectivamente, estudiados en sectores rurales y urbanos de las siete primeras regiones del país entre los años 1981 y 1984 (Alcaíno et al, 1981, Alcaíno et al. 1982, Villarroel et al. 1984, Correa et al. 1982, Martínez et al. 1983, Flores et al. 1984, Venegas et al. 1984, Correa et al. 1984, Burchard et al. 1984, Bertoglia et al. 1984, Ulloa et al. 1989). Los porcentajes de prevalencia serológica de *T. cruzi* descritos por Schenone y Apt, corresponden a 7,0 y 7,8%, respectivamente, determinados a través de aplicación de XD o Reacción de Hemaglutinación Indirecta (HAI). Posteriormente, Alcaíno et al (1995), aplican IFI y ELISA en la determinación del 6,5% de infección por *T. cruzi* en 55 de 841 caprinos procedentes de las comunas de San José de Maipo, Colina y Til-Til (Región Metropolitana). Los estudios de Correa et al (1982) y Correa et al (1984), realizados en caprinos de la IV Región aplicando HAI, evidencian porcentajes de infección entre el 7,8% y 9,4%, inferiores 35% obtenido en el presente estudio en la misma región. Alcaíno et al (1995), estudian la infección por *T. cruzi* en 841 caprinos mediante IFI y ELISA, resultando 55 positivos (6,5%), el mayor número de casos detectados en estudios realizados entre los años 1981-1995. A diferencia de este estudio, todos procedían de zonas de baja endemia (Región Metropolitana, comunas de San José de Maipo, Colina y Til-Til).

Si el porcentaje de infección por *T. cruzi* obtenido

en este estudio se proyecta a la población caprina de la Región de Coquimbo, cuya existencia corresponde a 435.236 cabezas (INE 2010) y considerando que toda el área rural de la zona es endémica para ECh, un total de 152.332 cabezas estarían infectadas con *T. cruzi*. Estos resultados permiten proyectar que la pérdida económica para la Región de Coquimbo correspondería a \$4.661.377.560, lo que tendría alto impacto en la economía regional. Por otra parte, para los crianceros de la comuna de Combarbalá la pérdida económica proyectada a causa de la infección por *T. cruzi* alcanzaría a 514 millones de pesos, un valor significativo sabiendo que este rubro está poco desarrollado, y más que un recurso que genera grandes utilidades, constituye un elemento de subsistencia.

En esta actividad ganadera, se observa que existe dependencia de intermediarios, puesto que la infraestructura, herramientas y conocimiento en la comercialización de productos caprinos, es precaria. Más aún, un criancero que posea 20 cabezas de ganado caprino, podría obtener por venta directa al mercado mayorista alrededor de \$600.000 por carne faenada, mientras que el intermediario que comercializa en el mercado externo nacional obtiene por el mismo producto, cerca de \$1.530.000, considerando un precio de venta en mercado externo de \$4.500/Kg de carne.

En relación a estudios previos de parasitemia por *T. cruzi* en caprinos, Rozas et al (2007) describen, en una población de 42 caprinos, un total de 11 (26,1%) y 15 (35,7%) caprinos positivos, mediante ensayos de PCR e hibridación, respectivamente. En dicho estudio no se realizó serología convencional previa para determinar el porcentaje de infección por *T. cruzi* en la población estudiada. Estudios relacionados realizados en Chile y otros países, aplicando sólo PCR han evidenciado en roedores silvestres, perros y gatos, porcentajes de infección del 22,9% (Campos et al. 2007), 20-100% (Araujo et al. 2002; Eloy et al. 2012) y 20% (Eloy et al. 2012), respectivamente. En nuestro estudio se evidenció mediante PCR, que del 35% de los caprinos cuya infección por *T. cruzi* fue detectada mediante IFI, el 88,6% tiene parásitos circulantes. Este resultado es semejante al obtenido mediante PCR en estudios de parasitemia por *T. cruzi* en individuos con ECh crónica aparentemente sanos, con porcentajes que varían entre el 33,3% y el 96,5%, (Brenner et al. 2000; Zulantay et al. 2004; Reda et al. 2013).

En relación al impacto que tendría el porcentaje de parasitemia obtenido en la población caprina estudiada, causando graves pérdidas económicas proyectadas para los productores y crianceros, es posible abordar la discusión desde dos perspectivas: Por una parte, riesgo de eventual infección por *T. cruzi* a través del mecanismo de transmisión oral, principalmente por ingestión de carne de caprino insuficientemente cocida. La infección oral por *T. cruzi* producida por la ingestión de triatominos infectados o sus deyecciones, consumo de carne insuficientemente cocida de animales infectados Tosso et al (2011), sugieren que este mecanismo de transmisión podría ser considerado en el futuro en el marco de las medidas de control. Por otra parte, la mantención del ciclo silvestre de *T. cruzi*, a través de la infección de otros animales domésticos (perro, gato) y silvestres (roedores), por infección oral a través del consumo de restos biológicos de caprino infectados y faenados en condiciones deficientes y riesgo de infección por accidente por las precarias instalaciones para el faenamiento en el mercado informal, debe ser tomado en cuenta.

El caprino es reconocido desde siglos, una especie domesticada que acompaña al hombre (Azócar 2011), está en contacto permanente con diferentes especies animales, especialmente perros, gatos, roedores y otros mamíferos silvestres. En el área endémica de ECh en América Latina, esta especie está en contacto con diferentes especies de mamíferos y triatominos vectores, tanto en los corrales como en su área de alimentación o transhumancia (Chagas en Latinoamérica 2009, Herrera 2010). La infección entre vectores y mamíferos silvestres, ocurre por los hábitos alimenticios de las diferentes especies (hematofagia en los insectos, contaminación de la piel y mucosas con las deyecciones de triatominos que contienen tripomastigotes metacíclicos infectantes y que penetran por las lesiones microscópicas dejadas por la picadura, carnivorismo de mamíferos y coprofagia en especies silvestres, como los roedores) y, por la acción del hombre, al faenar, en ausencia de mataderos y sistemas adecuados en el área rural a caprinos infectados con *T. cruzi* cuyos restos biológicos expuestos y libres son aprovechados como alimento, especialmente por perros, gatos y roedores. Existen por tanto, muchas posibilidades de transmisión oral entre las diferentes especies del hábitat peridomiciliario y silvestre, incluida la ingestión de deyecciones de triatominos, directa

o a través de alimentos y pasto contaminado, lo que a su vez se traduce en una mayor infección del ganado caprino y esto a su vez, en mayores pérdidas económicas para los crianceros.

El presente estudio permite concluir que:

- La valoración económica de caprinos infectados con *T. cruzi* procedentes de la IV Región de Coquimbo, permite proyectar una importante pérdida económica del rubro, en eventuales procesos de exportación que requieran control sanitario.

- Para evitar el daño económico por *T. cruzi* en la ganadería caprina es necesario mejorar los sistemas de alojamiento, producción, alimentación y faenamiento caprino, especialmente aquellos relacionados con la presencia del vector silvestre o peridomiciliario.

- Se requiere capacitación para la adecuada comercialización de productos caprinos, pues se observa un rubro precario e informal. Dichas acciones podrían tener impacto positivo en la economía regional y permitiría al mismo tiempo, implementar normas sanitarias para el control de la enfermedad de Chagas en la región.

Agradecimientos

A los crianceros de las localidades de Pama, Chipel, El Huacho y Parral, comuna de Combarbalá, IV Región, Chile por su disponibilidad para realizar esta investigación. A *Eric Aguilera* y *Wilson Manzano* por su colaboración en terreno. Este estudio fue financiado por los Proyectos Fondecyt 1100768 y 1120382.

Referencias

- Alcaíno H, Arrau S, Apt W, Ríos A. Enfermedad de Chagas en caprinos sinantrópicos de la Provincia del Limarí, Chile. *Rev Med Chile*. 1982; 110: 326-332.
- Alcaíno H, Ríos A, Apt W, Arrau S. Enfermedad de Chagas en animales sinantrópicos de un área hiperendémica de Chile. *Parasitol al Día*. 1981; 4: 88. 1981.
- Alcaíno T, Lorca M, Nuñez F, Issotta A, Gorman T. Enfermedad de Chagas en caprinos de la Región Metropolitana (Chile): Encuesta seroepidemiológica e infección experimental. *Parasitol al Día*. 1995; 19: 30-36.

- Apt W, Reyes H. Aspectos epidemiológicos de la enfermedad de Chagas en Chile. I: Distribución geográfica, índices de infección en vectores y en humanos. *Parasitol al Dia*. 1986; 10:94-101.
- Araújo FM, Bahia MT, Magalhães NM, Martins-Filho OA, Veloso VM, Carneiro CM, Tafuri WL, Lana M. Follow-up of experimental chronic Chagas' disease in dogs: use of polymerase chain reaction (PCR) compared with parasitological and serological methods. *Acta Trop*. 2002; 81(1):21-31.
- Arbiza S. Producción de caprinos. 1986. AGT Editor, S.A. México, 695 pág.
- Azúcar P. Producción Caprina. Leche, carne, pelo y piel. 2010. Ed. Universitaria, Stgo de Chile. 2011. 523 pág.
- Bacigalupo A, Segura J, García A, Hidalgo J, Galuppo S, Cattán P. Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile *Rev Med Chile*. 2006; 134: 1230-1236.
- Bertoglia J, Rodríguez J, Gordillo N, Mendoza J, Contreras MC, Rojas J, Rojas A, Villarroel F, Schenone H. Epidemiology of Chagas' disease in Chile. Rural sectors. Infection of domestic mammals by *Trypanosoma cruzi* and new contributions to the knowledge of domiciliary triatomid infestation in Region III, Chile (1982-1983). *Bol Chil Parasitol*. 1984; 39(1-2):20-23.
- Brener Z, Andrade Z.; Barral-Netto M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Segunda Edición. 2000. Pág. 127-143.
- Burchard L, Cornejo J, Cruz L, Contreras MC, Vargas L, Villarroel F, Rojas A, Schenone H. Epidemiology of Chagas' disease in Chile. Rural sectors. Domiciliary triatomid infestation and *Trypanosoma cruzi* infection of the vector and domestic mammals of Region II (1983). *Bol Chil Parasitol*. 1984; 39(1-2):17-19.
- Campos R, Torres-Pérez F, Botto-Mahan C, Coronado X, Solari A. High phylogeographic structure in sylvatic vectors of Chagas disease of the genus *Mepraia* (Hemiptera: Reduviidae). *Infect Genet Evol*. 2007; 19: 280-286.
- Chagas en Latinoamérica. Tripanosomiasis Americana. Institute for International Cooperation in Animal Biologics. Iowa State University. College of Veterinary Medicine. 2009. 9 pág.
- Contreras M. del C., Rojas, A., Villarroel F, Schenone H. Comparación de la sensibilidad de la reacción de hemaglutinación indirecta para enfermedad de Chagas en muestras de sangre obtenidas por punción venosa y por punción capilar (papel filtro), en pacientes con diganóstico positivo. *Bol Chil Parasitol*. 1984; 39: 60-62.
- Correa V, Briceño J, Zuñiga J. Infección por *Trypanosoma cruzi* en animales domésticos de la IV Región, Chile. *Bol Chil Parasitol*. 1982; 37: 27-78.
- Correa V, Zúñiga J, Briceño J, Contreras MC, Aranda JC, Valdés J, Rojas A, Villarroel F, Schenone H. Epidemiology of Chagas' disease in Chile. Rural sectors. Triatomid domiciliary infestation, their rates of infection by *Trypanosoma cruzi* and new contributions to the knowledge of Chagas' infection in domestic mammals of IV Region (1982-1983). *Bol Chil Parasitol*. 1984; 39(1-2):24-27.
- Eloy L, Baldini S. Hemoculture and Polymerase Chain Reaction Using Primers TCZ1/TCZ2 for the Diagnosis of Canine and Feline Trypanosomiasis. *Vet Science*. 2012; ID 419378, 6 pág.
- Fernández A, Vitor R, Dias JC. Avaliação parasitológica e serológica de caprinos inoculados experimentalmente pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1994; 36 (1): 11-17.
- INDAP (2015). Combarbalá IV Región.. Cristian Lazo. Comunicación Personal
- Flores B, Hernández G, Lepe A, Contreras MC, Sandoval L, Villarroel F, Rojas A, González O, Schenone H. Epidemiology of Chagas' disease in Chile. Rural sectors. Domiciliary triatomid infestation and *Trypanosoma cruzi* infection of the vector and domestic mammals in Region V, 1983. *Bol Chil Parasitol*. 1984; 39(3-4):62-65.
- Frias-Laserre D. A New Species and Karyotype Variation in the Bordering Distribution of *Mepraia spinolai* (Porter) and *Mepraia gajardoi* Frías et al (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Chile and its Parapatric Model of Speciation. *Neot Entomol*. 2010; 39(4)572-583.
- Gorla D, Porcasi X, Scavuzzo M, Gorla et al. El paisaje y su interacción con actividades de control de la enfermedad de Chagas en áreas rurales de Argentina. *Anais XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto - SBSR, Curitiba, PR, Brasil, 30 de abril a 05 de maio de 2011, INPE*. 2011. pág. 8381-8388.
- Grijalva M, Terán D, Dangles O. Dynamics of Sylvatic Chagas Disease Vectors in Coastal Ecuador Is Driven by Changes in Land Cover. *Plos Negl Trop Dis*. 2014; 8(6): e2960.
- Herrera L. Una revisión sobre reservorios de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico de

- la Enfermedad de Chagas. Bol Malarol SaludAmb. 2010; 1. 11 pág.
- INE Instituto Nacional de Estadísticas.VII Censo Nacional Agropecuario y Forestal Año. 2007; <http://www.censoagropecuario.cl/index2.html>. Acceso 27 agosto 2015.
- INE. Instituto Nacional de Estadísticas.Encuesta de Ganadería Caprina. 2010; 98 pág.
- Martínez R, Ahumada C, Contreras MC, Villarroel F, Rojas A, Schenone H. Chagas' disease in Chile. Rural Sectors. Domiciliary triatomid infestation and *Trypanosoma cruzi* infection of the vector and mammals of Region I 1982-1983. Bol Chil Parasitol. 1983; 38(3-4):70-72.
- ODEPA.Región de Coquimbo. Información Regional, 2014; http://www.odepa.cl/wp-content/files_mf/1395695414140323_minuta_coquimbo.pdf Acceso 27 agosto 2015.
- Reda S, Alban S, Gobor L, de Oliveira J, Iurico M, Thomaz-Soccol V. Comparison of conventional serology and PCR methods for the routine diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. Rev Soc Brasila Med Trop. 2013; 46(3):310-315.
- Rojas ME, Várquez P, Villarreal MF, Velandia C, Vergara L, Morán-Borges Y, Ontiveros J, Calderón MY, Chiurillo-Siervo MA, Rodríguez-Bonfante C, Aldana E, Concepción JL, Bonfante-Cabarcas R. An entomological and seroepidemiological study of Chagas' disease in an area in central-western Venezuela infested with *Triatoma maculata* (Erichson 1848) Cad Saúde Pública. 2008; 24(10):2323-2333.
- Rozas M, Botto-Mahan C, Coronado X, Ortiz S, Cattán P, Solari A. Coexistence of *Trypanosoma cruzi* Genotypes in Wild and Periodomestic Mammals in Chile. Am J Trop Med Hyg. 2007; 77(4): 647-653.
- Saavedra M, Zulantay I, Apt W, Martínez G, Rojas A, Rodríguez J. Chronic Chagas disease: PCR-xenodiagnosis without previous microscopic observation is a useful tool to detect viable *Trypanosoma cruzi*. Biol Res. 2013; 46:3
- Schenone H, Contreras MC, Borgoño JM, Rojas A, Villarroel F, Valdés J. Chagas' disease in Chile. Rural and periurban sectors of the endemo-zoonotic area. Relationship between housing conditions, domiciliary triatomid infestation and infection by *Trypanosoma cruzi* of the vector, humans and domestic mammals. 1982-1985. Bol Chil Parasitol. 1985; 40(3-4):58-67.
- Schenone H. Xenodiagnosis. Mem Inst Oswaldo Cruz 94. 1999; (I): 289-294.
- Toso A, Vial F, Galanti N. Transmisión de la enfermedad de Chagas por vía oral. Rev Med Chile. 2011; 139: 258-266.
- Ulloa M, Traslaviña M, Alcaíno H. Enfermedad de Chagas en caninos y caprinos sinantrópicos de la Provincia del Choapa, IV Región, Chile. Parasitol al Día. 1989; 13: 120-124.
- Venegas L, Rojas A, Villarroel F, Contreras MC, Sandoval L, Schenone H. Epidemiology of Chagas' disease in Chile. Rural sectors. Domiciliary triatomid infestation and *Trypanosoma cruzi* infection of the vector and domestic mammals of the Bernardo O'Higgins Region VI, 1983. Bol Chil Parasitol. 1984; 39(3-4): 69-72.
- Villarroel F, Rojas A, Contreras MC, Schenone H. Epidemiology of Chagas' disease in Chile. Rural sectors. Domiciliary triatomid infestation and *Trypanosoma cruzi* infection of vectors and domestic mammals of the metropolitan region. Bol Chil Parasitol. 1984; 39(3-4): 65-68.
- WHO.Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. Weekly Epidemiological Record. 2015; 90:33-44.
- Zulantay I, Honores P, Solari A, Apt W, Ortiz S, Osuna A, Rojas A, López B, Sánchez G. Use of polymerase chain reaction (PCR) and hybridization assays to detect *Trypanosoma cruzi* in chronic chagasic patients treated with itraconazole or allopurinol. Diag Microbiol Inf Dis. 2004; 48: 253-257.

Monte Carlo simulation of Rabies dynamics: effects of constant rate of vaccination and single vaccination campaign

M. CANALS.^{1,2}, M. SCORTTI ³, A.CANALS ^{1,4}, P.E. CATTAN ⁵

- ¹ Programa de Salud Ambiental, Escuela de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Independencia 1027, Recoleta, Santiago, Chile, Postal Code: 8380453.
- ² Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Independencia 1027, Recoleta, Santiago, Chile, Postal Code: 8380453. E-mail: mcanals@uchile.cl
- ³ School of Biomedical Sciences, Edinburgh University. Hugh Robson Building George Square EH8 9XD, United Kingdom. E-mail: m.scortti@ed.ac.uk
- ⁴ Dirección Académica, Clínica Santa María. Av. Santa María 0500, Providencia, Santiago, Chile, Postal Code: 7520378. E-mail: andreacanals.c@gmail.com
- ⁵ Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Santa Rosa 11735, La Pintana, Santiago, Chile. Postal Code: 8820808. E-mail: pcattan@uchile.cl

Running head: Effect of vaccination in Rabies dynamics

Corresponding author: Mauricio Canals L. Programa de Salud Ambiental and Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. E-mail: mcanals@uchile.cl

Summary

Rabies is an important zoonosis and a major public health concern. Latin American countries have adopted rabies control strategies but these are often only partially successful and are rarely sustained over time. Human, canine and bovine cases of rabies are still reported. This paper aims to apply mathematical modeling to the transmission of rabies in canines and simulate the behavior of the disease under various scenarios to find the best control strategy. Monte Carlo simulations enable us to represent well an epidemic outbreak of rabies. We modeled an epidemic that started quickly in a susceptible unvaccinated population and reached a high level of prevalence. The canine population declined drastically but the original population level was later recovered. We incorporated different rates of vaccination (sustained campaign) into the model. The epidemic magnitude was lower at higher vaccination rates. When a single large-scale vaccination campaign (once-off) was introduced, the magnitude of the epidemic was reduced in proportion to the number of susceptible individuals that were vaccinated. A higher level of security for eradication of rabies epidemics is achieved considering the 95th percentile for eradication: 42% of coverage was obtained for a realistic value $R_0 = 1.58$. Our results suggest i) that both strategies may be equally efficient to eradicate rabies epidemics, being constant rates of vaccination more applicable for dog population in cities and massive campaigns for wild reservoir; ii) that the 70% coverage proposed by WHO is considerably greater than the coverage necessary to interrupt the transmission chain for the R_0 level reported today and iii) that birth rate (a), transmission coefficient (β) and reservoir immunity coverage (φ or P) are the key factors for rabies control.

Key words: Monte Carlo method – Rabies - Vaccination

Introduction

Rabies continues to be a zoonosis of major public health importance, with a worldwide distribution and an increasing wild reservoir (Favi & Durán 1991, Plotkin 2000). Its impact can be distressing: there were 217 human deaths in America in 1993 in, 45% of whom were of children less than one year of age (Knobel et al. 2005). Since 2010, 111 cases of human Rabies transmitted by dogs or bats have been reported in Latin America and Caribbean (Vigilato et al. 2013). Human infection that is often lethal can result by accidental dispersion from animal reservoirs (Smith & Seidel 1993, Favi et al. 2011, Favi & Durán 1991, Ribas et al. 2013) and there are 55000 human deaths/year in the world (Knobel et al. 2005). All mammals are potential hosts of the disease (Acha & Szyfres 2003), although few species are able to maintain endemic cycles independently (Clark 1988). In Brazil, 28 cases of human rabies were reported between 1981 and 1998. Transmission by simians, raccoons, and foxes accounted for 2.5% of all reported human cases during this period, with even more suspected unreported cases caused by these wild animals (Batista-Morais et al. 2000). An

epidemic which started in the red fox (*Vulpes vulpes*) in Poland (1940) spread across much of the European continent and is still active today. Rabies remains associated with the gray fox *Pseudoalopex griseus* in South America. In southern Chile, 58 foxes were captured and their brains were studied with direct immunofluorescence and mouse inoculation; 8.6% were found to be positive for Rabies (Durán & Favi 1989). Hematophagous and non-hematophagous bats of South America provide another example of Rabies circulation in wild populations (Acha & Szyfres 2003, Soares et al. 2002) and, in Chile, the prevalence in non-hematophagous bats has increased (Favi et al. 2011, Aguilar-Setien et al. 2002).

Latin American countries have adopted various strategies to control rabies for decades. These have focused primarily on urban Rabies (associated with dogs) and while some have achieved partial successes, this is rarely sustained over time. The cyclical behavior of Rabies has been described in countries such as Argentina and Paraguay (Ernst & Fabrega 1989), probably associated to interactions between host and viral population and the renovation of the canine population (Piza et al. 2002, Rosatte et al. 2001, Anderson et al. 1981,

Scotti et al. 1997). The first successful control programme in South America was carried out in Uruguay during the 1950s using avianized vaccines and culling. In the third Special Session on Rabies in Chile (1972), the health ministries of the Americas set out a plan which included recommendations to control and eradicate rabies within ten years (Baez 1984). Coordinated actions for regional elimination of human Rabies transmitted by dogs began in 1983 in Latin America and Caribbean. This effort has led to an 90% reduction of human and canine Rabies (Vigilato et al. 2013). However, this could only be partially fulfilled in some countries: there were still 67 cases of human Rabies (the largest numbers of cases in Brazil and Colombia), 1590 cases of canine Rabies and despite cattle vaccination programmes 3136 of bovine Rabies reported in Latin America in 2000 (Acha & Szyfres 2003, Piza et al. 2002). In Chile, urban Rabies was endemic between 1950 and 1960 with large numbers of cases recorded in both humans and animals (Favi et al. 2008, Laval & Lepe 2008). Mass immunisation and increased diagnostic coverage by active surveillance was introduced as part of a control programme in 1960 which aimed to reduce the prevalence of rabies in the dog population. This led to a large decline in cases of human Rabies without human cases from 1972 and only low number of cases reported in animals (low endemic condition). However, in August of 2013 a case of human rabies surprisingly caused by dog bite was confirmed (MINSAL 2013). The currently increasing canine and feline population (Acosta-Jamett et al. 2010, Urcelay & Di Silvestri 1990) could make it more difficult to control the disease. It is therefore necessary to review and optimise mass immunisation campaigns that can be carried out on animals, using tools such as mathematical modeling (Fitzpatrick et al. 2012, Morters et al. 2013, Townsend et al. 2013, Zhang et al. 2011)

The mathematical modeling of infectious diseases is well developed and models can incorporate complexities in biological organizations and environmental stochasticity and heterogeneity. Such models can be powerful and provide good predictive capabilities, for example in the dynamics of rabies (Anderson et al. 1981, Fitzpatrick et al. 2012, Morters et al. 2013, Townsend et al. 2013, Zhang et al. 2011, Panjeti & Real 2011), and other diseases (Canals et al. 2012). New tools, for an optimal control, may be used by public health agencies to direct

the management and strategic planning of disease control. This paper applies mathematical models to the transmission of rabies in canines and simulates its behavior under various scenarios to identify the best control strategies.

Material and methods

We used the Anderson et al. (Anderson et al. 1981) model for Rabies as the base model in this study. It considers susceptible (S), non-infectious infected or latent (E) and infective (I) groups in the population ($N = S + E + I$). By introducing a vaccination programme in this system a recovered sub-population was created (R) (Fig. 1).

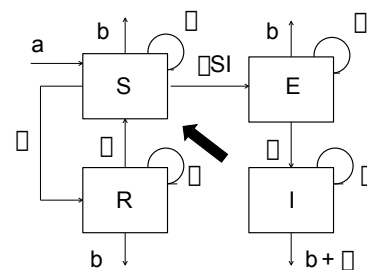


Figure 1. Transmission diagram of rabies: a is the birth rate and b is the mortality rate of the population, γ is the density-dependent effect, β is the transmissibility, σ is the transfer rate from latent to infectious, α is the specific death rate from rabies, φ is the vaccination rate and δ the rate of immunity loss.

Individuals gain immunity with a vaccination rate φ and lose immunity at a rate of δ . In this modified model the dynamics of Rabies is expressed by the following differential equations:

$$\begin{aligned}
 dS / dt &= a(S + R) - (b + \gamma N)S - \beta SI - \varphi S + \delta R \\
 dE / dt &= \beta SI - (\sigma + b + \gamma N)E \\
 dI / dt &= \sigma E - (\alpha + b + \gamma N)I \\
 dR / dt &= \varphi S - (\delta + b + \gamma N)R
 \end{aligned}$$

where a is the birth rate and b is the mortality rate of the population, γ is the density-dependent effect, β is the transmissibility, σ is the transfer rate from latent to infectious and α is the specific death rate from Rabies. Using the next generation matrix method we compute the reproductive number R_0 . The next generation operator is fully described in Diekmann & Heesterbeek (2000). The formation of the operator involves determining two compartments, infected

and non-infected, from the model. Let us assume that there are n compartments of which m are infected. We define the vector $X = x_i$, $i = 1, 2, \dots, n$, where x_i denotes the number or proportion of individuals in the i^{th} compartment. Let $F_i(X)$ be the rate of appearance of new infections in compartment i and let $V_i(X) = V_i(-) - V_i(+)$ where $V_i(+)$ is the rate of transfer of individuals into compartment i by all other means and $V_i(-)$ is the rate of transfer of individuals out of the i^{th} compartment. The difference $F_i(X) - V_i(X)$ gives the rate of change of x_i . Assuming that F_i and V_i meet the conditions outlined by Diekmann et al. (1990) and van den Driessche & Watmough (2002), we can form the next generation matrix (operator) FV^{-1} from matrices of partial derivatives of F_i and V_i and R_0 is given by the spectral radius (dominant eigenvalue) of the matrix FV^{-1} (34).

The model was used to simulate the dynamics of canine rabies using the Monte Carlo method (35). Elementary transformations $T(i)$ were disaggregated and the resulting probability for each transformation, was estimated as $p_i = T(i)/T$, where $T = \sum_i T(i)$. The transformation $T(j)$ was executed when $\sum_{p_i \leq RN} \leq \sum_{p_i}$, where RN are randomly generated numbers between 0 and 1 (Table 1). Time was measured in days.

Table 1.- Elementary transformations to generate probability distributions in Monte Carlo simulations. Here $T = \sum_i T(i)$ and $p_i = T(i)/T$

Event loading	Elementary transformation	Event (i)
$T(1) = a * S(i) + R(i)$	$S(i + 1) = S(i) + 1$	Susceptible born
$T(2) = (b + \gamma * N(i)) * S(i)$	$S(i + 1) = S(i) - 1$	Susceptible dies
$T(3) = (b + \gamma * N(i)) * E(i)$	$E(i + 1) = E(i) - 1$	Latent dies
$T(4) = (a + b + \gamma * N(i)) * I(i)$	$I(i + 1) = I(i) - 1$	Infected dies
$T(5) = (b + \gamma * N(i)) * R(i)$	$R(i + 1) = R(i) - 1$	Recovered dies
$T(6) = \beta * S(i) * I(i)$	$S(i + 1) = S(i) - 1, E(i + 1) = E(i) + 1$	Susceptible infected (bite)
$T(7) = \varphi * S(i)$	$S(i + 1) = S(i) - 1, R(i + 1) = R(i) + 1$	Susceptible immunised (vaccine)
$T(8) = \delta * R(i)$	$S(i + 1) = S(i) + 1, R(i + 1) = R(i) - 1$	Recovered lose immunity
$T(9) = \sigma * E(i)$	$E(i + 1) = E(i) - 1, I(i + 1) = I(i) + 1$	Latent ill

We simulated the introduction of 10 infected animals in two situations, considering a total population of i) 3000 and ii) 5000 susceptible animals. The population was considered to be growing with rates $a = 0.000468$ and $b = 0.000356$ individuals / population day, based on data from domestic dogs (Morales & Ibarra 1979) in Santiago of Chile, a realistic value that agrees with recently estimations (see Favi & Durán 1991). We assumed a specific mortality rate of $\alpha = 100b$ and no effect of density dependence ($\gamma = 0$). We defined $\sigma = 0.0333$ day⁻¹ since the latency period of rabies is about 30 days (Acha & Szyfres 2003). The transmission coefficient was estimated from the relationship $R_0 = \frac{\sigma \beta K}{(\sigma + a)(\alpha + \gamma)}$ where R_0 is the reproductive number (number of secondary

cases from an index case) for the dynamics of rabies in natural conditions (without vaccination) and K is a population threshold size needed to cause an epidemic. We arbitrarily chose $K = 3000$, thus, $\beta = 0.00001452$ individuals/(infected)(susceptible)day. The rate of loss of immunity used was $\delta = 0.000877$ day⁻¹ (immunity of 3.12 years post vaccine)(Chomel et al. 1988) (Table 2).

Table 2.- Values of the parameters used in the numerical simulations.

Parameter	Value
Birth rate (a)	0.000468 day ⁻¹
Mortality rate (b)	0.000356 day ⁻¹
Specific mortality rate (α)	0.0356 day ⁻¹
Density parameter (γ)	0
Transfer rate (E-I) (σ)	0.000333 day ⁻¹
Transmissibility (β)	0.00001452 infected ⁻¹ day ⁻¹
Rate of loss of immunity (δ)	0.000877 day ⁻¹

We simulated: A) sustained campaign: a completely susceptible population with vaccination rates varying from $\varphi = 0$ to $\varphi > (a + \delta)(R_0 - 1)$ animals/day (Vigilato et al. 2013) and B) Once-off: a completely susceptible population with mass vaccination at $t = 120$ days, varying the proportion of susceptible vaccinated from 0 to $P > 1 - 1/R_0$ (Anderson et al. 1981).

A sensitivity analysis of R_0 as function of the parameters of the model was performed considering the standardized sensitivity (or elasticity): $\gamma_{\theta}^{R_0} = \frac{\partial R_0}{\partial \theta} \frac{\theta}{R_0}$, where θ is the studied parameter, and then evaluated for the particular values of the parameters (following Shah & Gupta 2013). We also performed a sensitivity analysis of the presence of rabies epidemics to the values of φ and P estimating the critical values (φ^* and P^*) (20) by means of the probit model (Canals & Solís 2014). We performed simulations for different values of P and φ to detect the presence of rabies epidemics (30 simulations for each value), determining the probability of rabies epidemics (PE) for a particular value of the parameter θ (P or φ). We consider the relationship $\text{Probit}(pa) = \beta_0 + \beta_1 \theta$, with $\text{Probit}(pa) = z + 5$, where pa is the probability for abort a Rabies epidemics ($= 1 - PE$) and z is the value for pa in the cumulative standardized Gauss distribution density. With this analysis we determine the critical value θ^* as the value for which $\text{Probit}(pa) = 5$, and the 95th percentile to eradicate the epidemics θ^{*95} as the values for which $\text{Probit}(pa) = 6.64 (= 1.64 + 5)$.

Results

For our model we obtain $F = \begin{bmatrix} 0 & \beta\lambda \\ (b+\phi) & 0 \end{bmatrix}$ and $V = \begin{bmatrix} \sigma+b & 0 \\ -\sigma & \alpha+b \end{bmatrix}$, and the first eigenvalue of FV^{-1} was $R_0 = \frac{\beta\lambda\sigma}{(\phi+b)(\sigma+b)(\alpha+b)}$, where $\lambda = a(S+R)$. The sensitivity indices of R_0 ($\vartheta_{\theta}^{R_0}$) to the parameters are show in Table 3.

The highest sensitivity values of R_0 were related to the parameters β , a , and α .

Table 3.- Sensitivity indices of R_0 to the parameters (θ) for the Rabies model

θ	Sign	Value
B	+	1
A	+	1
Σ	+	0.011
Φ	-	0.360
A	-	0.990
B	-	0.661

In the simulations, when the initial number of susceptible $S = 3000$, we obtained $R_0 = 1.576$, and for $S = 5000$ we obtain $R_0 = 2.626$.

Monte Carlo simulations enabled us to represent an epidemic phenomenon well. With the first initial condition $R_0 = 1.576$ an epidemic (with values above the 10 initial latent individuals) started in the susceptible population without vaccination at around 500 days, reaching 40 ± 15 cases/day 12.3 years after $t = 0$ and lasting 28.21 years (10297 days). With the second initial condition, $R_0 = 2.626$, the epidemic started in the susceptible population without vaccination quickly, reaching 400 ± 20 cases/day 27.4 years after the beginning of the epidemics and lasting at 42.65 years (15569 days) (Fig. 2).

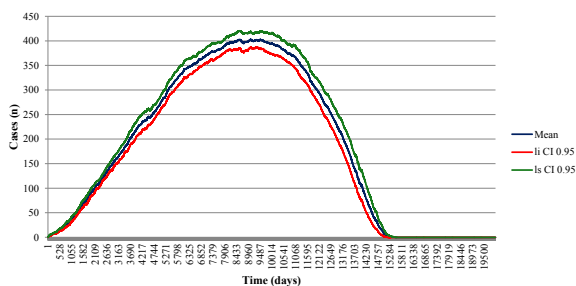
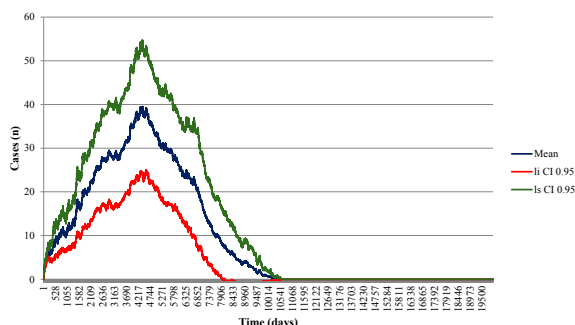


Figure 2. Numerical simulations of the progression of the cases of rabies without vaccination with their confidence limits for $R_0 = 1.576$ (top) and $R_0 = 2.626$ (bottom).

During an epidemic the canid population declined drastically, making population recovery longer to achieve. The epidemics decreased in magnitude when constant rates of vaccination were introduced, and disappeared with a high vaccination rate. The time at which the epidemic started was similar in all cases, but more vaccination led to a reduced epidemic (Fig. 3).

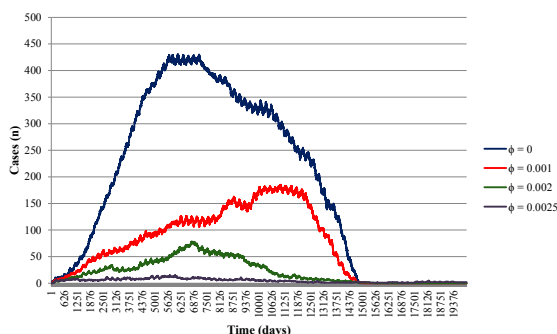
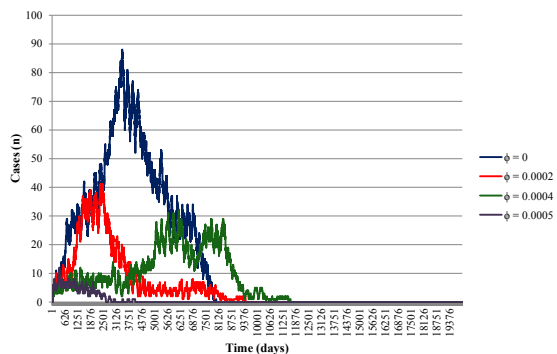


Figure 3. Numerical simulations of the progression of the cases of rabies for several vaccination rates (ϕ) for $R_0 = 1.576$ (top) and $R_0 = 2.626$ (bottom).

When we modeled a once-off campaign at 120 days from the beginning of the epidemic there was a reduction in epidemic magnitude due to the proportion of susceptible individuals being vaccinated (Fig. 4).

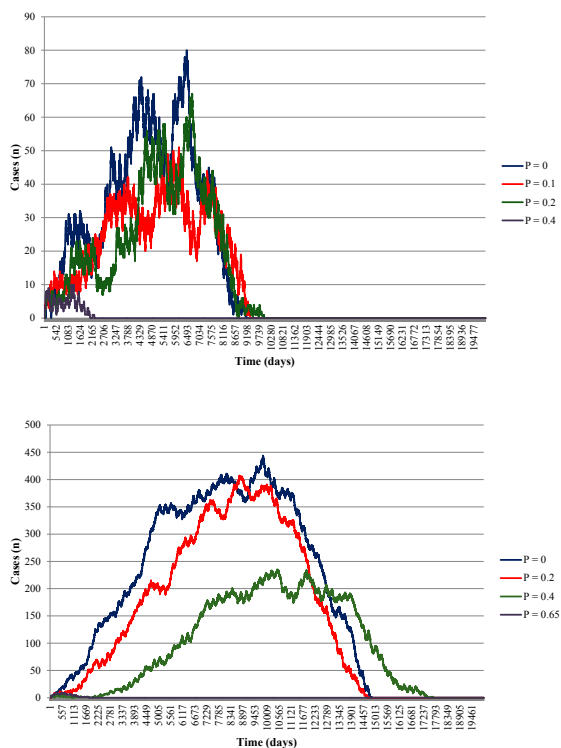


Figure 4. Numerical simulations of the progression of the cases of rabies for several coverages of vaccination at 120 days for $R_0 = 1.576$ (top) and $R_0 = 2.626$ (bottom).

When a constant rate of vaccination was used critical values to eliminate the rabies epidemics were $\varphi^* = 0.000233 \pm 0.00011$ and $\varphi^{*95} = 0.000421 \pm 0.00011$ for $R_0 = 1.576$ and $\varphi^* = 0.00246 \pm 0.0004$ and $\varphi^{*95} = 0.00309 \pm 0.0004$ for $R_0 = 2.626$. When a massive vaccination at 120 days was used disease eradication was possible for critical values $P^* = 0.256 \pm 0.098$ and $P^{*95} = 0.418 \pm 0.098$ for $R_0 = 1.576$ and $P^* = 0.645 \pm 0.098$ and $P^{*95} = 0.752 \pm 0.098$ for $R_0 = 2.626$ (Fig. 5).

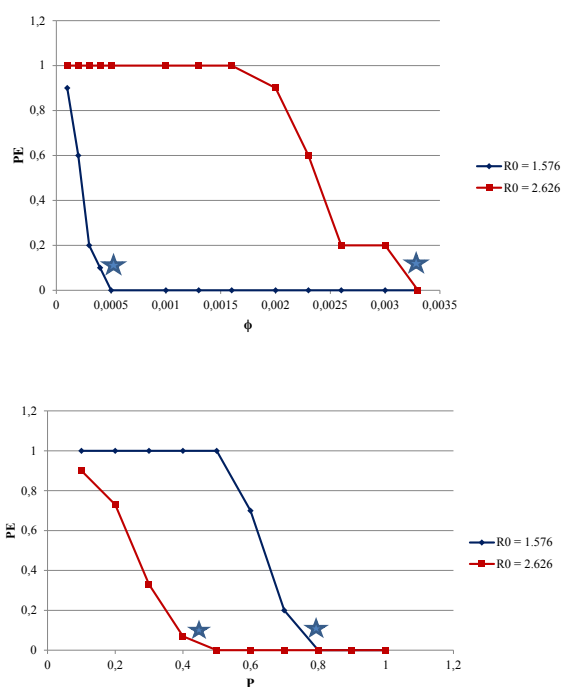


Figure 5. Probabilities of rabies epidemics (PE) as function of vaccination rates (φ) (top) and as a function of the proportion of vaccinated (P) (bottom) for two different values of R_0 . Stars indicates the position of the 95th percentile for eradication (φ^{*95} and P^{*95})

Discussion

The model discussed in this paper simulates the spread of rabies in canine populations using demographic parameters for the dog populations of Chile. However the results can be extrapolated to the wild component of Rabies represented mainly by wild foxes in natural environments.

Vaccination is the most effective mean to control rabies in all species (Morters et al. 2013). Urban control and prevention of rabies through dog vaccination campaigns has been relatively efficient although a significant number of cases in humans and animals are still reported. Reported human cases in Latin America have fallen from an average of 270.4 per year between 1980 and 1989 to 67.0 per year in 2000. Annual cases of canine rabies in Latin America have fallen from an average of 9187

between 1990 and 1994 to 1590 in 2000. Excepting for a human case transmitted by a bat in 1996 (Favi 2000) and one recent case transmitted by a dog bite in 2013 (MINSAL 2013), no other human or canine cases have been reported in Chile since 1972 (Acha & Szyfres 2003).

Our results suggest that constant vaccination of dog populations, at sufficiently high rates can maintain a disease-free population, requiring that urban dog population is sufficiently controlled by public health measures (such as Chile). However, other South American countries (such as Colombia, Ecuador, Peru, Venezuela, Paraguay, Guatemala, Mexico and the Caribbean) still reported tens of annual cases in 2000 and 111 human cases since 2010 (Vigilato et al. 2013).

Rabies in wild canines is much less controlled by public health systems and serves as a core reservoir for the maintenance of rabies, especially in places where there is contact between urban dog and wild fox populations (Acosta-Jamett et al. 2010). Disease control strategies initially looked to reduce or inhibit the reproduction of populations of wild canines, but now the use of vaccines is considered the most efficient mean of control (Fitzpatrick et al. 2012, Morters et al. 2013, Townsend et al. 2013, Zhang et al. 2011, Hanlon et al. 2002a,b). The first two methods affect the size of the rabies reservoir population but vaccination does not (Smith & Wilkinson 2003, Sterner & Smith 2006). Some European countries have implemented wild population vaccines. For example, the SAD-Bern vaccine was used to vaccinate foxes in Switzerland. SAD-B19 vaccine was distributed via 20 million baits in Germany, Belgium, France, Italy and Luxembourg, without causing the death of foxes or other animals in the area. France and Switzerland distributed 250,000 SAG-vaccine baits between 1989 and 1991 without causing secondary deaths (OPS/OMS 1994). The oral administration of SAG-2 was effective in skunks and raccoons in North America (Favi 2000) and another rabies vaccine was effective in bats (Aguilar-Setien et al. 2002). Canada and the United States have carried out major vaccination campaigns (Rosatte et al. 2001, Hanlon et al. 2002a, Sidwa et al. 2005, Slate et al. 2005). As a result of similar campaigns, a number of European countries remain free from rabies (Acha & Szyfres 2003, Freuling et al. 2013).

Our results show that both vaccination programmes, i) administered at constant rates (as

used in urban populations) and ii) mass vaccination campaigns can be similarly useful to prevent rabies outbreaks. In wild populations, where transmission is mainly via foxes and rabies is either present in a wild reservoir, one-off large scale vaccination campaigns could be particularly practical. However, mass vaccination campaigns should be repeated in several occasions to eliminate disease. For example, in Europe a median of 28 campaigns to achieve control and 17 for control of Rabies in foxes have been reported (Freuling et al. 2013).

The critical values found in our numerical simulations were lower than those proposed by the model of Anderson et al model: $P^* = 1 - 1/R_0$ and $\varphi^* = (a + \delta)(R_0 - 1)$ (Knobel et al. 2005) for $R_0 = 1.576$: the expected values were $P^* = 0.37$ and $\varphi^* = 0.00078$ and the estimated values from numerical simulations were $P^* = 0.26$ and $\varphi^* = 0.00023$. In contrast for $R_0 = 2.626$ the estimated values were very close to those expected: the expected values were $P^* = 0.62$ and $\varphi^* = 0.0022$ and the estimated values were $P^* = 0.65$; $\varphi^* = 0.0025$. A higher level of security was achieved when we considered the 95th percentile for eradication. That was obtained at 42% of coverage for $R_0 = 1.576$ and 75% for $R_0 = 2.626$. For dogs and wild reservoir R_0 between 1.05 and 1.72 (Hampson et al. 2009), $R_0 = 1.2$ in Bali (Townsend et al. 2013), $R_0 = 2$ in China (Zhang et al. 2011) and the highest value $R_0 = 2.334$ in the USA in 1948 (Coleman & Dye 1996, Uhaa et al. 1992) have been reported. With these values a 70% coverage was recommended by WHO in 2004 (Morters et al. 2013), consistent with values obtained for R_0 greater than 2, which in light of the recent literature reports are very improbable. Our value of 42% obtained for the realistic value $R_0 = 1.576$ can be compared with those obtained by Fitzpatrick et al (2012) in Serengeti and Ngorongoro, $R_0 = 1.18$ and $R_0 = 1.24$ respectively. These authors obtained 25% and 39% of coverage for 95th percentile of eradication, values that are similar to those obtained in our study.

Our sensitivity analysis showed that the two main positive parameters affecting R_0 were the birth rate (a) and the transmission coefficient (β) and the two negative parameters were the mortality rate (b) and the vaccination rate (φ), without considering the specific mortality of rabies that in this study was considered to be $\alpha = 100b$. These results suggest that an effective control strategy must include reducing the birth rate (a) and the contact rate in the reservoir and between the reservoir and humans (β) and also

vaccination campaigns (ϕ). Culling of dogs or of wild reservoir (b) have been proved to be inefficient because of the absence of correlation between R_0 and dog density (Morters et al. 2013). Among these relevant parameters, reducing birth rate and increasing reservoir immunity coverage have been reported recently as the main strategies of control in China (Zhang et al. 2011), agreeing with our results.

In summary, our results suggest i) that both strategies may be equally efficient to eradicate rabies epidemics, being constant rates of vaccination more applicable for dog population in cities and massive campaigns for wild reservoir; ii) that the 70% coverage proposed by WHO is considerably greater than the coverage necessary to interrupt the transmission chain for the R_0 values reported today (between 1 and 2) and iii) that birth rate (a), transmission coefficient (β) and reservoir immunity coverage (ϕ or P) are the key factors for rabies control.

Acknowledgments

We thank Lafayette Eaton for his useful comments on the manuscript. Funded by FONDECYT 1150514 grant to MC.

References

- Plotkin SA. Rabies. *Clin Infect Dis*. 2000; 30: 4-12.
- Favi M, Duran J. Epidemiología de la Rabia en Chile (1929-1988) y perspectivas en mamíferos silvestres. *Av. Cs. Vet*. 1991; 6: 13-21.
- Knobel DL, Cleaveland S, Coleman PG, Fevre EM, Meltzer MI, Miranda MEG, et al. Re-evaluating the burden of rabies in Africa and Asia. *WHO Bull* 2005; 83: 360-368.
- Vigilato MAN, Cosivi O, Knobl T, Clavijo A, Silva HMT. Rabies update for Latin America and the Caribbean. *Emerg Infect. Dis*. 2013; 19:4. Doi:10.3201/eid1904.121482.
- Smith J, Seidel H. (1993).- Rabies: A new look at an old disease. In: Melnick JL editor. *Program Medical Virology*. Basel, Karger. 1993. p. 82-106.
- Favi M, Bassaletti A, López J, Rodríguez L, Yung V. Descripción epidemiológica del reservorio de rabia en murciélagos de la Región Metropolitana. Chile. 2000-2009. *Rev Chil Infect*. 2011; 28: 223-228.
- Ribas M, Girón B, Monsalvez I, Morier L, Acosta G, Tejero Y, et al. Comparison of a modified shell vial cultura procedure with conventional mouse inoculation for rabies virus isolation. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2013; 108: 255-256.
- Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. OPS. *Publicación Científica y Técnica* 2003; 580: 351-382.
- Clark K. Rabies. *J Am Vet Med Assoc*. 1988; 192: 1404-1406.
- Batista-Morais N, Neilson-Rolim B, Matos-Chaves HH, de Brito-Neto J, Maria-da-Silva L. Rabies in Tamarins (*Callithrix jacchus*) in the state of Ceará, Brazil, a distinct viral variant? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2000; 95: 609-610.
- Duran JC, Favi M. Rabia en zorro gris (*Pseudoalopex griseus*) patagónico. Magallanes, Chile. *Av. Cs. Vet*. 1989; 4: 146-152.
- Soares RM, Bernardi F, Sakamoto FM, Heinemann MB, Cortez A, Alves LM, et al. A heminested polymerase chain reaction for the detection of Brazilian rabies isolates from vampire bats and herbivores. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2002; 97: 109-111.
- Aguilar-Setien A, Leon YC, Tesoro EC, Kretschmer A, Brochier RB, Pastoret PP. Vaccination of vampire bats using recombinant vaccinia-rabies virus. *J. Wildl. Dis*. 2002; 38: 539-544.
- Ernst S, Fabrega F. A time serie analysis of the rabies control programme in Chile. *Epidem. Inf*. 1989; 103: 651-657.
- Piza AT, Pieri KMS, Lusa GM, Caporale GMM, Terreran MT, Machado LA, et al. Effects of the contents and form of rabies glycoprotein on the potency of rabies vaccination in cattle. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; 97: 265-268.
- Rosatte R, Donovan D, Allan M, Howes LA, Silver A, Bennett K, et al. Emergency response to raccoon rabies introduction into Ontario. *J Wildl Dis*. 2001; 37: 265-279.
- Anderson RM, Jackson HC, May RM, Smith ADM. Population dynamics of fox rabies in Europe. *Nature* 1981; 289: 765-771.
- Scotti M, Cattán PE, Canals M. Proyecciones de rabia canina en Argentina, Bolivia y Paraguay, usando series de tiempo. *Arch Med Vet*. 1997; 29: 83-89.
- Baez G. Recomendaciones sobre estrategias y plan de acción para la eliminación de la Rabia urbana. OPS. *Publicación Científica* 1984; 476: 128-139.
- Favi M, Rodríguez L, Espinoza C, Yung V. Rabia en Chile

- 1989-2005. *Rev Chil Infectol.* 2008; 25: S8-S13.
- Laval E, Lepe P. Una visión histórica de la Rabia en Chile. *Rev. Chil. Infectol.* 2008; 25: S2-S7.
- MINSAL 2013; <http://web.minsal.cl/search/node/rabia>.
- Acosta-Jamett G, Cleaveland S, Cunningham AA, Bronsvort BM de C. Demography of domestic dogs in rural and urban areas of the Coquimbo region of Chile and implications for disease transmission. *Prev. Vet. Med.* 2010; 94: 272-281.
- Urcelay S, Di Silvestri F. Demografía en caninos y felinos de Chile y publicaciones extranjeras. *Monografías de Medicina Veterinaria* 1990: 12: 1-4.
- Fitzpatrick MC, Hampson K, Cleaveland S, Meyers LA, Townsend JP, Galvani AP. Potential for Rabies Control through Dog Vaccination in Wildlife-Abundant Communities of Tanzania. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6(8): doi:10.1371/journal.pntd.0001796.
- Morters MK, Restif O, Hampson K, Cleaveland S, Wood JLN, Conlan JK. Evidence-based control of canine rabies: a critical review of population density reduction. *J Anim Ecol.* 2013; 82: 6-14.
- Townsend SE, Sumantra IP, Pudjiatmoko Bagus GN, Brum E, Cleaveland S, Crafter S, et al. Designing Programs for Eliminating Canine Rabies from Islands: Bali, Indonesia as a Case Study *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7: e2372. doi:10.1371/journal.pntd.0002372
- Zhang J, Jin Z, Sun GQ, Zhou T, Ruan S. Analysis of Rabies in China: Transmission Dynamics and Control. *Plos One* 2011; 6: 220891e20891. doi:10.1371/journal.pone.0020891
- Panjeti VG, Real LA. Mathematical models for Rabies. *Advances in Virus Research* 2011; 79: 377-395.
- Canals M, Gonzalez C, Canals A, Figueroa D. Dinámica epidemiológica del Dengue en isla de Pascua. *Rev Chil Infectol.* 2012; 29: 388-394.
- Diekmann O, Heesterbeek JAP. *Mathematical epidemiology of infectious diseases: model building, analysis and interpretation.* New York: Wiley; 2000.
- Diekmann O, Heesterbeek JAP, Metz JAJ. On the definition and the computation of the basic reproduction ratio R_0 in models for infectious diseases. *J Math Biol.* 1990; 35: 503-522.
- Van Den Driessche P, Watmough J. Reproduction numbers and sub-threshold endemic equilibria for compartmental models of disease transmission. *Math. Biosci.* 2002; 180: 29-48.
- Heffernan JM, Smith RJ, Wahl LM. Perspectives on the basic reproductive ratio $J. R. Soc. Interface$ 2005; doi:10.1098/rsif.2005.0042
- Olsen L, Truty G, Schaffer W. Oscillations and chaos in epidemics: A non-linear study of six childhood diseases in Copenhagen, Denmark. *Theor Pop Biol.* 1988; 33: 344-370.
- Morales MA, Ibarra L. Fertilidad y mortalidad en la población canina del gran Santiago. *Arch. Med. Vet.* 1979; 1: 161-164.
- Chomel B, Chappuis F, Bullon F, Cardenas E, de Beublain TD, Lombard M, et al. Mass vaccination campaign against rabies: are dogs correctly protected? The Peruvian experience. *Rev. Inf. Dis.* 1988; 10: S697-S702.
- Shah NH, Gupta J. SEIR Model and Simulation for Vector Borne Diseases. *Appl. Math.* 2013; 4: 13-17.
- Canals M, Solís R. Desarrollo de cohortes y parámetros poblacionales de la araña del rincón *Loxosceles laeta*. *Rev. Chil. Infectol.* 2014; 31: 547-554.
- Favi M. Bat rabies in urban centers in Chile. *J Wildl Dis.* 200; 36: 231-240.
- Hanlon CA, Niezgodá M, Morrill P, Rupprecht C.E. Oral efficacy of an attenuated rabies virus vaccine in skunks and raccoons. *J Wildl Dis.* 2002a; 38: 420-427.
- Hanlon CA, Niezgodá M, Rupprecht CE. Postexposure prophylaxis for prevention of rabies in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 2002; 63: 1096-1100.
- Smith G.C. & Wilkinson D. Modeling control of rabies outbreaks in red fox populations to evaluate culling, vaccination, and vaccination combined with fertility control. *J. Wildl. Dis.* 2003; 39: 278-286.
- Sterner RT, Smith GC. Modelling wildlife rabies: transmission, economics and conservation. *Biol. Cons.* 2006; 131: 163-179.
- OPS/OMS. Vigilancia epidemiológica de rabia en las Américas. INPPAZ. 1994; 2: 1-6.
- MacInnes CD, Smith SM, Tinline RR, Ayers NR, Bachmann P, Ball DGA, et al. Elimination of rabies from red foxes in Eastern Ontario. *J. Wildl. Dis.* 2001; 37: 119-132.
- Sidwa TJ, Wilson PJ, Moore GM, Oertli EH, Hicks BN, Rohde RE et al. Evaluation of oral rabies vaccination

programs for control of rabies epizootics in coyotes and gray foxes: 1995–2003. *J Am Vet Med As.* 2005; 227: 785–792.

Slate D, Rupprecht CE, Rooney JA, Donovan D, Lein DH, Chipman RD. Status of oral rabies vaccination in wild carnivores in the United States. *Virus Res.* 2005; 111: 68–76.

Freuling CM, Hampson K, Selhorts T, Schroder R, Meslin FX, Mettenleiter TC, et al. The elimination of fox rabies from Europe: determinants of success and lessons for the future. *Phyl. Trans. Roy. Soc. B.* 2013; 368 <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2012.0142>.

Hampson K, Dushoff J, Cleaveland S, Haydon DT, Kaare M, Packer C et al., Transmission dynamics and prospects for the elimination of canine rabies. *Plos Biology* 2009; 7: 462-471.

Coleman PG, Dye C. Immunization coverage required to prevent outbreaks of dog rabies. *Vaccine* 1996; 14: 185–186.

Uhaa I, Mandel E, Whiteway R, Fishbein D. Rabies surveillance in the United States during 1990. *J Am Vet Med Assoc.* 1992; 200: 920-929.

Mosquitos: disease vectors in context of climate change in Chile.

FIGUEROA D.P.¹, SCOTT S.¹, HAMILTON-WEST C.², GONZÁLEZ C.R.^{3,4}, CANALS M.⁵

¹ Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

² Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile..

³ Instituto de Entomología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, Santiago, Chile.

⁴ Laboratorio de Entomología Médica, Instituto de Salud Pública de Chile.

⁵ Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Correpondencia:

mcanals@uchile.cl +56-2-29787232

danfigue@ug.uchile.cl +56-2-29787232

Summary

Mosquitoes are a remarkable group of epidemiological interest, for their large numbers and the number of diseases they transmit to humans and animals. There are studies in which climate change can affect mosquito populations, mediated by changes in temperature, rainfall, relative humidity and water level changes etc., and it has been suggested that climate change may affect their disease transmission to vertebrates. Changes in populations of Culicidae could be responsible for the emergence and re-emergence of diseases such as encephalitis, West Nile virus and dengue, considered today to be emerging vector-borne diseases in the world. This has become evident in Chile by the introduction of dengue in Easter Island due to travel in the Pacific islands, an expression of globalization. The effect of climate change on animal populations including vectors and reservoirs of zoonotic potential is now a latent issue that requires a great deal of interdisciplinary research.

Keywords: Mosquito, *Culex*, climate change, vector-borne diseases.

Introduction

Climate change is a global problem, with a potential impact on animal and public health. The average increase in atmospheric temperature near the Earth's surface and troposphere may contribute to changes in global weather patterns (Bernardi 2008). Recently, the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) estimated that this increase in global temperature is at least 0.8 °C above preindustrial levels and projected a further increase of 1.1 to 6.4 °C by the year 2100 (Meehl et al. 2007).

Despite scientific debate on climate change and its potential impact on diseases, there is a relationship between human and animal infections and global environment. Climate change has signified the enhancement of intensity of certain diseases, particularly those transmitted by blood-sucking vectors (Genchi et al. 2009). It is postulated that climate change can affect the behavior of blood-sucking vectors, and thus may alter the distribution and temporal patterns of diseases transmitted by bite of these vectors (Rogers & Randolph 2006).

Blood-sucking insect vectors are responsible for hundreds of millions of cases (Gubler 2009) of diseases in humans and animals each year. In last thirty years there has been a global resurgence of infectious diseases in humans and animals in general, and diseases transmitted by blood-sucking insect vectors in particular, with high transmission rates and expansions in geographical distribution. Most vector-borne diseases occur in the tropics, usually in areas where resources are quite limited and survival is poor. High mobility of animals and humans due to

air travel and trade (globalization) has made these diseases not a problem only of tropics; they present a large health problem for the world community and are a threat to economic security. This highlights the need for physicians and veterinarians in non-endemic areas to take into consideration the vector-borne diseases, to learn about where they occur, how to recognize and treat them (Gubler 2009).

The medical importance of mosquitoes around the world is known. They are vectors of many diseases, viruses, protozoa, filarias etc.; well-known and serious illnesses such as yellow fever, malaria and dengue are examples. Malaria and dengue were present in Chile but were eradicated (Atías 1998, Laval 2003). However, dengue reappeared on Easter Island causing an epidemic in 2002, although it had been considered likely that *Aedes aegypti* would appear in the north of Chile. This threat still exists; global change could lead to re-entry of *Aedes aegypti* and the increase and extension of populations of *Anopheles* sp. Climate change can dramatically alter the situation in coming years, with results such as the entry of viruses that have not been seen in Chile such as the West Nile virus and other encephalitis viruses whose vectors are mosquitoes of the genus *Culex*. In spite of this threat, Culicidae are one of least studied insect groups in Chile. The Ministry of Health and the Public Health Institute (ISP) monitored continuously some populations, but knowledge about the variation of relevant epidemiological parameters is insufficient. The aim of this paper is to review the main factors influencing diseases transmitted by blood-sucking insects, specifically by mosquitoes, and their relation to climate change.

Current status of problem

Global change

Global change refers to changes in the global environment that may alter the Earth's capacity to sustain life and human activities (GCRA 1990). This includes changes in climate, atmospheric chemistry, oceans and other aquatic resources, topography of the land surface, biological productivity and ecological systems, including the goods and services they provide (Burkett et al. 2011).

Major environmental changes are the depletion of stratospheric ozone layer, increasing world population, loss of biodiversity, land degradation worldwide, freshwater depletion and other changes such as disruption of elementary cycles of nitrogen and sulfur and global spread of persistent organic pollutants. All this has important implications for the sustainability of ecological systems, food production, human health and economic activity (McMichael 2003). Climate change is only one of a large set of long-term destabilizing environmental changes that are already in progress (McMichael 2003).

Global warming

Global warming is defined as an average increase in the temperature of atmosphere near the Earth's surface and in the troposphere, which can contribute to changes in global climate patterns (Bernardi 2008). Currently there is scientific consensus on four points: i) global warming is happening, ii) it is largely attributed to human emissions of greenhouse gases, iii) the effects are observable today, and iv) warming will continue to progress (Bernardi 2008). For the scientific community, the progressive increase in the temperature of the Earth is unequivocal. Eleven of the 12 years of the 1995-2006 period were among the warmest since 1850 according to instrumental records of global surface temperature. The consequences of this process have been documented; it is reflected in an accelerated melting of permanent snow cover and consequent increased mean sea level (IPCC 2007).

Since climate is an important component of many ecosystems, any great variation would affect other components, including microorganisms, insect vectors, animal reservoirs and susceptible humans, producing a change in the incidence and distribution

of numerous pathologies, mainly infectious ones (Cerda et al. 2008).

Climate change

For the IPCC, term "climate change" denotes a change in state of climate identifiable (for example, by statistical analysis) following a change in the mean and/or the variability of its properties that persists for an extended period, typically decades or longer periods. This refers to any change in climate over time, whether due to natural variability or as a consequence of human activity (IPCC 2007).

This meaning differs from that used in the United Nations Framework Convention on Climate Change (UNFCCC), which defined climate change as a change of climate which is attributed directly or indirectly to human activity that alters the composition of the global atmosphere and which is in addition to natural climate variability observed over comparable time periods (IPCC 2007).

Climate change is a global problem with potential impact on animal and public health, manifested in different ways in different parts of the world, from the tropics to temperate regions (Bernardi 2008). One of its manifestations is a global increase in the average ocean and air temperatures and rising of the average sea level, which have become the main problems affecting regional and global natural ecosystems (Pinto et al. 2008).

In the recently published IPCC (2014) indicates that without additional efforts of mitigation (for RCP8.5, scenario with very high greenhouse gas emissions), the emissions of greenhouse gases will continue to grow, and will cause an increase in global average surface temperature of 2.6 °C to 4.8 °C for the end of the 21st century. It will require strong reductions in greenhouse gas emissions to limit the global warming to 0.3°C to 1.7 °C (for RCP2.6, stringent mitigation scenario), which will pose a major challenge technological, economic, and institutional behavior. Global mean sea level rise will continue during the 21st century, very likely at a faster rate than observed from 1971 to 2010. The rise will likely be in the ranges of 0.26 to 0.55 m for RCP2.6, and of 0.45 to 0.82 m for RCP8.5 (IPCC 2014). Other current and projected manifestations include contraction of the surface covered by permanent snow, ocean acidification, increased extreme events, increased heat waves, heavy precipitation at high

latitudes, increasing intensity of tropical cyclones, poleward shift of extra-tropical storms and less rainfall in dry regions at mid-latitudes and in the tropics. Many semi-arid areas will also experience a decrease in their water resources, producing vast droughts (Meehl et al. 2007).

Influence of climatic condition on blood-sucking insect vectors

Much of the impact of climate on vector-borne diseases can be explained by the fact that the insect vectors of these diseases are poikilothermic and therefore are subject to the fluctuating effects of temperature on development, reproduction, behavior, and population dynamics (Shope 1991, Gage et al. 2008). Although arthropods can regulate their internal temperature by changing their behavior, they cannot do so physiologically and therefore are totally dependent on the climate for their survival and development (Lindsay & Birley 1996). Both the infectious agent (protozoa, bacteria, virus) and the associated vector organism (mosquito) have minimal thermoregulatory physiological mechanisms and thus both their temperature and fluid levels are determined by behavioral plasticity (behavioral thermoregulation) and local climate (ectothermic organisms). Therefore there is a limited range of climatic conditions in which infectious and vector species can survive and reproduce. Climate is thus one of the factors that influence the incidence of infectious diseases, although there are other social and demographic components: migration and transport, drug resistance, nutrition, deforestation, agricultural development, etc. (Hales et al. 2003). Among the climatic aspects that most affect blood-sucking vector populations are the following:

Temperature: Changes in temperature can modify the incidence and prevalence of these vector-borne diseases, for example by modifying bite rates, vector population dynamics and human contact rates (Gubler et al. 2001). Temperature also can change the length of the season in which this transmission occurs. These vectors can adapt to changes in temperature by changing their geographic distributions, and there is evidence that some have produced genetic adaptation to increasing temperatures (Patz et al. 2003). Increase in temperature also causes a decrease in generation time, longevity and life expectancy and

increases the growth rate of vector populations, as well as decreasing the extrinsic incubation period and increasing the length of the pathogen transmission period (Patz et al. 2003).

Precipitation: Increased rainfall may promote development of favorable habitats for insect vectors (larval habitats or feeding) (Patz et al. 2003), thus favoring population growth (Gubler et al. 2001). Seasonality and amount of precipitation in an area can also affect strongly the availability of mosquito breeding sites; climatic variables can affect the distribution and abundance of vertebrate host species, which may in turn affect the population dynamics of the vector and transmission of its disease (Gage et al. 2008). A greater amount of rainfall may produce a greater abundance of food and may imply that the populations of vectors and vertebrate hosts increase and disperse, causing a decrease in host-vector interactions. On the other hand, floods can have the opposite effect, reducing vector populations (Gubler et al. 2001, Patz et al. 2003); excessive rainfall can have catastrophic effects on a local population of vectors by constant washing of soil by flooding (Epstein 2004).

Humidity: Higher humidity can increase mosquito survival (Gubler et al. 2001). A decrease in humidity can adversely affect mosquitoes since they desiccate easily; survival rates decrease in dry conditions (Patz et al. 2003). But in other geographical areas, drought can turn rivers into a succession of ponds favorable to vector reproduction; therefore, opportunistic vectors reproduction can create epidemic conditions (Meléndez-Herrada et al. 2008).

Climate change may cause changes in the geographical distribution of these vectors; some places may cease to be endemic areas while areas that were not endemic may be able to harbor these vectors, thus new human populations would be exposed to the diseases they transmit (Rogers & Randolph 2009, Haines et al. 2006). Extreme weather events can create conditions that lead to outbreaks of infectious diseases; an example is the heavy rains that leave adequate sites for mosquito breeding (Haines et al. 2006), increasing their population and the probability of human contact. Insects tend to be more active at warmer temperatures and there is scientific evidence to suggest that due to climate change, infectious diseases have already been introduced in geographical areas not previously affected (Shuman 2010).

Mosquitoes

The main group of insect vectors of pathogens to man are Diptera, and within this taxon the family Culicidae (Foster & Walker 2002). Mosquitoes belong to the suborder Lower Brachycera which is composed of 37 families, one of which is the Culicidae. Mosquitoes are divided into 2 subfamilies (Anophelinae and Culicinae) and 44 genera, the most common are *Anopheles*, *Culex*, *Aedes*, *Ochlerotatus*, *Sabethes*, *Mansonia*, *Culiseta*, *Psorophora*, *Wyeomyia*, *Coquillettidia*, *Haemagogus* and *Armigaeres* (Harbach 2007). They are found throughout the world except Antarctica. They develop in an extremely wide range of biotic conditions: Arctic tundra, boreal forest, high mountains, plains, deserts, tropical forests and oceanic coasts (Foster & Walker 2002, Lehane 2005).

Mosquito species such as *Anopheles gambiae*, *Anopheles funestus*, *Anopheles darlingi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* are responsible for the transmission of serious parasitic diseases (Rueda et al. 1990); for example, *Anopheles* are transmitters of the malaria; *Aedes aegypti* is a transmitter of yellow fever, Chikungunya and the main vector of dengue. In America vectors are associated with viruses such as the West Nile virus and Venezuelan equine encephalitis virus (primarily *Culex* spp.), Eastern equine encephalitis (*Culiseta*, *Ochlerotatus*, *Culex* and *Coquillettidia* spp.) and Western equine encephalitis (*Ochlerotatus* and *Culex* spp.) (Lehane 2005).

In Chile 14 species of mosquitoes have been described: *Aedes (Stegomyia) aegypti*, *Ochlerotatus albifasciatus*, *Anopheles pseudopunctipennis*, *Anopheles pictipennis*, *Anopheles atacamensis*, *Culex acharistus*, *Culex annuliventris*, *Culex apicinus*, *Culex articularis*, *Culex curvibrachius*, *Culex dolosus*, *Culex plicatus*, *Culex pipiens* and *Culex quinquefasciatus*. Their distribution includes almost all the national territory except Chilean Antarctic, including Easter Island in the case of *Aedes aegypti* (González & MacLean 2008, González & Sallum 2010).

Culex is a cosmopolitan genus of mosquitoes (Harbach 2011); it is the most common genus in Chile. Several mosquito species have specific larval habitat requirements (Lehane 2005); for example, *Culex pipiens* exploits a variety of breeding sites, often artificial containers and small or medium-sized pools of stagnant water. The presence of immature stages has been linked to shaded environments and

contaminated water with high organic matter content (Fischer & Schweigmann 2004). In contrast, *Culex dolosus* breeds in temporary and permanent ponds with aquatic plants, grass or no vegetation in urban areas; this species is mainly associated with clean uncontaminated water (Fischer & Schweigmann 2004). Male mosquitoes usually do not disperse more than 100 meters from the larval site, however females travel farther to find food and new larval sites to colonize. It is likely that under tropical field conditions male mosquitoes live for about seven to ten days and females more than one month. Females live two or more months in temperate regions, and adults who hibernate survive up to eight months (Lehane 2005).

Adult mosquitoes are small (usually about 5 mm long), delicate, with slender bodies, long and elongated legs projecting towards the mouthparts. At rest, mosquitoes keep their single pair of wings on the abdomen like a closed pair of scissors. In most Anophelines wings have a mottled appearance due to alternating blocks of dark and light scales, unlike most culicines not have such distinctive marks on the wings (Lehane 2005). These traits are important to determine, to differentiate species and detect the possible introduction of new populations of disease-carrying mosquitoes in previously unaffected areas.

Parasites isolated from adult mosquitoes are of three types: conidia of the form-class Hyphomycetes and nematodes of the families Onchocercidae and Mermithidae (Maciá et al. 1997). Parasites isolated from *Culex* larvae have been: *Geotrichum candidum* (Fungi: form-class Hyphomycetes), *Smittium morbosum* var. *Rioplattenses* (Fungi: Trichomycetes), *Coelomomyces* sp, *Achlya* sp. (Chromista: Pythiistea), *Amblyospora dolosi* (Archeozoa: Microsporida) and *Strelkovimermis spiculatus* (Nematoda: Mermithidae).

Factors affecting mosquito borne-diseases

The discovery of some diseases transmitted to humans by an invertebrate vector is relatively recent, in the last decades of the 19th century. Most of these diseases are caused by viruses, bacteria, protozoa, and filarial worms which are transmitted by a vector insect competent to vertebrate hosts (Romi 2010).

Mosquitoes transmit many of the most debilitating diseases in humans, including malaria,

sleeping sickness, filariasis, leishmaniasis, dengue and encephalitis, for example. Furthermore, these insects cause major economic losses in agriculture by direct damage to livestock or as a result of veterinary diseases, such as different trypanosomiasis (Lehane 2005). The factors that influence disease transmission by mosquito vectors are survival, reproductive rate, bite rate, the time of year and level of vector activity, and rate of development and reproduction of the pathogen within the vector (OSMAN 2012).

The mosquito-borne pathogens are particularly sensitive to climate, and it has been reported that anthropogenic climate change may increase the incidence and intensity of their transmission, and it can alter the common patterns of transmission of diseases transmitted by these vector insects (Khasnis & Nettleman 2005, Greer et al. 2008, EASAC 2010). Temperature can affect the development of pathogens within vectors (Epstein 2004) and interact with humidity, influencing vector survival and thus mosquito vectorial capacity. It has been postulated that extreme temperatures are often lethal for the survival of mosquito pathogens, but an increase in temperature can have several effects; if the vector lives in an environment where the average temperature is at the limit of physiological tolerance of a pathogen, a small increase could be lethal. But if vector lives in an environment where the average temperature is low, a small increase may result in an increase in the development, incubation and replication of pathogen (Lindsay & Birley 1996). Pathogen survival outside its host (mosquito) depends on the characteristics of its particular environment, including exposure to sunlight, salinity and pH. Therefore, climatic variations may result in an increase or decrease in the incidence of mosquito-borne diseases (Meléndez-Herrada et al. 2008).

Other climatic factors that may affect the transmission of infectious vector diseases are ambient humidity, alteration of precipitation patterns, soil humidity and sea level. It is complex to determine which of these factors have greater importance in the risk of mosquito-borne diseases, because in addition to climatic factors, incidence and geographical distribution of these diseases is influenced by social and demographic factors (Semenza & Menne 2009).

Situation in Chile

The projections for Chile based on new scenarios: RCP8.5 and RCP2.6 was obtained for two periods: 2011-2030 and 2031-2050, based on the historical baseline 1961-1990. Temperature rise across the country, with a gradient from high to low, from north to south and from Cordillera to Ocean it is projected. Notably, the average warming in Chile is less than the global average warming. Between 2011 and 2030, increases in temperature range from 0.5 °C to south and 1.5 °C for Large North and high Andean plateau. For the period between 2031 and 2050, the warming trend continues, but with higher values. The RCP8.5 scenario projects higher concentrations of CO₂, with increasing temperature reaches 2 °C. The RCP2.6 scenario, which involves strong climate mitigation policies, slows the rise in temperature to a global average of 2 °C. It is expected that further warming is verified on the Large North and height, on the Andes Mountains.

Between 2011 and 2030, projected decreases in rainfall between 5 and 15% to latitude 27 °S to 45 °S, that is, from the Copiapo River basin and Aysen River basin. To the South, between 38 °S and 42 °S, approximately Biobio river basin and the southern boundary of the region of Los Lagos, the decrease in precipitation signal is more robust, i.e., exists coincidence between the results of several models that project this decline. No other significant changes were projected onto the rest of the territory. For the period 2031-2050, it remains and intensifies the decrease in rainfall. It is noted that the area between 35 °S and 45 °S, approximately Mataquito River basin and the Aysen River, shows a fairly strong signal of reduced rainfall. In the region of Magallanes, the models simulate an increase in rainfall, with very little variation. The provision and quality of drinking water for the population.

In relation to extreme weather events, it was found a marked increase in the probability of drought events, especially from the second half of this century. 70% of the models projected that by the end of the century, such events occur more than 10 times in 30 years. Moreover, although the number of extreme precipitation events tend to decrease in much of the country, the occurrence of events of high rainfall on days with high temperatures increases relative to the base situation. This has important implications, because the increase of the

height of the zero isotherm, during the calls warm storms, has the effect of substantially increasing the flow of rivers. This generates major disasters due to floods, landslides and alluviums. These events can cause the loss of human lives and negatively impact the provision and quality of drinking water for the population. These same events also generate serious impacts on irrigation infrastructure and affect water quality, due to the drag of materials, which can alter the chemical and organoleptic composition of water, as also affect irrigation works (PANCC, 2014).

Most of the agricultural regions of the country (Atacama to Los Lagos) will suffer aridity as a result of rainfall decline together with the trend to increasing temperature; in addition to these primary modifications, it is possible that other secondary characteristics may be modified such as wind patterns, cloud cover and frequency of critical events in relation to extreme temperatures. This condition could displace the current climate zones southward (AGRIMED 2008).

Decrease in rainfall in southern Chile, southeastern Argentina and southern Peru has contributed to water scarcity. The projected average warming to South America for the end of this century could affect biodiversity through increasing the risk of species extinction by replacement of tropical forest by savanna in eastern region of the Amazon, causing changes in the habitat of insect vectors (Meehl et al. 2007, Pinto et al. 2008).

The response of insect vectors to climatic change has been poorly studied in Chile (Pino et al. 2015). In Chile malaria was endemic in the North, between parallels 18° and 21° S, however, it was eradicated in the antimalaria campaign between 1937 and 1945 (Atías 1998). The existence of dengue in Chile was reported prior to 1889, although *Aedes aegypti* was eradicated from continental Chile in 1915 (Laval 2003). However, *Aedes aegypti* and dengue reappeared, not where it was expected, but instead on Easter Island in 2002 (Olea 2003). For this reason, mosquitoes of genera *Culex*, *Anopheles* and *Aedes*, must be under permanent surveillance, the first as possible vectors and the second as proven vectors of infectious diseases of known gravity.

Dengue as a paradigmatic example

Dengue is a disease caused by an arbovirus of family Flaviviridae, transmitted by bite of certain mosquito

species of the genus *Aedes* (*Stegomyia*), mainly *Aedes aegypti*, *A. albopictus* and *A. ochlerotatus*; currently at least 22 vector species are recognized in different biogeographic regions (González & Mac-Lean 2008, Acha & Szifres 2003). The virus has four serotypes, DENV-1 to DENV-4, associated with two main medical profiles: classic dengue, mainly associated with DENV-1, and dengue hemorrhagic fever (DHF) associated with other serotypes (Valero et al. 2007). Although classic dengue is a benign medical profile, DHF can reach mortalities ranging between 1 and 5% (Labraña 2011).

Dengue is the mosquito-borne disease which causes the greatest morbidity and mortality in the world (Martínez-Vega et al. 2006) and one of the most frequent causes of hospitalization in endemic areas; it is the tenth cause of death due to infection in the world. It affects tropical and subtropical countries of Asia, Pacific Islands, Caribbean Islands, Mexico, Africa and Central and South America (Seijo 2001). It is somewhat more frequent in women and in endemic areas the most affected group is that of age 13-14 years (Acha & Szifres 2003).

It is estimated that there are 2.5 billion people at risk, with 50 - 100 million cases annually of dengue fever and 250-500 thousand cases of DHF with about 30 000 deaths (Seijo 2001). Today it is considered an emerging infectious disease and a global health problem (Acha & Szifres 2003) which has significantly increased its range and number of cases (Valero et al. 2007, Martínez-Vega et al. 2006, Rojas et al. 2007), especially in America in Brazil, Colombia, Cuba, Ecuador, Peru, Paraguay, Venezuela, Colombia and Bolivia (Martínez-Vega et al. 2006); this has been attributed to population growth, unplanned urbanization, inadequate water supply, difficulties in collecting solid waste and increased travel (Valero et al. 2007). This adds to difficulties in managing populations of *Aedes* sp., whose eggs, which can be transported in practically anything remain viable for months; also their immature stages develop in small water bodies, containers, cans, barrels, tires, vases etc. (González & Mac-Lean 2008). However, the effect of climate on their vectors and pathogens cannot be ignored, therefore it is important to take into account the history and changes in distribution of this disease in world. For example, climate change may be a limiting factor in epidemics by appearance of more cold weather. *Aedes aegypti* dies quickly in freezing temperatures; 62% of adults die

when exposed to 0 °C for 1 hour and most larvae die when the average weekly temperature of the soil drops to 8.8 °C (Shope 1991). On the other hand, development of a mosquito larva is faster in warmer climates, which will become an adult transmitter earlier. The extrinsic incubation period of the dengue virus is also temperature dependent. Within a wide temperature range, warmer ambient temperature reduces the incubation period from the moment when mosquito ingests infected blood until it is able to transmit the virus by a bite. The implication of climate change from point of view of rising temperatures not only would be an increase in distribution and acceleration of the metamorphosis of the insect; the extrinsic incubation period of the dengue virus would be shortened and therefore its cycle within the mosquito would be faster. And a faster cycle would increase the speed of spread of epidemic (Shope 1991).

In continental Chile there were populations of *Aedes aegypti* whose latest reports date back to 1961 (Laval 2003). Until 1953, in continental Chile the domiciliary infestation was from sea level to 1320 m in the oasis of Pica (69°18'W / 20°28'S) and from Arica to Caldera (71°00'W / 27°15'S) reaching a maximum of 45.2% domiciliary infestation in Taltal (Neghme 1950, Neghme et al. 1953). There were reports of dengue cases (classic dengue apparently) in Iquique in 1889 (Laval 2003). Until 1999 recurrence of the vector and disease had not been detected. However unexpectedly, since the main concern was the north of Chile, in 2000 populations of *Aedes aegypti* were detected in Easter Island (Olea 2003). On March 13, 2002 the first case of indigenous dengue was confirmed that surely originated from infected travelers, because the virus was circulating in Tahiti and Hawaii in 2001 and the nucleotide sequence is closely related to genotype DENV-1 of the Pacific (Olea 2003, Labraña 2011, Cáceres et al. 2008). In 15 weeks 636 confirmed cases were reported, (17% of the population), producing the classical medical profile and corresponding to the DENV-1 serotype in 100% of the cases (Labraña 2011). Dengue reappeared in 2006, 2007, 2008, 2009 and 2011 with 3, 27, 25, 25, and 1 cases, respectively. Mathematical models predict future outbreaks of decreasing size, but caution that the main danger lies in DHF epidemics resulting from the introduction of other serotypes (Canals et al. 2012).

Concluding remarks

Climate strongly affects agriculture and livestock production, and also influences animal diseases, vectors, pathogens and their habitats. It is likely that the global warming trend, predicted in South America in the IPCC2007 report will modify the temporal and geographic distribution of infectious diseases, including mosquito-borne diseases such as West Nile fever (Pinto et al. 2008), malaria and dengue. Factors involved in disease spreading are highly complex and the consequences for human health are difficult to predict, but it is assumed that climate change will exacerbate diseases transmitted by blood-sucking insects (DG 2011). The answer to the question of which of these factors may have greater effect on the risk of these diseases cannot be determined clearly, since demographic and social factors of human populations must be included (Semenza & Menne 2009).

The geographical distribution of mosquito populations is related to temperature patterns, precipitation and humidity. Increased temperature speeds up the metabolic rate of mosquitoes, increasing spawning and feeding frequencies (Epstein 2004) as well as increasing the population growth rate; however, it has a detrimental effect on longevity and life expectancy. Increasing feeding frequency causes a greater likelihood of acquiring and transmitting diseases, increasing the temperature would decrease the extrinsic incubation period of pathogens within the mosquito which would live a short time, because their life expectancy is shortened (Patz et al. 2003).

However, the effect of precipitation on vector metabolic behavior is difficult to predict. Rainfall has an indirect effect on vector longevity; humidity creates a series of favorable habitats, increasing the geographical distribution of mosquitoes with seasonal abundance, and may also have short and long-term effects on their habitats by creating new breeding sites. Increased rainfall and vegetation density can increase the number and quality of breeding places of mosquitoes, affecting the availability of resting sites, shelter (Githeko et al. 2000) and feeding (Patz et al. 2003), but host-vector interactions decrease due to greater dispersion (Gubler et al. 2001). This is debatable, since excessive rainfall causing floods can have a lethal effect on mosquitoes (Epstein 2004, Paaijmans et al. 2007) and larval survival, and preclude the colonization

of new breeding sites. Moreover, there are cycles of some mosquito-borne diseases of the genus *Culex*, such as the West Nile virus or St. Louis encephalitis virus which require dry periods and heavy rainfall to multiply (Tabachnick 2010).

The effect of climate change and global warming are potentially important for the dynamics of disease vectors; however it is unclear exactly how mosquitoes will respond under changing climate conditions, due to complex relationships between mosquito life cycles and climate (Morin & Comrie 2010).

The increased incidence of mosquito-borne diseases is more easily detected in areas close to the geographical limits of their distribution (Tirado 2010). Several of these diseases occur in countries bordering Chile but have not yet invaded it, such as malaria and dengue in Peru, Bolivia and Argentina (Canals et al. 2012), which produces an imminent risk of the entrance of these diseases into Chile. A shocking projection is that if there is an increase in global temperatures of 2-3 °C, the population at risk for malaria will increase between 3-5%, which means there will be millions of new infections each year (Shuman 2010). The estimates according to research conducted by the University of Chile predicted an increase between 2 and 4 °C in severe scenario emissions (CONAMA 2006), which could cause a change in the distribution of vectors.

Knowledge of how climate and weather can influence the mosquito vectors of disease at multiple time scales is vital to mitigate and adapt to impacts of climate change on disease (Morin & Comrie 2010), since knowing their phenology and bioclimatology in different seasons will allow the creation and establishment of potential strategies for the control of larvae or adults of transmitter mosquitoes of emerging and reemerging disease in Chile. Each species of vector mosquito requires specific climatic conditions to be sufficiently abundant and perpetuate itself over time, which is why any climate variation will cause an effect on the vectors. Climatic variations may affect reproduction, development, population dynamics and behavior of mosquitoes, such as their ability to transmit infectious agents. For example, if warmer and wetter conditions facilitate mosquito multiplication, they will also increase the spread of diseases transmitted by this type of vector.

In general, scientists agree that climate change will impact mosquito-borne diseases, yet these effects are uncertain due to complex interactions

between climatic factors and phenology of each disease-transmitting mosquitoes. The frequency of emerging and re-emerging diseases has accelerated in recent times as a result of factors that allow rapid multiplication and spread of infectious agents. An example of these factors is that of temperature on mosquitoes; its increase shortens the life cycle, increases foraging frequency and allows favorable replication of pathogen it harbors. Coupled with an increase in rainfall which increases the number of breeding sites, it causes a decrease in transmission times by increasing the chances of human exposure to mosquito-borne diseases. For this reason, due to projections of different scenarios of climate change in Chile, it is essential to monitor mosquito populations, determine bioclimatic parameters and estimate epidemiological parameters of importance in the transmission of their diseases, and with these resources perform studies of potential changes as a result of climate change.

Support for evidence-based implementation, monitoring and information systems is essential in order to be better able to detect infections and improve control measures, effectively reducing cases of mosquito-borne diseases. Development of more accurate and adjusted models (with better spatial resolution) of future climate variability in Chile in different scenarios and surveillance models is vital to predict or detect outbreaks of disease and to act as an early warning system. Because emerging and re-emerging diseases (for example, dengue) generally have high mortality, they need to be identified quickly and be a source of local and international reporting, to develop preventive and therapeutic measures as quickly as possible, strengthening health systems to cope with the expected changes.

Acknowledgments

This work was funded by the CONICYT PhD grant. I gratefully acknowledge the valuable assistance of Professor Sonia Pérez and aid in translation of Bch. Daniel Lamas.

References

Acha P, Szifres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Vol II. Dengue. Publicación científica y técnica OPS. 2003; 580: 66-71.

- AGRIMED. Análisis de Vulnerabilidad del Sector Silvoagropecuario, Recursos Hídricos y Edáficos de Chile frente a Escenarios de Cambio Climático. Capítulo I - Estudio Final. Impactos Productivos en el Sector Silvoagropecuario de Chile frente a escenarios de Cambio Climático. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Sanitago, Chile: Centro de Agricultura y Medio Ambiente. 2008; p. 1-181.
- Atías A. Parasitología clínica. In: Atías A, editor. Parasitología clínica. Tercera edición. Santiago, Chile: Publicaciones Técnicas Mediterráneo. 1998; p. 1-618.
- Bernardi M. Global climate change-a feasibility perspective of its effect on human health at a local scale. *Geospat Health*. 2008; 2(2): 137-50.
- Burkett V, Taylor I, Belnap J, Cronin T, Dettinger M, Frazier E, et al. Public review draft-USGS global change science strategy: a framework for understanding and responding to climate and land-use change. U.S. Geological Survey [Openfile report] 2011; 1033: [about 32p.]. Available from <http://pubs.usgs.gov/of/2011/1033/>
- Cáceres C, Yung V, Araya P, Tognarelli J, Villagra E, Vera L, et al. Complete nucleotide sequence analysis of a Dengue-1 virus isolated on Easter Island, Chile. *Arch Virol*. 2008; 153(10): 1967-70.
- Osman 2012, Cambio climático II: fauna y vectores. Junta de Andalucía. Unión Europea, fondo europeo de desarrollo regional. OSMAN, observatorio de salud y medio ambiente de Andalucía. 2012; p. 1-24.
- Canals M, González CR, Canals A, Figueroa DP. Dinámica epidemiológica del dengue en Isla de Pascua. *Rev Chil de Infect*. 2012; 29(4): 388-94.
- Cerda J, Valdivia G, Valenzuela MT, Venegas J. Cambio climático y enfermedades infecciosas: Un nuevo escenario epidemiológico. *Rev chil infectol*. 2008; 25: 447-52.
- CONAMA. Estudio de la variabilidad climática en Chile para el siglo XXI. Informe final. Texto. Realizado por el Departamento de Geofísica, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile. Santiago, Chile: Comisión Nacional del Medio Ambiente. 2006; p. 1-63.
- DG Environment. Biodiversity and health. Future brief. Science for Environment Policy [serial on the internet]. 2011; (2): [about 7p.]. Available from <http://ec.europa.eu/environment/integration/research/newsalert/pdf/FB2.pdf>
- EASAC. Climate change and infectious diseases in Europe. London, England: European Academies Science Advisory Council, EASAC. 2010; p.1-16.
- Epstein PR. Climate Change and Public Health: Emerging Infectious Diseases. *Encyclopedia of Energy*. 2004; 1: 381-92.
- Fischer S, Schweigmann N. *Culex* mosquitoes in temporary urban rain pools: seasonal dynamics and relation to environmental variables. *J Vector Ecol*. 2004; 29(2): 365-73.
- Foster WA, Walker ED. Mosquitoes (Culicidae). In: Mullen GR, Durden LA, editors. *Med Vet Entomol*. USA: Elsevier Science. 2002; p. 202-61.
- Gage KL, Burkot TR, Eisen RJ, Hayes EB. Climate and vectorborne diseases. *Am J Prev Med*. 2008; 35: 436-50.
- GCRA 1990. U.S. Global Change Research Act of 1990. Public Law. Available from <http://www.gcra.org/gcra1990.html>
- Genchi C, Rinaldi L, Mortarino M, Genchi M, Cringoli G. Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Vet Parasitol*. 2009; 163(4):286-92.
- Githeko AK, Lindsay SW, Confalonieri UE, Patz JA. Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. *Bull World Health Organ*. 2000; 78(9): 1136-47.
- González CR, Mac-Lean M. Diptera. In: Canals M, Cattán P, editors. *Zoología médica II Invertebrados*. Santiago, Chile. Editorial Universitaria. 2008; p. 299-352.
- González CR, Sallum MA. *Anopheles (Nyssorhynchus) atacamensis* (Diptera: Culicidae), a new species from Northern Chile. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2010; 105(1): 13-24.
- Greer A, Ng V, Fisman D. Climate change and infectious diseases in North America: the road ahead. *CMAJ*. 2008; 178: 715-22.
- Gubler DJ, Reiter P, Ebi KL, Yap W, Nasci R, Patz JA. Climate variability and change in the United States: potential impacts on vector- and rodent-borne diseases. *Environ Health Perspect*. 2001; 109(2): 223-33.
- Gubler DJ. Vector-borne diseases. *Rev Sci Tech*. 2009; 28: 583-8.
- Haines A, Kovats RS, Campbell-Lendrum D, Corvalán C. Climate change and human health: impacts, vulnerability and public health. *Public Health*. 2006; 120(7): 585-96.

- Hales S, Edwards SJ, Kovats RS. Impacts on health of climate extremes. In: McMichael AJ, Campbell-Lendrum DH, Corvalan CF, Ebi KL, Githeko AK, Scheraga JD, et al, editors. Climate change and human health. Risk and responses. WHO. Geneva: World Health Organization. 2003; p. 70-102.
- Harbach RE. The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa*. 2007; 1668:591-638
- Harbach RE. Classification within the cosmopolitan genus *Culex* (Diptera: Culicidae): the foundation for molecular systematics and phylogenetics research. *Acta Tropica*. 2011; 120:1-14.
- IPCC. 2007. Climate Change: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Pachauri RK, Reisinger A, editors. Geneva, Switzerland: IPCC 2007; p. 1-104.
- IPCC. 2014: Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (editors)]. Geneva, Switzerland, IPCC 2014; p. 1-151.
- Khasnis AA, Nettleman MD. Global warming and disease. *Arch Med Res*. 2005; 36(6): 689-96.
- Labraña M, editor. Dengue [monograph on the Internet]. Santiago: Ministerio de Salud de Chile, MINSAL. 2011. Available from <http://epi.minsal.cl/epi/html/enfer/PrevDengueWeb.pdf>.
- Laval E. ¿Hubo dengue autóctono en Chile?. *Rev Chil Infect* (Special anniversary Edition). 2003; 98-9.
- Lehane MJ. The blood-sucking insect groups. In: Lehane MJ, editor. The biology of blood-sucking insects. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 2005; p. 202-58.
- Lindsay SW, Birley M. Climate change and malaria transmission. *Ann Trop Med Parasitol*. 1996; 90(6): 573-88.
- Maciá A, García JJ, Campos RE. Seasonal variation of three *Culex* species (Diptera: Culicidae) and its parasites and pathogens in Punta Lara, Buenos Aires, Argentina. *Rev Biol Trop*. 1997; 44-45: 267-75.
- Martínez-Vega RA, Díaz-Quijano FA, Villar-Centeno LA. Dificultad para el diagnóstico clínico temprano del dengue en un área endémica y su impacto sobre el manejo médico inicial. *Rev Med Chile*. 2006; 134: 1153-60.
- McMichael AJ. Global climate change and health: an old story writ large. In: McMichael AJ, Campbell-Lendrum DH, Corvalan CF, Ebi KL, Githeko AK, Scheraga JD, et al, editors. Climate change and human health. Risk and responses. WHO. Geneva: World Health Organization. 2003; p. 1-17.
- Meehl GA, Stocker TF, Collins WD, Friedlingstein P, Gaye AT, Gregory JM, et al. Global Climate Projections. In: Solomon S, et al. editors. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York: IPCC 2007; p. 747-846.
- Meléndez-Herrada E, Ramírez M, Sánchez B, Cravioto A. Cambio climático y sus consecuencias en las enfermedades infecciosas. *Rev Fac Med UNAM*. 2008; 51: 205-8.
- Morin CW, Comrie AC. Modeled response of the West Nile virus vector *Culex quinquefasciatus* to changing climate using the dynamic mosquito simulation model. *Int J Biometeorol*. 2010; 54: 517-29.
- Neghme A, Albi H, Gutiérrez J. Campaña de erradicación del *Aedes aegypti* en Chile. *Bol Oficina Sanit Panam*. 1953; 34(3): 205-20.
- Neghme A. Control del *A. aegypti* en Chile. *Bol Oficina Sanit Panam*. 1950; 389-96.
- Olea P. Primer caso de dengue autóctono atendido en el hospital de enfermedades infecciosas Dr. Lucio Córdova. *Rev Chil Infect*. 2003; 20: 129-32.
- Paaijmans KP, Wandago MO, Githeko AK, Takken W. Unexpected high losses of *Anopheles gambiae* larvae due to rainfall. *PLoS One*. 2007; 2(11): e1146.
- PANCC. 2014. Plan de Nacional de Adaptación al Cambio Climático. Oficina de Cambio Climático. Ministerio del Medio Ambiente. Santiago, Chile. 2014. P. 1-56.
- Patz JA, Githeko AK, McCarty JP, Hussein S, Confalonieri U, de Wet N. Climate change and infectious diseases. In: McMichael AJ, Campbell-Lendrum DH, Corvalan CF, Ebi KL, Githeko AK, Scheraga JD, et al, editors. Climate change and human health. Risk and responses. WHO. Geneva: World Health Organization. 2003; p. 103-32.
- Pino P, Iglesias V, Garreaud R, Cortés, S, Canals M, Folch W et al. Chile confronts its environmental health future after 25 years of accelerated growth. *Annals of Global Health*. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aogh.2015.06.008>

Pinto J, Bonacic C, Hamilton-West C, Romero J, Lubroth J. Climate change and animal diseases in South America. *Rev Sci Tech*. 2008; 27: 599-613.

Rogers DJ, Randolph SE. Climate change and vector-borne diseases. *Adv Parasitol*. 2006; 62: 345-81.

Rojas E, Díaz-Quijano FA, Coronel-Ruiz C, Martínez-Vega RA, Rueda E, Villar-Centeno LA. Correlación entre los niveles de glutatión peroxidasa, un marcador de estrés oxidativo, y la presentación clínica del dengue. *Rev Med Chile*. 2007; 135: 743-50.

Romi R. Arthropod-borne diseases in Italy: from a neglected matter to an emerging health problem. *Ann Ist Super Sanita*. 2010; 46(4): 436-43.

Rueda LM, Patel KJ, Axtell RC, Stinner RE. Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*. 1990; 27(5): 892-8.

Seijo A. El dengue como problema de salud pública. *Arch Argent Pediatr*. 2001; 99(6): 510-21.

Semenza JC, Menne B. Climate change and infectious diseases in Europe. *Lancet Infect Dis*. 2009; 9(6): 365-375.

Shope R. Global climate change and infectious diseases. *Environ Health Perspect*. 1991; 96: 171-4.

Shuman EK. Global climate change and infectious disease. *N Engl J Med*. 2010; 362: 1061-3.

Tabachnick WJ. Challenges in predicting climate and environmental effects on vector-borne disease epistystems in a changing world. *J Exp Biol*. 2010; 213(6): 946-54.

Tirado MC. Cambio climático y salud. Informe SESPAS 2010. *Gaceta Sanitaria*. 2010; 24(1): 78-84.

Valero N, Reyes I, Larreal Y, Maldonado M. Aminotransferasas séricas en pacientes con Dengue tipo 3. *Rev Med Chile*. 2007; 135: 1304-312.

Determinación coproscópica de formas parasitarias en heces de conejos (*Oryctolagus cuniculus*) pertenecientes a la comuna de Concepción, Chile

*Determination of parasitic forms in feces of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) to the commune of Concepción, Chile*

I. TRONCOSO¹*, I. FERNÁNDEZ², A. ROBLES¹, E. SEPÚLVEDA¹, C. FISHER¹, C. BARRIENTOS¹, F. VILLALOBOS³

¹ Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás, Prat 855, Concepción, Chile.

² Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Parasitología.

³ Actividad privada, Concepción, Chile.

Correpondencia:

ignaciotroncoso@santotomas.cl

Summary

The tendency to acquire exotic animals as pets has increased in the last years in Chile, being the small mammals the group of more interest. The rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) is commonly acquired as an exotic pet, because of their gentle nature, are docile, and their maintenance is simple and inexpensive. Despite this, domestic rabbits may constitute a threat to health because they can act as a carrier, intermediate host and reservoir of important infections for domestic animals and humans.

Due to the lack of studies in Chile about the presence of endoparasites in *O. cuniculus*, we proceeded to determine the presence of parasitic forms in feces of rabbits in captivity through the Burrows technique. A directed sampling was carried out in the city of Concepción (VIII region, Chile). 40 rabbits were included in the study, resulting in 80% (32/40) of infection. Parasitic agents belonging to eggs type *Strongylideos* with 12.5% (n = 5) and *Eimeria* with 80% (n = 32) were identified. The females had greater positivity, but this difference wasn't statistically significant.

Keywords: prevalence, rabbits, captivity, intestinal endoparasites, Burrows, Chile

Introducción

Los conejos son animales que de a poco se han convertido en una mascota ideal, debido a su fácil y poco costoso mantenimiento (Ferrer & Valle 1985, Riera & Cabrero 2008). Se caracterizan por ser especies sociables, ya que raramente son agresivos, logrando convivir bien con otros animales domésticos y requieren de una alimentación saludable, complementada con ejercicio diario (Bradley et al. 2006).

Una encuesta realizada en Santiago de Chile, a un total de 11.060 viviendas, demostró que el 85,9% poseía una mascota en su hogar, encontrándose un total de 253 conejos, que corresponde a un promedio de 0,026% de conejos por casa (Ibarra et al. 2003). Es importante mencionar que este estrecho contacto entre las mascotas y el hombre, implica un alto riesgo de transmisión de agentes infecciosos entre ambos (Botero & Restrepo, 2003).

El conejo doméstico, puede constituir una amenaza a la salud debido a la capacidad de actuar como portador, hospedero intermediario (Gallego 2007) y/o reservorio de infecciones de importancia para animales domésticos y el hombre (González-Acuña et al. 2005, Cabello & Cabello 2008), entre las cuales están: toxoplasmosis, peste (*Y. pestis*), salmonelosis, sarna (*S. scabiei* var. *cuniculi*), tiña (*M. canis*), rabia (rabdovirus), y parasitosis como giardiosis (Vidal et al. 2009), microsporidiosis (Riera & Cabrero 2008, Marchant et al. 2007), *Linguatula serrata*, *Encephalitozoon cuniculi* ó *Trypanosoma*

cruzi (Alcaino & Gorman, 1999). Es importante tener en consideración, que existen múltiples factores que contribuyen de manera directa a aumentar el riesgo de transmisión de estos agentes patógenos (Barriga 2002), por ejemplo, las elevadas prevalencias de ecto y endoparásitos, se asocian principalmente con las condiciones higiénicas sanitarias y del medio ambiente dentro de los criaderos de conejos (Cordero Del Campillo & Rojo 1999, Barbado 2003). Entre los endoparásitos del conejo que afectan el sistema digestivo y causan sintomatología intestinal se encuentran: trematodos, cestodos, nematodos y protozoarios (Lebas et al. 1996, Alcaino & Gorman 1999). Así lo indica un estudio realizado en Reino Unido entre los años 1992-1996, a 95 conejos silvestres, en el cual se obtuvo como resultado la existencia de *Taenia pisiformis* 31%; *Cittotaenia pectinata* 37%; *Passalurus ambiguus* 28%; *Graphidium strigosum* 78%; *Trichostrongylus retortaeformis* 29% (Allan et al. 1999, García-Romero et al. 2001).

Debido al riesgo de transmisión de enfermedades tanto para animales domésticos como para el hombre y a la escasez de estudios realizados en Chile, sobre la presencia de endoparásitos en *O. cuniculus*, es que el presente estudio tuvo como objetivo principal determinar el nivel de infección de endoparasitismo gastrointestinal en conejos de cautiverio, y además establecer su asociación con la variable sexo y edad.

Material y Métodos

Se realizó un muestreo dirigido durante los meses de septiembre a octubre del año 2013, a 40

conejos de cautiverio provenientes de la ciudad de Concepción, Chile. El tamaño de muestra es aceptado según el teorema del límite central, el cuál indica que la distribución de las proporciones o de las medidas de las muestras sigue una distribución aproximadamente normal, cuando las muestras son de tamaño grande, en general ≥ 30 (Marrugat et al. 1998).

Los conejos fueron facilitados de un criadero de la zona, siendo el único criterio de inclusión el no contar con desparasitación interna al menos cuatro meses previos a iniciar el estudio.

Se procedió a alimentar a los conejos muy temprano por la mañana, para posteriormente esperar aproximadamente entre doce y dieciséis horas hasta lograr obtener las heces (Lebas et al. 1996). Las muestras se recolectaron inmediatamente después de la defecación. Cada ejemplar se encontraba en una jaula individual que poseía un sistema propio de recolección de heces, lo que evitaba la contaminación e incorporación de las heces desde las jaulas anexas. Mediante el uso de una paleta se extrajeron a lo menos 3 gr. de material fecal, por cada individuo, que es la medida adecuada para realizar la detección y análisis parasitario mediante la técnica de Burrows (López et al. 2006). Cada muestra fue depositada dentro de un frasco plástico, que en su interior contenía 10 mL de preservante PAF (fenol, alcohol, formol) como fijador (López et al. 2006), asegurando de esta manera un adecuado almacenamiento, evitando posibles alteraciones de las formas parasitarias existentes en ellas. Cada frasco se identificó con la numeración y fecha correspondiente a cada conejo. Posteriormente se transportaron dentro de un cooler a 4°C para su conservación y su procesamiento dentro de las 72 horas posteriores (Mehlhorn et al. 1993). Es importante tener en cuenta que algunas formas de protozoos mueren o se alteran rápidamente a temperatura ambiente y los huevos de algunos helmintos pueden eclosionar en horas si no se refrigeran (Vignau et al. 2005).

El análisis de las heces se efectuó en el Laboratorio de Medicina Veterinaria de la Universidad Santo Tomás, sede Concepción, mediante la técnica coproparasitaria de Burrows, un método adecuado y poco complejo, constantemente utilizado para la detección de las formas parasitarias de nematodos y cestodos (Burrows 1967), además es de utilidad en el diagnóstico de quistes y en especial, trofozoitos de protozoos (Garrido et al. 2011). La sensibilidad

de esta técnica al trabajar con una única muestra de heces es del 35-50% (Vila et al. 2009).

La técnica de sedimentación de Burrows, se realizó, tamizando un gramo de materia fecal en agua destilada. El sedimento obtenido se colocó en dos tubos de centrífuga, donde: al primero se llenó con 10 mL de muestra, para analizar la fase trofozoítica de protozoos y helmintos. Al segundo, se le colocaron 8 mL de muestra, más 2 mL de éter etílico lo cual es de ayuda en el análisis de los protozoos. Ambos se centrifugaron por 5 minutos a 1800 rpm, posteriormente se desechó el sobrenadante de ambos tubos y se tomó una gota de sedimento puesta en un portaobjeto, la que luego se observó en el microscopio óptico (Olympus CX31) en los aumentos 10x y 40x (López et al. 2006, Garrido et al. 2011).

La determinación de los parásitos se confirmó mediante la revisión de bibliografía especializada, atlas de Parasitología y comparación con preparaciones positivas de parásitos encontrados comúnmente en perros y gatos, utilizados como apoyo y material de referencia.

Análisis estadístico

Este estudio fue de tipo descriptivo y transversal, donde se determinó el porcentaje de hospederos parasitados y la riqueza parasitaria (número de taxa parasitarias por hospedador parasitado) (Pardo et al. 2004). Además se utilizó el test chi cuadrado, para evaluar si existían diferencias entre la positividad y la variable sexo.

Resultados

De las 40 muestras de heces de *O. cuniculus*, se logró determinar que el 80% (32/40) se encontraba positiva con alguna forma parasitaria, considerando como positivo a aquellos ejemplares que dentro de sus muestras fecales presentasen al menos una forma parasitaria de taxa protozoo, nematodo y/o cestodo.

Se determinó que el 12,5% (5) de los animales muestreados se encontraban infectados con parásitos del género *Strongylideos* (Fig 1) y el 80% (32) con parásitos protozoarios del género *Eimeria* (Fig 2). Del total de individuos positivos, el 84,3% (27) presentó una monoinfección y un 15,6% (5) presentó una poliinfección (*Eimeria* y *Strongylideos*).

El 40% de los individuos muestreados eran de

sexo macho y el 60% restante de sexo hembra, los cuales presentaron una prevalencia parasitaria del 68,7% (11/16) y del 87,5% (21/24) respectivamente, sin ser esta diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

Discusión

En un estudio de endoparasitismo, realizado en 116 conejos silvestres (*O. cuniculus*) capturados en la Comuna de Florida (VIII Región) en 1979, a través de la necropsia de los ejemplares, se logró determinar un porcentaje de infección del 99,14% (Merello 1980). Por otra parte, González-Acuña et al. (2005), al capturar 20 liebres en la provincia de Ñuble (VIII Región) y 20 liebres en Última Esperanza (XII Región), lograron identificar dos especies de nematodos gastrointestinales (*Trichostrongylus retortaeformis*, *Passalurus ambiguus*) y un porcentaje de infección del (60,2%) (25/40). Zagal (2007), estudió la fauna parasitaria del tracto gastrointestinal de la liebre (*Lepus europaeus*), provenientes de la provincia de Última Esperanza y de la XII Región de Magallanes, en donde detectó, a través de la necropsia y análisis coproparasitarios mediante la técnica de Teuscher, un nivel de infección parasitario del 100% (25/25). Valor similar se reporta en un trabajo efectuado en Ecuador, donde se muestrearon a 45 conejos de granja, obteniendo un nivel de infección del 100% (Abarca 2004).

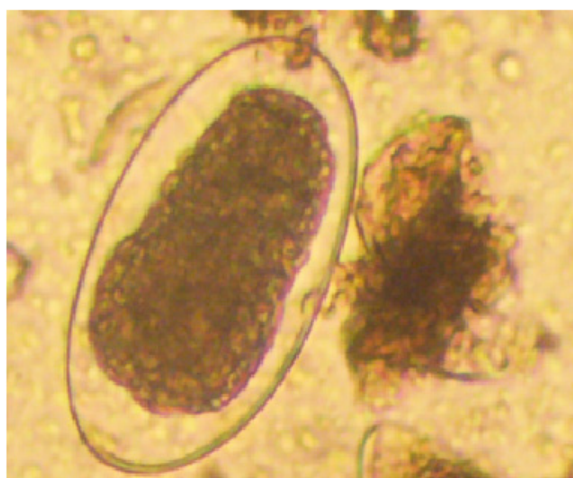


Figura 1. Huevo tipo Strongyloidea encontrado en una examen coproparasitario de conejo (40x)

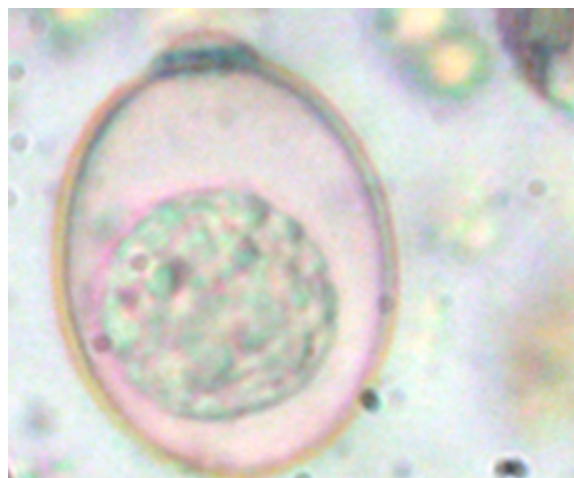


Figura 2. Huevo de *Eimeria* spp encontrado en una examen coproparasitario de conejo (40x)

La mayoría de los trabajos a nivel mundial se han realizado en *O. cuniculus* y *L. europaeus* en estado de vida silvestre, los cuales han reportado un nivel de infección parasitario similar a la obtenida en este estudio. Sin embargo, en cautiverio existe una multitud de factores que pueden contribuir en la distribución y abundancia de los parásitos, tales como: el confinamiento, presencia de vectores, falta de higiene, contacto con heces y orina de otros individuos, estrés, alimentación baja en fibra, convivencia con otras mascotas, la capacidad del parásito de hospedarse en diferentes especies, etc. Es por esto, que es de suma importancia evaluar el hábitat, ya que es un factor desencadenante para la presentación de las parasitosis (Atías 1998, Barriga 2002, Gallego 2007).

Con respecto a la infección por nematodos, los resultados difieren a los obtenidos con los estudios nacionales anteriores. En la comuna de Florida (VIII Región) se obtuvo un 92,24% de infección (Merello 1980) en tanto que en la provincia de Ñuble (VIII Región) y Última Esperanza (XII Región), se reportó un nivel de infección del 60% (Gonzalez-Acuña et al. 2005). Finalmente en la Provincia de Última Esperanza y la XII Región de Magallanes, se señala un 4% de infección para el género *Strongyloides* (Zagal 2007), siendo este valor el que más se acerca al de la presente investigación.

Al promediar los valores obtenidos en el presente estudio, se puede estimar que existe un alto porcentaje de prevalencia de nematodos, lo que podría deberse a los factores ambientales presentes en cautividad, lo

que aumenta notablemente el riesgo de transmisión, ya que mientras mayor sea el hacinamiento y humedad, más alta será la probabilidad de contagio (Atías 1998, Cordero Del Campillo & Rojo 1999).

En estudios realizados en el extranjero en el año 1994, en el Reino Unido, se reportó para nematodos un 29% (Allan et al. 1999) de infección. Por su parte, en Eslovaquia se obtuvo un 6,76% (Dubinský et al. 2010) y en Tenerife Islas Canarias un 10 % (Foronda et al. 2005).

Con respecto a la prevalencia del protozoo de género *Eimeria*, resultados similares obtuvo Zagal (2007), quien mediante la técnica de sedimentación-flotación con sulfato de zinc, demostró la positividad a este microorganismo en el 96% de los individuos. En Tenerife Islas Canarias se indicó un 51% y en Ecuador se estimó un 100% de prevalencia (Abarca 2004).

Los altos valores de prevalencia para los coccidios están estrechamente relacionados con las condiciones higiénicas, siendo prevalentes en los criaderos de tipo familiar, probablemente por el mayor contacto entre los animales, por el tipo de instalación, escasa higiene o por la no implementación de un programa de desparasitación específica para protozoos (Cordero Del Campillo & Rojo 1999).

En líneas generales, apoyándonos en los resultados, podemos concluir que *O. cuniculus* es una especie que comúnmente puede presentar endoparasitosis, más aún tomando en consideración que las condiciones ambientales e higiénicas de los animales en cautiverio, raramente cumplen con las normas sanitarias adecuadas para evitar la contaminación cruzada entre los individuos. Recaltar además que al realizar un sólo muestreo la sensibilidad de la técnica es del 35-50%, de haber realizado muestreos seriados quizás el nivel de infección pudiese haber sido aún mayor.

Referencias

Abarca, V. Determinación y control de la carga parasitaria gastrointestinal (Destete al inicio reproductivo en conejos californianos, gigante danés y neozelandés), de la granja Guslan (MAG). Tesis de grado. Ingeniería Zootecnista. Riobamba, Ecuador. 2004. p. 75.

Alcaíno H., Gorman T. Parásitos de los animales domésticos en Chile. *Parasitol al Día* 1999; 23 (1-2): 33-41.

Allan J., Craig P., Sherington J., Rogan M., Storey D., Heath S., Iball K. Helminth parasites of the wild rabbit *Oryctolagus cuniculus* Malham Tarn, Yorkshire, UK. *Journal of Helminthology* 1999; 73(4): 289-294.

Atías, A. Parasitología Médica. Santiago de Chile, Publicaciones Técnicas Mediterráneo. 4ta ed. Ed. Mediterráneo. 1998. p. 615.

Barbado, J. Cría de conejos su empresa de cunicultura. Editorial Albatros Saci. Buenos aires, Argentina. 2003.p.190

Barriga, O. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en América Latina. Editorial Germinal, Santiago, Chile. 2002. p. 247

Botero D, Restrepo M. Parasitosis humanas. 1a ed. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas; 1998. p. 457.

Burrows, R. B. A new fixative and technics for the diagnosis of intestinal parasites. *American Journal of Clinical Pathology* 1967; 48: 342-346.

Bradley T., Lightfoot T., Mayer J. Exotic Pet Behavior (Birds, Reptiles and Small Mammals). Saunders Elsevier, Missouri. 2006

Cabello, C., & Cabello, F. Zoonosis con reservorios silvestres: Amenazas a la salud pública ya la economía. *Revista médica de Chile* 2008; 136(3), 385-393.

Cordero Del Campillo, M., Rojo, F. Parasitología Veterinaria. McGraw y Hill. Madrid, España. 1999. p. 725- 754.

Dubinský, P., Vasilková, Z., Hurníková, Z., Miterpáková, M., Slamečka, J., & Jurčík, R. Parasitic infections of the European brown hare (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) in south-western Slovakia. *Helminthologia* 2010; 47(4), 219-225.

Ferrer J., Valle J. El arte de criar Conejos. Aedos. Barcelona, España. 1985. p 236

Foronda, P. R., Figueruelo, E. O., Ortega, A. R., Abreu, N. A.,

- & Casanova, J. C. Parasites (viruses, coccidia and helminths) of the wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) introduced to Canary Islands from Iberian Peninsula. *Acta Parasitologica* 2005; 50(1): 80-84.
- Gallego J. Manual de parasitología morfología y biología de los parásitos de interés sanitario. Universidad de Barcelona. Graficas rey. España. Parasitología. 2007. p. 516
- García-Romero C., Corchero J., Valcárcel F. 2001. Prevalencia de la Helmintiasis Digestivas en la Liebre Ibérica *Lepus granatensis* en la zona central de España. *Ecología* 2001; 15: 225-232.
- Garrido N., Gallardo P., Ríos P. Instructivo de trabajo N°7, parasitológico seriado de deposiciones. Método de Burrows. Ministerio de Salud. Chile. 2011. p. 9-11.
- González-Acuña, D., Rebolledo, P., Skewes, O., Moreno, L., & Castro, D. Parásitos de la liebre (*Lepus Europaeus* Pallas, 1778): Estudio en dos zonas geográficas de Chile. *Parasitología latinoamericana*, 2005; 60(3-4): 174-177.
- Ibarra L., Morales M., Orellana P. Existencia de especies de animales de compañía en la ciudad de Santiago, Chile. *Avances en Ciencias Veterinarias* 2003; 18: 29-35.
- Lebas, F., Coudert, P., De Rochambeau, H., & Thébault, R. G. El conejo. Cría y patología. FAO, Rome, Italy. 1996. p.109
- López J., Abarca K., Paredes P., Inzunza E. Parásitos intestinales en caninos y felinos con cuadros digestivos en Santiago, Chile. Consideraciones en Salud Pública. *Red Méd. Chile* 2006; 134: 193-200.
- Marchant C., Romero S., Jercic M. Pesquisa de la presencia de microsporidios en conejos de la Región Metropolitana de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. *Parasitología Latinoamericana* 2007; 62 (1-2): 94 -99.
- Marrugat, J., Vila, J., Pavesi, M., & Sanz, F. Estimación del tamaño de la muestra en la investigación clínica y epidemiológica. *Med Clin (Barc)* 1998; 111(7): 267-76.
- Mehlhorn, J., Jones, H.L., Weatherley, A.j., Y Shumacher, B., 1993: Doramectin, a new avermectin highly efficacious against gastrointestinal nematodes and lungworms of cattle and pigs: two studies carried out under field conditions in Germany. *Parasitology research* 1993; 79(7): 603-607.
- Merello, E. Determinación del endoparasitismo en conejos silvestres (*Oryctolagus cuniculus*) capturados en la comuna de Florida. Concepción. Memoria de título. Med. Vet. Universidad de Concepción, Facultad de Medicina Veterinaria. Área de Ciencias Agropecuarias. Chillán, Chile. 1980. p. 42
- Pardo Mc, Garcías F, George-Nascimento MG. La dieta y fauna de endoparásitos del pejesapo *Gobiesoxmarmoratus*. Jenyns, 1842 (Pisces: Gobiesocidae) en el litoral central de Chile están conectadas pero no correlacionadas. *Rev Chil Hist Nat.* 2004; 77 (4): 627-637.
- Riera A., Cabrero M. Manejo y tratamiento de los animales exóticos. Ediciones Mayo. Barcelona. 2008. p. 112
- Vidal S., Toloza L. Y Cancino B. Evolución de la prevalencia de enteroparasitosis en la ciudad de Talca, Región del Maule, Chile. *Revista chilena de infectología* 2010; 27(4): 336-340.
- Vila, J., Álvarez-Martínez, M. J., Buesa, J., & Castillo, J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 2009; 27(7): 406-411.
- Vignau, M. L., Venturini, L. M., Romero, J. R., Eiras, D. F., & BASSO, W. U. Parasitología práctica y modelos de enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata. 2005. p. 154-155.
- Zagal, R. Estudio de la fauna parasitaria del tracto gastrointestinal de la liebre europea (*Lepus europaeus*, Pallas 1778), proveniente de estancias de las provincias de Última Esperanza y Magallanes, XXII Región, Chile. Memoria de título presentada como parte de los requisitos para optar al título de Médico Veterinario. Universidad Austral de Chile, Fac. de Ciencias Veterinarias, instituto de patología animal. Valdivia, Chile. 2007. p. 45

Formas parasitarias de importancia zoonótica, en heces de perros en playas de la ciudad de La Serena, Chile.

Dogs with zoonotic enteric parasitic in beaches from the La Serena city.

LUZIO A.¹, UNDIKS S.¹, TRONCOSO I.¹, LUZIO P., FERNANDEZ I.²

- ¹ Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás, Concepción, Chile.
- ² Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile.

Correspondencia: Alvaro Luzio Quiroga. Universidad Santo Tomás, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Escuela de Medicina Veterinaria, Avenida Prat 855, Concepción, Chile.
E-mail: aluzio@santotomas.cl

Summary

The aim of this study was to detect pathogenic parasitic forms for humans, in samples of dog feces deposited in the sandy beaches of the city of La Serena, Coquimbo Region, Chile. Fecal samples from dogs (*Canis lupus familiaris*) from the beaches of La Serena, Coquimbo Region, Chile were analyzed using the technique of Burrows. It was found that 44.2% of the samples analyzed were contaminated with some parasitic form with zoonotic potential. The parasitic taxa with more zoonotic risk were *Toxocara sp.* (23.2%), *Giardia sp.* (8.4%), *Strongyloides sp.* (6.3%) and *Taenia sp.* (5.3%). The beaches of the city of La Serena are contaminated with animal feces containing enteric parasites with zoonotic risk. So it is necessary to implement actions of health education to the community, developing plans deworming and control of canine overpopulation.

Key words: Enteric parasitic, dogs, beaches, zoonoses.

Introducción

Sin duda, las mascotas más frecuentes en los hogares y que conviven estrechamente con el ser humano son los perros (*Canis lupus familiaris*) (Lopez et al. 2006). Los parásitos constituyen un riesgo para la salud humana, debido a que bajo determinadas condiciones pueden transmitirse al hombre, a través de los alimentos, agua y suelo contaminado con heces (Lopez et al. 2006), si bien la mayoría de estos no causan la muerte, presentan un alto porcentaje de morbilidad (Milano & Oscherov 2002).

Los trabajos sobre carga parasitaria en Chile y en el mundo se han enfocado principalmente en investigar plazas y parques públicos, dejando de lado otros sectores turísticos, como son las playas (Lopez et al. 2006). Los trabajos sobre carga parasitaria gastrointestinal en muestras de heces caninas en Chile, han reportado prevalencias desde 30,42%, en tres comunas de la ciudad de Santiago (Gorman et al. 2006), hasta 48,3% en parques y plazas de la ciudad de Temuco (Armstrong et al. 2011). En playas de la comuna de Tome, la prevalencia reportada es de 43,05% (Luzio et al. 2013). En ecosistemas cerrados como la Isla Robinson Crusoe, los datos reportados indican un 55% de perros positivos a parasitosis gastrointestinales (González et al. 2008).

Se ha demostrado que técnicas de centrifugación y sedimentación, como Telemann y Burrows, permiten la observación de helmintos, como también facilitan la observación de protozoos. Además la técnica de Burrows presenta mejor sensibilidad en relación a Telemann para formas trofozoíticas, especialmente de amebas y giardias (Lopez et al. 2006, Burrows 1967).

Las playas constituyen un lugar de recreación para los habitantes de la ciudad, siendo la contaminación biológica de la arena, con materia fecal canina un factor de riesgo para niños y adultos, debido a que contienen formas parasitarias infectantes (Sanchez et al. 2003). El estudio de la contaminación parasitaria del suelo es considerado un indicador directo del riesgo de contagio al que están expuestos los residentes de una región (Armstrong et al. 2011), por lo que el objetivo del presente estudio fue detectar formas parasitarias patógenas para el ser humano, en muestras de heces caninas depositadas en la arena de las playas de la ciudad de La Serena, Región de Coquimbo, Chile.

Material y Métodos

El estudio se realizó en la Región de Coquimbo, ciudad de La Serena, la cual cuenta con 160.148 habitantes (INE, 2002), ubicada a 472 Km. al norte de la ciudad de Santiago. La toma de muestra se realizó el mes de Enero del año 2013, lo cual es de gran utilidad para conocer en qué condiciones sanitarias se encuentra las playas en época estival, ya que, concentra la mayor cantidad de turistas. Las playas de la ciudad de La Serena conforman uno de los paseos más concurridos, abarcan 12 tramos de playas conocidas como: El Faro, Los Fuertes, Mansa, Blanca, La Barca, 4 Esquinas, La Marina, El Pescador, El Corsario, Hipocampo, Las Gaviotas y Canto del Agua. De ellas se obtuvieron 95 muestras, lo que corresponden al 100% de las heces, que se encontraban frescas y libres de suciedad. Cada muestra fue recolectada con una paleta de madera con a lo menos 5 gr. de material fecal (Burrows 1967). Cada muestra fue depositada dentro de un

frasco plástico, que en su interior contiene 10 ml. de preservante PAF (fenol, alcohol y formaldehído) como fijador (Lopez et al. 2006), asegurando de esta manera un adecuado almacenamiento de ellas y evitando así la alteración de las formas parasitarias existentes (Mehlhorn et al. 1994). Las muestras se mantuvieron en un cooler, y fueron transportadas al Laboratorio de Medicina Veterinaria de la Universidad Santo Tomás, sede Concepción. La técnica utilizada es la de Burrows, método adecuado para la detección de las formas parasitarias de anquilostómidos, ascáridos y protozoos en su fase trofozoítica (Garrido et al. 2011).

Para determinar la prevalencia se utilizó la frecuencia porcentual simple.

Resultados - Discusión

El 44,2% (42/95) de las muestras analizadas, se encontraban contaminadas con alguna forma parasitaria, con potencial zoonótico. Se consideró como positivo, aquella muestra que contase con al menos una forma parasitaria. De aquellas que resultaron positivas, se identificaron 63 formas parasitarias. Estas se clasificaron como protozoos y helmintos, estos últimos fueron divididos en nemátodos y céstodos. De las formas parasitarias, el 75% lo fue solo a nemátodos (47/63), mientras que para el caso de los céstodos se observó una frecuencia de un 9% (6/63) y 16% de protozoos (10/63). Se observó un 28,4% presentación para monoparasitismo (27/95), un 10,5% para biparasitismo (10/95) y un 5,3% para triparasitismo (5/95) (Figura 1).

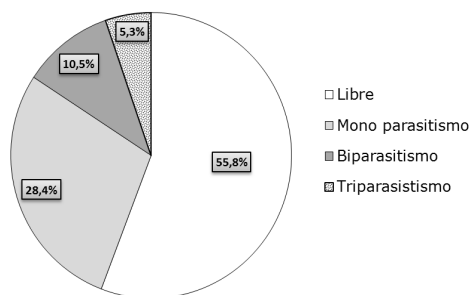


Figura 1. Distribución porcentual de multiparasitismo, de muestras recolectadas en playas de la ciudad de La Serena.

De los nemátodos el más relevante en este estudio con 23,2% fue *Toxocara sp.* El con mayor prevalencia de los céstodos fue *Taenia sp.* con un 5,3% y para protozoos, se describe a *Giardia sp.*, con un 8,4% (Figura 2).

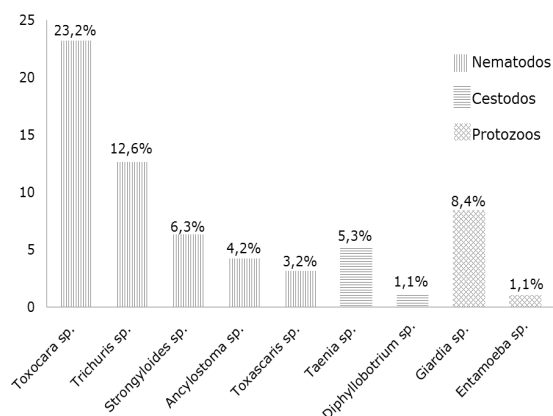


Figura 2. Distribución porcentual de las principales formas parasitarias presentes en la materia fecal de caninos diseminadas en las playas de la ciudad de Los Ángeles, de importancia zoonótica.

Estudios realizados en Chile describen disimiles prevalencias de formas parasitarias en heces de perros en playas. Es así que, en un ambiente cerrado, como lo es la isla Robinson Crusoe, se observó que el 55% de las muestras resultó positivo a uno o más enteroparásitos (Gonzalez et al. 2008). Por otra parte Luzio et al. (2013) describen un 43,05% de prevalencia en las muestras de heces recolectadas en playas de la comuna de Tome. Lo que coincide con el presente estudio, en donde se describe un 44,2% de prevalencia. En Mar del Plata se examinaron 358 muestras fecales ubicadas en playas, de las cuales 34,6% resultaron parasitadas (Isla et al. 2005). Milano & Oscherov (2002) en un estudio realizado en playas de la ciudad de Corrientes, registraron prevalencias parasitarias de 37,5% en muestras de arena y de 59,3% en muestras de materia fecal. En 1997, en Warnemunde, Alemania, fue analizada arena de playas, de 126 muestras, solo 2 contenían *Toxocara sp.* (Schottler 1998). En Japón se realizó un estudio en 6 playas públicas localizadas en Fujisawa y Kamakura y de un total de 142 muestras de arena, en 3 fueron hallados huevos de *Toxocara sp.* y una muestra presentó huevos de *Trichuris vulpis* (Ohba et al. 1995). En un estudio realizado en playas donde se

suele pasear perros en Perth, Australia, de un total de 266 muestras no se hallaron huevos de *Toxocara canis* u otros huevos/larvas de nemátodos (Dunsmore et al. 1984).

Las diferencias de los resultados descritos a nivel nacional e internacional, están sujetos a diversos factores, como aspectos geo-climáticos, nivel cultural y socioeconómico de las personas, al origen de los perros (perros de sectores urbanos o rurales; con dueño o callejeros) y a las distintas técnicas usadas para determinar la fauna parasitaria. Además las condiciones ambientales de playas, por la humedad, las altas temperaturas, no dan la posibilidad al desarrollo parasitario en el tiempo. Hay que tomar en cuenta que si bien la contaminación es menor en playas, siguen siendo un alto riesgo de zoonosis por la presencia de enteroparásitos encontrados en heces caninas.

De los nemátodos, el género más observado es *Toxocara sp.*, con un 23,2% de prevalencia. Este valor es superior a lo reportado por la bibliografía, en Chile Gorman et al. (2006) describen una prevalencia de 9,1% y Armstrong et al. (2011) reporta un 12,44%. A nivel internacional, se informan prevalencias del orden del 20% (Trillo-Altamirano et al. 2003, Andresiuk et al. 2003). Esta parasitosis posee un riesgo zoonótico de importancia, especialmente en niños, por sus hábitos de geofagia; produciendo el síndrome de larva migrante visceral (LMV) y ocular (Cordero del Campillo & Rojo 1999).

El segundo nematodo con mayor prevalencia es *Trichuris vulpis*, en 12 de las muestras (12,6%), aunque no es considerado como un agente zoonótico (Armstrong et al. 2011), existe evidencia científica que indica que podría tener potencial zoonótico (Acha & Szyfres 2003). Se han registrado prevalencias, en Chile, de un 8,9% y 8,1% (1, 5). A nivel internacional, se han descrito prevalencias que fluctúan entre un 1,9%, en Brasil (Farias et al. 1995) hasta un 25%, en India (Traub et al. 2004).

Otras formas parasitarias zoonóticas identificadas, fueron larvas de *Strongyloides sp.*, con un 6,3% (6/95) de infestación. La strongyloidosis es una parasitosis cosmopolita, presente en países de clima tropical o templado especialmente de Asia, África y Latinoamérica. En Latinoamérica, es frecuentemente observada en Brasil y Perú, donde en algunas localidades cerca del 60% de la población puede estar infectada (Mercado et al. 2002). En Chile, su epidemiología se encuentra en estudio

describiéndose casos aislados (Mercado et al. 2002). Cursa muy frecuentemente de forma asintomática en el hombre y tiene tendencia a la cronicidad. Pueden producir síntomas digestivos con dolor abdominal, diarrea y síntomas respiratorios. Las manifestaciones dermatológicas incluyen el síndrome de larva currens, que son trayectos intradérmicos de las larvas filariformes que causan intenso prurito, normalmente en zonas perianal (Miro et al. 2001). En Chile ha sido descrito en la isla Robinson Crusoe con un 15% de infestación (Gonzalez et al. 2008) y con un 3,1%, en las playas de la comuna de Tome (Luzio et al. 2013).

Otra zoonosis, es el síndrome de larva migrante cutánea (LMC), la cual es producida por *Ancylostoma sp.* y por *Uncinaria sp.*, ambos géneros pertenecen a la familia Ancylostomidae (Plascencia et al. 2013), esta es poco frecuente, pero debido a que se asocia a niños que acostumbran a jugar en lugares públicos y a adultos que manipulan tierra, no se debe descartar el riesgo potencial de transmisión (Armstrong et al. 2011; Alcaino & Gorman 1999). En el presente estudio se identificaron 4 de 95 muestras positivas (4,2%) a *Ancylostoma sp.*, las prevalencias descritas en Chile van desde un 1,8% a un 8,1% (Lopez et al. 2006, Luzio et al. 2013). En Corrientes, Argentina se reportan prevalencias de un 41,2% (Milano & Oscherov 2002). Estos valores difieren notablemente de los observados en otros países, por ejemplo, en Australia se describe un 6% (Schantz 1989) y en Alemania solo un 2,3% (Baratzki & Schaper 2002). Por otra parte, no se observó el género *Uncinaria sp.* Trabajos realizados en Chile, no describen la presencia de *Uncinaria spp.* de manera regular (Lopez et al. 2006, Gorman et al. 2006) y aquellos que la reportan, refieren prevalencias que van desde un 0,9% hasta un 59,5% (Luzio et al. 2013, Oberg et al. 2001). Es probable que esto se deba a que, dependiendo del método de identificación utilizado, se incluyen bajo la nomenclatura *Ancylostomideos*, tanto las especies *Uncinaria stenocephala* como *Ancylostoma caninum* (Lopez et al. 2006).

Al igual que *Toxocara sp.*, *Toxascaris sp.*, es causante de LMV (Cordero del Campillo & Rojo 1999), pero es considerado de menor importancia por las bajas prevalencias que registra como lo demuestra nuestros resultados, que indican un 3,2% (3/95). Los escasos reportes del género *Toxascaris* hechos en Chile han sido de *T. leonina*, por lo que se asume que es la especie detectada. Valor similar fue

obtenido por López et al. (2006), quienes reportaron un 1,4% de prevalencia, mientras que Luzio et al. (2013) obtuvieron un 6,3%. Valores muy similares han sido registrados en estudios extranjeros, en Brasil, el 0,9% (Farias et al. 1995), en Alemania el 1,8% (Barutzki & Scharper 2002) y en Italia el 1,4% (Rinaldi et al. 2006).

Para los céstodos, el que tuvo una mayor prevalencia fueron los huevos de *Taenia sp.*, con un 5,3% de prevalencia (5 de 95 muestras), lo cual difiere al 1,8% obtenido por Luzio et al. (2013) y al 0,4% de López et al. (2006), pero por debajo del 11,4% descrito por Armstrong et al. (2011). Para la provincia de Chubut, Argentina, se reporta un 3,6% (Sanchez et al. 2003), mientras que en Ica, Perú, Trillo-Altamirano et al. (2003) reportan un 4,33% de positividad. Las especies de *Taenias*, como la *T. multiceps* y *T. serialis*, son responsables de la zoonosis denominada Cenurosis cerebral y serialis respectivamente (Miro et al. 2001).

La difilobotriasis es una parasitosis que puede pasar totalmente inadvertida en el individuo que la presenta, desencadenar síntomas inespecíficos, como diarrea o dolor abdominal producido principalmente por la obstrucción en el intestino delgado debido a la presencia del parásito. En un bajo número de portadores este cestodo va a originar anemia perniciosa, asociada con un déficit de vitamina B12 (Abuin & Seijo 2012). *Diphyllobothrium sp.* es un parásito más prevalente en países cuya principal fuente proteica es el pescado (semicrudo o ahumado). En Europa, este parásito es especialmente prevalente en países de la ex Unión Soviética, Finlandia, Escandinavia. En Asia, es especialmente prevalente en países como Japón (por la ingestión pescado crudo) (Miro et al. 2001). Zunino et al. (2000) describe prevalencias 0,6% en heces de perros recolectadas en espacios públicos de la provincia de Chubut, Argentina, lo cual coinciden a los reportados en este estudio con un 1,1% (1/95).

De los protozoos identificados, *Giardia sp.* (8,4%), *Isoospora sp.* (1,1%) y *Entamoeba sp.* (1,1%). *Giardia sp.* y *Entamoeba sp.* son de importancia zoonótica. *Giardia sp.* es el causante de infecciones intestinales agudas y crónicas, comunes en niños y personas inmunosuprimidas, que pueden terminar en síndrome de malabsorción (Sanchez et al., 2003). Para *Giardia sp.*, en Chile, se han reportado variadas prevalencias, algunas tan altas como un 21,7%, en perros con sintomatología digestiva (Lopez et al.

2006) y otras que se encuentran cercanas al 4,% (Gorman et al. 2006, Luzio et al. 2013). A nivel mundial, de igual forma, los reportes son variados, en Alemania, Barutzki & Schaper (2002) informan un 51,6% de prevalencia; en Australia, se detectó en un 22,1% (Schantz 1989); en India en un 3% (Traub et al. 2004) y un 5,5% en Argentina (Milano & Oscherov 2002). La giardiasis es un grave problema de salud pública, que debe ser solucionado con políticas enfocadas a la educación de la comunidad (Sanchez et al. 2003, Mercado et al. 2002).

Aunque sólo se considera patógena *Entamoeba histolytica*, en el perro existen otras especies, como *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmanni*, *Entamoeba gingivalis* y *Endolimax nana*, todas ellas apatógenas (Miro et al. 2001). En el presente estudio se logra identificar solo en una muestra, del genero *Entamoeba sp.*, por lo que no se puede concluir de que esta corresponda a una especie zoonotica. Son escasos los reportes de la presencia de *Entamoeba sp.*, López et al. (2006) describe una frecuencia del orden del 32% y Sánchez et al. (2003) reportan un 18,1% en época estival. La *Entamoeba histolytica* es un protozoo que parasita principalmente a la especie humana, pero puede producir cuadros digestivos en perros y gatos. Su transmisión es orofecal, a través del agua, por contaminación de alimentos (vegetales crudos) y fómites. Es una enfermedad típica de países tropicales o subtropicales y de zonas periurbanas con sistemas de conducción de aguas deficientes (Miro et al. 2001).

A la luz de los resultados se puede indicar que faltan medidas preventivas (uso antiparasitario y reducción de contaminación ambiental), ya sea en perros de vida libre o con propietario, junto con la falta de rigurosidad en el cumplimiento de leyes que regulan la tenencia responsable de mascotas, llevan a exponer la salud de las personas a un potencial riesgo de infestación por parásitos gastrointestinales presentes en heces de perros diseminadas en playas de la ciudad de La Serena.

Del presente estudio se puede concluir que cerca del cincuenta por ciento de las muestras recolectadas en las playas de la ciudad de La Serena se encuentran contaminadas con enteroparásitos con riesgo zoonotico. De los diez géneros parasitarios identificados, nueve presentan riesgo zoonotico, siendo los principales *Toxocara sp.*, *Strongyloides sp.* y *Giardia sp.*

Referencias

- Abuin JC, Seijo A. Importancia de la difilobotriosis humana para el turismo. *Salud(i)Ciencia*. 2012; 18(8): 713-716.
- Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ra ed. Editorial OPS. Washington, D.C. EUA. 2003.
- Alcaíno H, Gorman T. Parásitos de los animales domésticos en Chile. *Parasitol dia*. 1999; 23(1-2): 33-41.
- Hollman P. Encuesta coproparasitológica canina realizada en plazas públicas de la ciudad de Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. *Parasitol Latinoam*. 2003; 58: 17-22.
- Armstrong WA, Oberg C, Orellana JJ. Presencia de huevos de parásitos con potencial zoonótico en parques y plazas públicas de la ciudad de Temuco, Región de La Araucanía, Chile. *Arch. Med. Vet*. 2011; 43 (2) : 127-134 .
- Barutzki D, Schaper R. Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999-2002. *Parasitol Res*. 2002; 90 (3): 148-150.
- Burrows RB. A new fixative and techniques for the diagnosis of intestinal parasites. *Amer J Clin Pathol*. 1967; 48: 342-346.
- Cordero Del Campillo M, Rojo F. *Parasitología Veterinaria*. 1ª ed. McGraw-Hill Interamericana, Madrid. 1999.
- Dunsmore JD, Thompson RC, Bates IA. Prevalence and survival of *Toxocara canis* eggs in the urban environment of Perth, Australia. *Vet Parasitol*. 1984; 16:303-311.
- Farias NA, Christóvão ML, Stobbe NS. Freqüência de parasitas intestinais em cães (*Canis familiaris*) e gatos (*felis catus domestica*) em Araçatuba, São Paulo. *Braz J Vet Parasitol*. 1995; 4: 57-60.
- Garrido N, Gallardo P, Ríos P. Instructivo de trabajo N°7, parasitológico seriado de deposiciones. Método de Burrows. Ministerio de Salud; Chile. 2011.
- González A, Moreno L, Hermosilla C. Parásitos en perros de San Juan Bautista, Isla Robinson Crusoe, Chile. *Arch. Med. Vet*. 2008; 40(2): 193-195.
- Gorman T, Soto A, Alcaíno H. Parasitismo gastrointestinal en perros en las comunas de Santiago de diferente nivel socioeconómico. *Parasitol Latinoam*. 2006; 61: 126 - 132.
- INE, Instituto Nacional de Estadísticas. Censo 2002. Santiago; Chile. 2002.
- Isla H, Denegri G, Cermelo L, Farlas A, Crowder P. Mar del Plata: Fragilidad Costera. Editorial Martin. Universidad nacional del Mar del Plata. Argentina. 2005.
- López J, Abarca K, Paredes P, Inzunza E. Parásitos intestinales en caninos y felinos con cuadros digestivos en Santiago, Chile. Consideraciones en salud pública. *Rev Med Chile*. 2006; 134: 193-200.
- Luzio A, Espejo S, Troncoso I, Fernandez I, Fischer C. Determinación coproscópica de formas parasitarias en heces de *Canis lupus familiaris* diseminadas en playas de la comuna de Tomé, Región del Bío Bío, Chile. *Rev Ibero-Latinoam Parasitol*. 2013; 72 (1): 88-94.
- Zunino MG, De Francesco MV, Kuruc JA, Schweigmann N, Wisnivesky-Colli MC, Jensen O. Contaminación por helmintos en espacios públicos de la provincia de Chubut, Argentina. *Bol. Chil. Parasitol*. 2000; 55(3-4):78-83.
- Mehlhorn H, Düwel D, Raether W. Manual de parasitología veterinaria. Capítulo: Metodo de Investigación, envío de muestras. Editorial. Grass-Iatros, Bogotá, Colombia. 1994.
- Mercado R, Jercic MI, Torres P, Alcayaga S, Martins De Paula F, Costa-Cruz JM, Ureta MT. Inmunodiagnóstico de las infecciones por *Strongyloides stercoralis* en Chile utilizando la prueba de ELISA. *Rev Méd Chile*. 2002; 130 (12): 1358-1364.
- Milano A, Oscherov E. Contaminación por parásitos caninos de importancia zoonótica en playas de la ciudad de Corrientes, Argentina. *Parasitol. Latinoam*. 2002; 57: 119-123.
- Miró G, Tirado A, Villa A, Rojo F. Zoonosis digestivas de etiología parasitaria. *Canis et Felis*. 2001; 50: 17-59.
- Oberg C, Herrera C, Moreno J, Fonseca F. Parásitos del perro problema ambiental y salud pública. Presentación oral. 1er Congreso Chileno de Bioanálisis. Iquique, Chile. 2001.
- Ohba M, Sadao N, Suzuki Y, Isamu I. Prevalence of *Toxocara* sp. Eggs in Beaches in Kanagawa, Japan. *Jpn J Parasitology*. 1995; 44(5): 426-428.
- Plascencia GA, Proy H, Eljure N, Atoche DC, Calderón RCC, Bonifaz A. Larva migrans cutánea relacionada con *Ancylostomas*. *Dermatol Rev Mex*. 2013; 57: 454-460.
- Rinaldi L, Biggeri A, Carbone S, Musella V, Catelan D, Veneziano V, Cringoli G. Canine faecal contamination and parasitic risk in the city of Naples (southern Italy). *BMC Vet Res*. 2006; 2(1): 29.

Sánchez P, Raso S, Torrecillas C, Mellado I, Ñancuñil A, Oyarzo C, Flores M, Córdoba M, Minvielle M, Basualdo J. Contaminación biológica con heces caninas y parásitos intestinales en espacios públicos urbanos en dos ciudades de la provincia del Chubut. Patagonia Argentina. *Parasitol. Latinoam.* 2003; 58: 131-135.

Schantz PM. *Toxocara larva migrans* now. *Am J Trop Med Hyg.* 1989; 41 (3-2): 21-34.

Schottler G. Incidence of *Toxocara ova* especially ova of visceral larva migrans in beach sand of Warnemunde in 1997. *Gesundheitswesen.* 1998; 60(12): 766-767.

Traub RJ, Monis PT, Robertson I, Irwin P, Mencke N, Thompson RC. Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. *Parasitol.* 2004; 128: 253-62.

Trillo - Altamirano M, Carrasco A, Cabrera R. Prevalencia de helmintos enteroparásitos zoonóticos y factores asociados en *Canis familiaris* en una zona urbana de la ciudad de Ica, Perú. *Parasitol Latinoam.* 2003; 58: 136 - 141.

Rhipicephalus sanguineus sensu lato en Chile

LUCILA MORENO SALAS¹ & DANIEL GONZÁLEZ-ACUÑA²

- ¹ Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile
- ² Departamento de Ciencias Pecuarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán, Chile.

Correspondencia: lumoreno@udec.cl

Introducción

Rhipicephalus sanguineus (Parasitiformes: Ixodidae) es una especie cosmopolita, descrita originalmente por Latreille (1806) y que en la actualidad forma parte de un complejo de especies (Beati & Keirans 2001, Szabó et al. 2005, Nava et al. 2009, 2012, Moraes-Filho et al. 2010, Levin et al. 2012). Fue introducida en América, y se encuentra ampliamente distribuida en la Región Neotropical (Baker, 1999), donde se han propuesto diferentes rutas de entrada para esta garrapata, asociadas al proceso de colonización. Es considerado el ectoparásito más importante en los perros del Neotrópico (Guglielmone et al. 2003, Szabo et al. 2005), siendo una de las garrapatas más estudiadas debido a su importancia en salud pública por ser vector de diferentes patógenos. En general, se cree que *R. sanguineus* sensu stricto (s. s) es la única especie representante del género en Sudamérica, sin embargo estudios recientes evidencian la existencia de al menos dos linajes pertenecientes al grupo *R. sanguineus* (Szabó et al. 2005, Moraes-Filho et al. 2011).

Taxonomía

Rhipicephalus sanguineus s. s fue originalmente descrita como *Ixodes sanguineus* por Latreille en 1806 desde ejemplares procedentes de “Gallia”, nombre que antiguamente daban los romanos a los territorios celtas en la edad de hierro. Este territorio correspondería a lo que en la actualidad es Francia, parte de Bélgica, oeste de Alemania, norte de Italia y partes de los Países Bajos (Dantas Torres & Otranto 2015). Más tarde Koch (1844), la reclasifica en el género *Rhipicephalus*, y en 1847, este mismo autor la redescubre y reconoce como localidad tipo a Francia, para luego en el mismo artículo mencionar a Portugal como localidad tipo (Koch 1847). Hoy en día, muchos taxónomos están de acuerdo que la localidad tipo de *R. sanguineus* s. s. es Francia, aunque aún se discute que puede ser originaria de África, ya que el género *Rhipicephalus* se encuentra ampliamente representado en ese continente (Dantas Torres 2007).

Luego de la descripción de Latreille (1806) y Koch (1847), varios autores describieron a *R. sanguineus* desde distintas regiones biogeográficas (Nava et al. 2012), lo que llevó a que se encontraran diferencias morfológicas intraespecíficas (eg. Pegram et al. 1987, Walker et al. 2000), sumado a que la descripción realizada por Latreille es incompleta y el ejemplar tipo se perdió, el estatus taxonómico de esta especie sigue siendo un tema de debate (Eg. Dantas-Torres et al. 2013, Dantas & Otranto 2015, Nava et al. 2015). Pese a esto, esta especie sigue siendo considerada como especie válida, aunque existe evidencia que señala que *R. sanguineus* s. s procedentes de África y oeste de Europa serían especies distintas (Moraes-

Filho et al. 2011, Levin et al. 2012, Nava et al. 2012), evidenciando que el grupo de *R. sanguineus* s. l. provenientes del oeste de Europa y Sudamérica representarían la verdadera *R. sanguineus* (Nava et al. 2012)

Se cree que *R. sanguineus* s.s es la única especie que se encuentra en Sudamérica (Szabó et al. 2005), sin embargo, estudios genéticos y de reproducción cruzada indican la existencia de dos linajes distintos, un linaje Norte distribuido en el área tropical y subtropical de Brasil, Colombia, Costa Rica, México, Venezuela, Panamá, Paraguay y norte de Argentina y un linaje Sur en el área templada de Argentina, Chile y Uruguay (Szabó et al. 2004, Szabó et al. 2005, Oliveira et al. 2005, Burlini et al. 2010, Moraes-Filho et al. 2011, Nava et al. 2012). El linaje Norte o Tropical sería cercano a las especies africanas, y el linaje Sur o Templado a las especies europeas (Moraes-Filho et al. 2011, Nava et al. 2012). En Chile, utilizando morfometría geométrica, se encontraron diferencias en la curvatura y posición de la placa espiracular, parma y proceso caudal entre poblaciones procedentes del norte de Chile (Arica, Iquique y Antofagasta), de las ubicadas en la zona central de Chile (Santiago, Curicó, Parral) (Figura 1, Muñoz 2014), coincidiendo con el estudio de Nava et al. (2012), donde indican que existe una barrera que aparece en la zona ecotonal ubicada entre los 24 y 25° de latitud sur que separaría el linaje Norte del Sur. Aunque aún faltan estudios genéticos, morfológicos y biológicos, que abarquen la distribución de *R. sanguineus* en Chile, podemos sospechar la existencia de dos linajes.

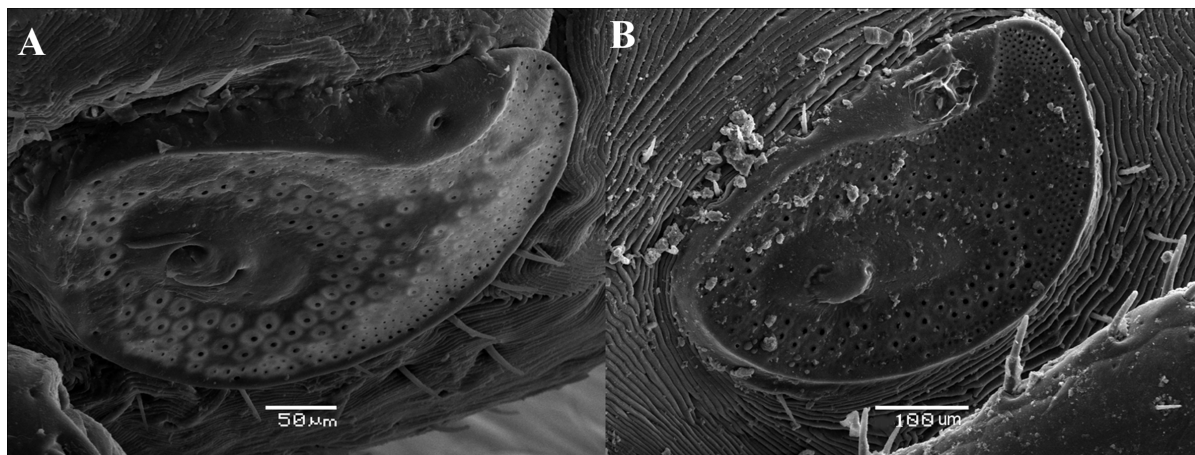


Figura 1. Placa espiracular de *Rhipicephalus sanguineus* s. s. recolectada en Antofagasta (A) y en Til Til (B).

Por ultimo, Nava y colaboradores (2015) proponen que *R. sanguineus* s. s. podría ser relegada a *nomen nudum* debido a que el espécimen tipo se perdió, que la descripción original no es lo suficientemente informativa y que por lo tanto varias entidades distintas podrían ser identificadas erróneamente como *R. sanguineus*.

Clasificación taxonómica

Reino: Animalia
 Filo: Arthropoda
 Subfilo: Chelicerata
 Clase: Arachnida
 Subclase: Acari
 Orden: Parasitiformes
 Suborden: Ixodida
 Familia: Ixodidae
 Genero: *Rhipicephalus*
 Especie: *R. sanguineus* (Latreille, 1806)

Distribución

Rhipicephalus sanguineus s. s. es la garrapata que presenta la más amplia distribución geográfica en el mundo, registrada en todos los continentes, excepto en la Antártica (Guglielmone et al. 2003). Su presencia en Sudamérica se basa en que pudo haber llegado a Brasil desde Portugal y África, por asuntos culturales y comercio de esclavos (Burlini

et al. 2010). De acuerdo con Aragao (1936), en 1907 esta especie ya era conocida en el norte de Brasil, expandiéndose posteriormente al sur y de ahí al resto de Sudamérica. Su establecimiento pudo haber sido favorecido por las condiciones de latitud (temperatura, luz y humedad) y por su capacidad de sobrevivir en asentamientos humanos (Burlini et al. 2010). En Chile, los primeros hallazgos fueron en 1974 (Tagle 1976), parasitando un perro en la comuna de La Granja, Santiago, cuya fuente de contagio no pudo ser determinada. En la actualidad, sus registros abarcan desde Arica (18°18'S 70°18'O) hasta Angol (37°48'S 72°43'O) (Muñoz & Casanueva 2002, González-Acuña et al. 2003, González-Acuña 2004, Guglielmone et al. 2006a, Abarca et al. 2013), incluyendo San Juan Bautista en Isla Robinson Crusoe (33°38'S 78°50'O) (González-Acuña et al. 2008) e Isla de Pascua (27°00'S 27°15'O) (Moraes-Filho et al. 2011) (Figura 2).



Figura 2. Registros de *Rhipicephalus sanguineus* s. l en Chile. Arica, Huará*, Alto Hospicio*, Cerro Dragón*, Iquique, La Tirana*, Caleta Hornos*, Tal-Tal*, Chañaral*, Isla de Pascua, La Serena*, Diaguita, Marquesa, Pisco Elqui, Til Til*, Viña del Mar, Valparaíso, San Juan Bautista (Robinson Crusoe), Santiago, La Granja, Santiago, Apalta*, Chépica*, Chomedahue*, Cunaco*, El Huique*, Isla de Yaquil*, Isla del Guindo*, La Lajuela*, Los Maitenes*, Nancagua*, Palmilla*, Quinahue*, Santa Cruz*, Curicó*, Parral*, Talca, Cato*, Chillán*, San Ignacio, Concepción, Talcahuano, Chiguayante, Las Higueras*, Portezuelo*, San Pedro de la Paz, Santa Clara*, Angol. *Indica registro de los autores no publicados.

Morfología

Rhipicephalus sanguineus pertenece a un grupo de especies que son difíciles de diferenciar morfológicamente, además, muchas de las descripciones morfológicas se basan en especímenes provenientes de distintas localidades o no especifican claramente la localidad de origen de los ejemplares utilizados para su descripción. Debido a esto se presenta la última redescrición realizada por Walker y colaboradores (2000).

Hembra: Capítulo más ancho que largo (rango largo x ancho= 0,57 x 0,67 mm a 0,63 x 0,61 mm). Base del capítulo con bordes suaves. Área porosa pequeñas. Palpos más largos que los del macho. Escudo más largo que ancho. Surcos escapulares anguloso. Coxa I grande, con espina externa e interna del mismo tamaño. Coxa II - IV con espolones externos cortos.

Macho: Capítulo más ancho que largo (rango largo x ancho= 0,49 x 0,56 mm a 0,57 x 0,63 mm). Base del capítulo con ángulos laterales agudamente curvados. Palpos cortos, apicalmente redondeados. Ojos marginales, ligeramente abultados. Con pequeñas puntuaciones en el borde dorsal. Línea marginal profunda y punteada, delimitando los dos primeros festones y extendiéndose anteriormente. Puntuaciones de pequeños tamaños y escasas. Espiráculos alargados, con una prolongación dorsal estrecha usualmente visible dorsalmente. Placa accesoria adanal presente y marcada. Placa adanal presenta forma variable desde estrecha/trapezoide a amplia/curvada. El tamaño de las patas se incrementa levemente desde la I a la IV.

Ninfa: Capitulo mucho más largo que ancho (rango largo x ancho= 0,23 x 0,3 mm a 0,24 x 0,33 mm), con ángulos laterales levemente curvados, palpos cortos apicalmente agudos. Escudo más largo que ancho (rango largo x ancho= 0,49 x 0,51 mm a 0,54 x 0,54 mm). Márgenes laterales casi rectos y márgenes posteriores redondeados. Ojos en el punto más ancho del escudo. Surcos cervicales cortos. Coxa I con dos espinas, externa más larga que la interna. Una sola espina redondeada y que decrece en tamaño en la coxa II y III. Coxa IV sin espina.

Larva: Capítulo mucho más ancho que largo (rango largo x ancho= 0,098 x 0,144 mm a 0,133 x 0,156 mm). Base del capítulo el doble de ancho que largo, margen posterior curvado, Angulo lateral corto, obtuso. Palpos cortos, margen externo levemente convexo. Escudo mucho más ancho que largo. Pocas puntuaciones presentes. Surco cervical poco profundo, moderadamente largo. Coxa I con cresta sobresaliente. Coxa II con una pequeña espina. Coxa III con un leve indicio de espina.

Comportamiento

Rhipicephalus sanguineus es una especie monotrópica de tres hospedadores, es decir, que todas las etapas de desarrollo se alimentan de la misma especie hospedadora, además cada estado de desarrollo requiere alimentarse de un nuevo hospedador para completar su ciclo de vida. Se alimenta preferentemente del perro doméstico (Dantas-Torres 2010), tanto en áreas rurales y urbanas, pero también se ha observado parasitando diferentes mamíferos, reptiles y aves e inclusive al hombre (Fletcher 1973, Walker et al. 2000, Dantas-Torres 2008). En Chile, además de perros, se ha registrado parasitando gatos (Alcaíno 1985; Alcaíno et al. 1990; Schenone 1996; Muñoz & Casanueva 2001) y hospedadores inusuales como cabras (*Capra hircus*), guarén (*Rattus norvegicus*) y conejo doméstico (*Oryctolagus cuniculus*) (González-Acuña et al. 2003, González-Acuña 2004, González-Acuña et al. 2006) y el hombre (Schenone 1996, Guglielmone et al. 2006a).

Rhipicephalus sanguineus es una garrapata endofílica, es decir, adaptada a vivir dentro de las viviendas humanas, aunque también es capaz de sobrevivir en ambientes peri-domiciliarios, siempre y cuando el clima sea adecuado y los hospedadores estén disponibles (Dantas-Torres 2010).

Ciclo biológico

Su ciclo biológico necesita de tres hospedadores, el cual está compuesto por un estado de desarrollo inmóvil (huevo) y 3 estados móviles (larva, ninfa y adulto). Cada estado móvil se alimenta de un nuevo hospedador, para luego dejarse caer al suelo. La hembra adulta después de alimentarse deja al hospedero y se refugia en un lugar protegido a poner huevos. En la naturaleza, el ciclo de vida se desarrolla en aproximadamente 63 días (Alcaíno 1985, Guglielmone et al. 2006b) en diferentes condiciones de temperatura (20°C a 35°C) y humedad relativa (35% a 95%) (Koch & Tuck 1986). Una hembra fecundada puede poner alrededor de 1500 a 4000 huevos y muere después de oviponerlos (Koch 1982). La incubación de los huevos es de 7 a 67 días (Alcaíno et al. 1990), la larva se alimenta entre 3 a 7 días, la ninfa entre 4 a 9 días y la hembra entre 6 a 50 días. Las larvas salen de los huevos en aproximadamente

21 días, aunque, dependiente de la temperatura, pueden tardarse meses en salir (O'Farril-Nieves 2005). En tanto que en condiciones de laboratorio se completa en 90 ± 12 días, bajo una temperatura óptima de $29 \pm 2^\circ\text{C}$, y una humedad relativa óptima de $80 \pm 5\%$ (Bechara et al. 1995). Si el ambiente es adverso, el ciclo de vida se prolonga por varios meses, durante los cuales la garrapata puede permanecer en estado de diapausa (Guglielmone et al. 2006b), extendiéndose a más de 900 días. Las larvas pueden sobrevivir sin alimentarse hasta 253 días; las ninfas hasta 183 días y los adultos sobreviven hasta 568 días, pudiendo exceder los 3 años, dependiendo de las condiciones climáticas (Alcaíno 1985, Hoskins 1991, López-Vélez & Molina 2005). En las regiones tropicales y subtropicales, esta especie puede ser encontrada durante todo el año (Braz et al. 2007), sin embargo en países con cuatro estaciones bien definidas son más abundantes en primavera y verano, lo que coincide con las temperaturas más altas (Debárbora et al. 2011).

Importancia en salud animal y pública

Rhipicephalus sanguineus, además del daño que ocasiona por sí misma, tiene una gran importancia médica, ya que es un excelente vector biológico y mecánico de bacterias, protozoos y nemátodos, algunos potencialmente patógenos para el hombre, considerado un hospedador alternativo. En este sentido, existe discusión sobre el porcentaje de incidencia de *R. sanguineus* en el hombre (Estrada-Peña & Jongejan 1999). En Chile, se determinó que el 2,2 % de los casos de picaduras de artrópodos en humanos era debido a *R. sanguineus*, que a su vez, causaba ocasionalmente una dermatitis pruriginosa severa en los niños (Schenone 1996). Algunos de los patógenos transmitidos por esta garrapata pueden producir enfermedad en los perros como: *Babesia canis vogeli*, *B. gibsoni*, *Hepatozoon canis*, *Acanthocheilonema dracunculoides*, *Cercopithifilaria bainaie*, *Cercopithifilaria grassii*, pero no afectar al humano (Uilenberg et al. 1989, Baneth et al. 2007, Dantas-Torres 2008). Mientras que otros, además de afectar al perro, son potencialmente patógenos para el humano, son el caso de: *Coxiella burnetii*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Leishmania infantum*, *Rickettsia conorii*, *R. rickettsii*, *R. massiliae* y *R. felis*

(Dantas-Torres 2008, Abarca et al. 2008, Labruna et al. 2011, Dantas-Torres et al. 2012, Abarca et al. 2013). En Chile se ha identificado a *R. felis* desde *R. sanguineus* s. l. procedentes de Arica y Angol (Abarca et al. 2013), también se ha identificado a *A. platys* en perros de la región Metropolitana y *E. canis* en perros de Arica, indicando a *R. sanguineus* s. l. como potencial vector, pero esto no ha sido corroborado (Abarca et al. 2007, López et al. 2012).

Estudios recientes han demostrado que las distintas poblaciones de *R. sanguineus* a través del mundo presentan diferencias en la capacidad vector, por ejemplo en *R. sanguineus* clasificadas como linaje Templado se ha detectado la presencia *H. canis*, mientras que en el linaje Tropical no existen registros (Demoner et al. 2013, Latrofa et al. 2014). También se ha observado que *R. sanguineus* procedentes del linaje Templado no son vectores competentes de *E. canis*, mientras que las precedentes al linaje Tropical si lo son (Moraes-Filho et al. 2012).

Los sectores de la población más afectados o susceptibles de ser infestados por garrapatas son los de escasos recursos, ya que por su condición de pobreza, la mantención de los perros dentro del hogar es poco frecuente y la mayoría de ellos circula libremente por las calles o terrenos que se encuentran infestados permanentemente con larvas, ninfas o adultos que se suben o bajan de sus cuerpos (Alcaíno et al. 1990).

Conclusión

Rhipicephalus sanguineus s. s. presenta una historia complicada, debido a que forma parte de un complejo de especies que incluye especies crípticas. Pese a que se han realizado varios estudios morfológicos, biológicos y genéticos aún no se logra redescubrir la especie y otorgar caracteres diagnósticos que ayuden a identificarla con certeza. Esto último recobra importancia debido a que una correcta identificación podría ayudar a definir el rol vector que tiene esta garrapata a través de su distribución. Para el caso específico de Chile, pese a que se reconoce a esta garrapata como un parásito común en perros, se desconoce su distribución exacta en el territorio nacional y características biológicas, morfológicas y genéticas que ayuden a su correcta identificación.

Agradecimientos

Proyecto DIUC 212.113.081-10, Universidad de Concepción.

Referencias

- Abarca K, López J, Perret C, Guerrero J, Godoy P, Veloz A, Valiente-Echeverría F, León U, Gutjahr C, Azócar T. *Anaplasma platys* in Dogs, Chile. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13: 1392-1395.
- Abarca K, López J, González P, Dabanch J, Torres M, Solari V, Perret C. Evidencia seroepidemiológica de exposición humana a *Anaplasma* sp. en Santiago, Chile. *Rev Chil Infectol.* 2008; 25: 358-361.
- Abarca K, López J, Acosta-Jamett G, Martínez-Valdebenito C. *Rickettsia felis* in *Rhipicephalus sanguineus* from two distant Chilean cities. *Vector-Borne Zoo Dis.* 2013; 13. DOI: 10.1089/vbz.2012.1201
- Alcaíno H, Gorma T, Jiménez F. Ecología de *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae) en la Región Metropolitana de Chile. *Arch Med Vet.* 1990; 22: 159-168.
- Alcaíno H. Antecedentes sobre la Garrapata café del perro (*Rhipicephalus sanguineus*). *Monografías Med Vet.* 1985; 7: 48-55.
- Aragao H. Ixodidas brasileiros e de alguns paizes limitrophes. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1936; 31: 759-845.
- Baker AS. Mites and ticks of domestic animals. An identification guide and information source. The Natural History Museum. The Stationary office, London, 1999.
- Beati L, Keirans JE. Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. *J. Parasitol.* 2001; 87: 32-48.
- Baneth G, Samish M, Shkap V. Life cycle of Hepatozoon canis (Apicomplexa: Adelorina: Hepatozoidae) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). *J Parasitol.* 2007; 93: 283-299.
- Braz CC, Nogueira I, Ferreira V, Coelho GF, Borguez L, Ferreira LM. Seasonal dynamics of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in dogs from a police unit in Goiânia, Goiás, Brazil. *Ciência Rural.* 2007; 37: 464-469.

- Burlini L, Teixeira KRS, Szabó MPJ, Famadas KM. Molecular dissimilarities of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Brazil and its relation with samples throughout the world: is there a geographical pattern?. *Exp Appl Acarol.* 2010; 50: 361-374.
- Dantas-Torres F. Biology and ecology of the Brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasit Vectors.* 2010; 26: 1-11.
- Dantas-Torres F. The Brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. *Vet Parasitol.* 2008; 152: 173-186.
- Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends Parasitol.* 2012; 28: 437-446.
- Dantas-Torres F, Latrofa MS, Annoscia G, Gianelli A, Parisi A, Otranto D. Morphological and genetic diversity of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato from the New and Old Worlds. *Parasit Vectors.* 2013; 6: 213.
- Dantas-Torres F, Otranto D. Further thoughts on the taxonomy and vector role of *Rhipicephalus sanguineus* group ticks. *Vet Parasitol.* 2015; 208: 9-13
- Debárbora VN, Oscherov EB, Guglielmone AA, Nava S. Garrapatas (Acari: Ixodidae) asociadas a perros en diferentes ambientes de la provincia de Corrientes, Argentina. *Investigación Veterinaria.* 2011; 13: 45-51.
- Demoner LC, Rubini AS, Paduan KS, Metzger B, de Paula Antunes JM, Martins TF, Mathias MI, O'Dwyer LH. Investigation of tick vectors of *Hepatozoon canis* in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2013; 4: 542-546
- Estrada-Peña A, Jongejan F. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Exp Appl Acarol.* 1999; 23: 685-715.
- Fletcher CH. Ácaros de importancia médico-veterinaria. Nobel, Sao Paulo, 1973.
- González-Acuña D, Venzal JM, Guglielmone AA. Primer registro de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) en *Rattus norvegicus* (Mammalia: Rodentia) en Chile. *Gayana.* 2003; 67: 120-121.
- González-Acuña D. El conejo (*Oryctolagus cuniculus*, Mammalia: Lagomorpha) como hospedador de la Garrapata Café del Perro (*Rhipicephalus sanguineus*, Acari: Ixodidae). *Ciencia Ahora.* 2004; 7: 100- 103.
- González-Acuña D, Valenzuela G, Moreno L, Ardiles K, Guglielmone AA. Nuevos hospedadores para las garrapatas *Amblyomma tigrinum* y *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) en Chile. *Arch Med Vet.* 2006; 38: 273-275
- González-Acuña D, Moreno L, Hermosilla C. Parásitos en perros de San Juan Bautista, Isla Robinson Crusoe, Chile. *Arch Med Vet.* 2008; 40: 193-195.
- Guglielmone AA, Beati L, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Nava S, Venzal JM, Mangold AJ, Szabó MPJ, Martins JR, González-Acuña D, Estrada-Peña A. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Exp Appl Acarol.* 2006a; 40:83-100.
- Guglielmone AA, Szabó MPJ, de Souza R, Estrada-Peña A. Diversidade e importancia de carrapatos na sanidade animal. Capítulo 7. 115-118 pp. En: Barros-Battesti, D.M., Arzua, M. & Bechara, G.H. 2006. Carrapatos de Importancia Médico-veterinária da Região Neotropical. Um guia ilustrado para identificação de especies. São Paulo: ICTTD-3/Butantan, 2006b.
- Guglielmone AA, Estrada-Peña A, Keirans JE, Robbins RG. Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic Region. Special publication of the International Consortium on Ticks and Tick-Borne Diseases-2. Atalanta, Houten, The Netherlands, 2003.
- Hoskins JD. Ixodid and Argasid Ticks, Keys to Their Identification. *Vet Clin N Am-Small* 1991; 21: 185-97.
- Koch CL. Systematische Übersicht über die Ordnung der Zecken. *Arch Naturgesch.* 1844; 10: 217-239.
- Koch CL. Übersicht des Arachnidensystems. Nürnberg. 1847; 4: 136.
- Koch HG. Oviposition of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) in the laboratory. *Ann Entomol Soc Am.* 1982; 75: 583-586.
- Koch HG, Tuck MD. Molting and Survival of the Brown Dog Tick (Acari: Ixodidae) under Different Temperatures and Humidities. *An Entomol Soc Am.* 1986; 79: 11-14.
- Latrofa MS, Dantas-Torres F, Giannelli A, Otranto D. Molecular detection of tick-borne pathogens in *Rhipicephalus sanguineus* group ticks. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014; 5: 943-946.
- Latreille PA. Genera crustaceorum et insectorum secundum ordinem naturalem in familia disposita, iconibus exemplisque plurimis explicata. Paris et Argentorati 1806; 1: 302.

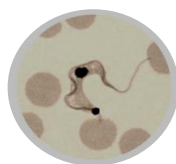
- Levin ML, Studer E, Killmaster L, Zemtsova G, Mumcuoglu KY. Crossbreeding between different geographical populations of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarol.* 2012; 58: 51-68.
- López-Vélez R, Molina R. Cambio climático en España y riesgo de enfermedades infecciosas y parasitarias transmitidas por artrópodos y roedores. *Rev Esp Salud Pública.* 2005; 79: 177-190.
- López J, Abarca K, Mundaca I, Caballero C, Valiente-Echeverría F. Identificación molecular de *Ehrlichia canis* en un canino de la ciudad de Arica. *Rev Chilena Infectol.* 2012; 2: 2-2.
- Moraes-Filho J, Marcili A, Nieri-Bastos FA, Richtzenhain LJ, Labruna MB. Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. *Acta Trop.* 2010; 117: 51-55.
- Moraes-Filho J, Marcili A, Nieri-Bastos F, Richtzenhain LJ, Labruna MB. Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. *Act Trop* 2011; 117: 51-55.
- Moraes-Filho J, Soares JF, Labruna MB. Study on the Vector competence for *Ehrlichia canis* of four Neotropical populations of *Rhipicephalus sanguineus*. FAMERP-UTMB: Emerging Infections in the Americas? Common Interests and Collaboration Between Brazil and USA Sociedade de Medicina e Cirurgia, São José do Rio Preto, Brazil, 2012.
- Muñoz LE, Casanueva ME. Estado actual del conocimiento de las Garrapatas (Acari: Ixodida) asociadas a *Canis familiaris* L. *Gayana.* 2001; 65: 1-15.
- Muñoz MJ. Análisis morfométrico de poblaciones de *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) a través de su distribución en Chile. Memoria de título para optar al Título de Biólogo, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, 2014.
- Nava S, Guglielmone AA, Mangold AJ. An overview of systematics and evolution of ticks. *Front Biosci.* 2009; 14: 2857-2877.
- Nava S, Mastropaolo M, Venzal JM, Mangold AJ, Guglielmone AA. Mitochondrial DNA analysis of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) in the Southern Cone of South America. *Vet Parasitol.* 2012; 190: 547-555.
- Nava S, Estrada-Peña A, Petney T, Beati L, Labruna M, Szabó MPJ, Venzal JM, Mastropaolo M, Mangold AJ, Guglielmone AA. The taxonomic status of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). *Vet Parasitol.* 2015; 28: 2-8.
- Oliveira PR, Bechara GH, Denardi SE, Saito CS, Nunes ET, Szabó MPJ, Camargo Mathias MI. Comparison of the external morphology of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil and Argentina. *Vet Parasitol.* 2005; 129: 139-147.
- Pegram RG, Keirans JE, Clifford CM, Walker JB. Clarification of the *Rhipicephalus sanguineus* group (Acari, Ixodoidea, Ixodidae). II. *R. sanguineus* (Latreille, 1806) and related species. *Syst Parasitol.* 1987; 10: 27-44.
- Schenone H. Diagnósticos hechos a 1384 pacientes que consultaron por probable mordedura de arañas o picaduras de insectos. *Bol Chil Parasitol.* 1996; 51: 20-27.
- Szabó MP, Mangold AJ, Joao CF, Bechara GH, Guglielmone AA. Biological and DNA evidence of two dissimilar populations of the *Rhipicephalus sanguineus* tick group (Acari: Ixodidae) in South America. *Vet Parasitol.* 2005; 10: 131-40.
- Tagle I. Presencia accidental de *Rhipicephalus sanguineus* en un perro de Santiago de Chile. *Agricultura Técnica (Chile).* 1976; 96: 137.
- Uilenberg G, Franssen FFJ, Perie M, Spanjer AMM: Three groups of *Babesia canis* distinguished and a proposal for nomenclature. *Vet Q.* 1989; 11: 33-40.
- Walker JB, Keirans JE, Horak IG. The Genus *Rhipicephalus* (Acari: Ixodidae): A Guide to the Brown Ticks of the World. Cambridge University Press, Cambridge, 2000.

V Reunión Nacional Integrada Prevención y Control de la enfermedad de Chagas

VI Simposio Internacional sobre la enfermedad de Chagas

Salón Lorenzo Sazié
Facultad de Medicina. Universidad de Chile
Santiago de Chile

13 al 15 julio 2015



Trypanosoma cruzi

LIBRO DE RESÚMENES



Mepraia gajardoi



Triatoma infestans



Mepraia spinolai

Estudio preliminar de modelación de la enfermedad de chagas: transmisión vectorial y congénita

MAURICIO CANALS^{1,2}, DANTE CÁCERES¹, SERGIO ALVARADO¹, LUIS GUTIERREZ¹, ANDREA CANALS & PEDRO E. CATTAN³

- ¹ Programa de Salud Ambiental, Instituto de Salud Poblacional, Escuela de Salud Pública Salvador Allende G. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- ² Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile E-mail: mcanals@uchile.cl
- ³ Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

La enfermedad de Chagas sigue siendo altamente prevalente en Chile, especialmente entre las regiones de Arica y Parinacota y de Coquimbo, con una incidencia de alrededor de 11/100000habs y una mortalidad de 0,3-0,4/100000habs. Desde 1999 se considera que en Chile se encuentra interrumpida la transmisión vectorial. Bajo esta premisa, la dinámica epidemiológica y los mapas de riesgo de esta enfermedad se debieran estar modificando. En el marco de un proyecto que pretende analizar la dinámica de la enfermedad de Chagas y construir mapas de riesgo de la enfermedad constatando el cambio desde una transmisión vectorial a congénita, en este trabajo modelamos preliminarmente la dinámica epidemiológica de esta enfermedad. Basados en los modelos previos de Canals & Cattan (1992) de transmisión vectorial y de Raimundo et al. (2010) de transmisión congénita, proponemos un modelo que incluye ambas formas de transmisión y realizamos simulaciones. Mostramos que la transmisión congénita es “alimentada” por la transmisión vectorial y que sin ésta la enfermedad de Chagas congénita debiera decrecer exponencialmente hasta desaparecer. Así de no existir transmisión vertical desde hace más de 15 años, no debieran existir seropositivos menores que esa edad y no debieran producirse casos congénitos o ser muy escasos. El decrecimiento del Chagas congénito dependerá de un parámetro relacionado con la tasa de mortalidad, la edad en que las mujeres comienzan su actividad sexual, la proporción de mujeres y la proporción de niños tratados precozmente.

PROYECTO FONDECYT 1150514

***T. Cruzi* induce la secreción de citoquinas Pro-inflamatorias mediadas por la activación de receptores tipo *toll* en explantes de vellosidades coriónicas placentarias humanas**

LORENA MUÑOZ¹, CHRISTIAN CASTILLO¹, ILEANA CARRILLO¹, DANIEL DROGUETT¹, ANA LIEM-PI¹, ANDREA SALINAS¹, JAVIER ASTUDILLO¹, JUAN DIEGO MAYA¹, NORBEL GALANTI¹, ULRIKE KEMMERLING²

¹ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

² Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile. ukemmerling@u.uchile.cl

Introducción: La enfermedad de Chagas, causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), es una de las enfermedades parasitarias más importante en América Latina en términos de morbilidad y costos económicos asociados. La transmisión congénita de la enfermedad de Chagas es responsable de uno de cada tres nuevos casos al año. La probabilidad de la transmisión vertical está determinada por la compleja interacción de factores parasitarios, la inmunidad materno-fetal y la placenta, siendo el último componente el menos estudiado. Los receptores tipo *Toll* (TLR), expresados también en la placenta, son capaces de reconocer patrones moleculares específicos del parásito y su activación determina, entre otros procesos, la producción de citoquinas y quimioquinas importantes en la respuesta inmune ante patógenos. Sin embargo, su posible rol en la inmunidad local ante la infección congénita por *T. cruzi* no ha sido estudiado.

Objetivo: Estudiar el efecto de la infección *ex vivo* con tripomastigotes de *T. cruzi* en explantes de vellosidades coriónicas placentarias humanas (HPCVE) sobre la activación de los receptores tipo *Toll* así como el perfil de secreción de citoquinas.

Material y Método: Se aislaron HPCVE de 0,5 cm³ a partir de placentas obtenidas en partos por cesárea sin patologías asociadas. Los HPCVE fueron infectados con 10⁴ o 10⁵ tripomastigotes (cepa Y) por 2 horas. La expresión de TLR 2, 4 y 9 fue analizada mediante Western Blot y los perfiles de citoquinas secretados mediante ELISA, utilizando kits comerciales según las instrucciones del fabricante (Il-1-B KHC0012, Il-4 KHC0041, IL-6 KHC0062, IL-8 KHC0082, IL-10 KHC0102, IFN- KH414101, IFN- KHC4022, TNF- KHC3012, Life Technologies®).

Resultados: *T. cruzi* induce aumento en la expresión de TLR-2 (1,9 veces respecto al control con 10⁴ parásitos y 2,6 veces con 10⁵ parásitos), TLR-4 (1,16 y 1,54 veces con 10⁴ y 10⁵ parásitos respectivamente), TLR-9 (1,44 veces ante 10⁴ parásitos). Adicionalmente, el parásito induce la secreción de citoquinas pro-inflamatorias. Así, se observa una marcada secreción de TNF- α , IL-1 β , IFN- γ e IL-6. Además, se observa un aumento de la secreción de citoquinas inmuno-reguladoras como, IL4 e IL10 y de quimioquinas (CXCL8/IL-8).

Conclusiones: Los receptores tipo *Toll* 2, 4 y 9, presentes en trofoblasto, son capaces de reconocer a tripomastigotes de *T. cruzi*, activando la respuesta inmune inflamatoria local mediante la secreción de citoquinas pro-inflamatorias, así como también de citoquinas inmunomoduladoras, sugiriendo que la placenta participa activamente en la respuesta inmune innata ante la presencia de *T. cruzi*.

Financiamiento Proyectos: FONDECYT 1120230 (UK), 1130113 (NG), 1130189 (JM), ERANET-LAC ELAC2014/HID-0328

Distribución de genotipos de *trypanosoma cruzi* en micromamíferos naturalmente infectados de la zona Centro-norte de Chile

EDUARDO COSTOYA¹, ANTONELLA BACIGALUPO¹, CAMILA IHLE¹, ALDO SOLARI², PEDRO E. CATTAN¹

¹ Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.

² Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina Norte. Universidad de Chile.

Introducción: Las poblaciones del parásito *Trypanosoma cruzi* poseen una estructura heterogénea compuesta por diferentes genotipos, los cuales circulan tanto en el ciclo doméstico como el silvestre, involucrando seres humanos, reservorios mamíferos y vectores. Se han descrito genotipos pertenecientes a seis subdivisiones genéticas o linajes: TcI a TcVI, con distintas características clínicas y eco-geográficas.

Objetivo: Analizar la distribución de genotipos de *T. cruzi* en reservorios mamíferos naturalmente infectados de la zona centro-norte de Chile.

Material y Método: Se analizaron 164 muestras confirmadas como positivas para ADN kinetoplastídico de *T. cruzi*, pertenecientes a 9 especies de micromamíferos (*Abrocoma bennetti*, *Abrothrix longipilis*, *Abrothrix olivaceus*, *Octodon* sp., *Oligoryzomys longicaudatus*, *Phyllotis darwini*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* y *Thylamys elegans*) provenientes de 6 localidades de la zona centro-norte de Chile. Se utilizó la técnica de DNA blot con hibridación para la detección de la región hipervariable de los minicírculos del kinetoplasto de *T. cruzi* a través de sondas específicas marcadas para los linajes TcI, TcII, TcV y TcVI. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para comparar la proporción de infecciones simples y mixtas según especie y según localidad.

Resultados: *Octodon* sp. y *P. darwini* fueron las especies más abundantes en el estudio, con un 85% de muestras positivas a la hibridación. TcI resultó ser el linaje predominante en la mayoría de las especies de micromamíferos y en todas las localidades, seguido de TcII, TcVI y TcV. No hubo diferencias significativas en la proporción de linajes presentes entre especies de micromamíferos. La localidad de Til-Til, en la Región Metropolitana, tuvo un mayor número de hibridaciones positivas con mayor proporción de linajes presentes respecto a las otras localidades (TcI Fisher $p = 0,01$; TcII Fisher $p = 0,012$; TcV Fisher $p = 0,008$; TcVI Fisher $p = 0,043$) y mayor cantidad de infecciones mixtas dobles (Fisher, $p = 0,027$) y cuádruples (Fisher $p < 0,001$).

Conclusiones: Este estudio confirma la presencia de los linajes TcI, TcII, TcV y TcVI en micromamíferos de la zona centro-norte de Chile. *Octodon* sp. y *P. darwini* destacan como aquellos reservorios con mayor variedad de genotipos detectados, especialmente en la localidad de Til-Til, donde es posible que se produzcan condiciones más favorables para la transmisión o mantención de los linajes de *T. cruzi*, por su clima templado cálido con lluvias invernales.

Proyectos FONDECYT 1140650 y 1120122

Cardiomiopatía chagásica crónica: estudio de la infección por TcI y niveles de parasitemia

MUÑOZ CATALINA, APT WERNER Y ZULANTAY INÉS

Laboratorio Parasitología Básico-Clínico, ICBM, Facultad de Medicina. Universidad de Chile

La cardiomiopatía chagásica crónica (CCC) es la manifestación más frecuente y grave de la enfermedad de Chagas, sin embargo, no sabemos aún por qué algunos individuos se mantienen en período indeterminado y otros pasan a la forma determinada cardíaca. El protozooario *Trypanosoma cruzi*, posee una estructura de población compleja, con seis grandes linajes evolutivos (Unidades Discretas de Tipificación o DTUs) denominadas TcI-TcVI. Debido a que existen diferencias biológicas importantes entre estos linajes, los métodos de caracterización de cepas son esenciales para estudiar esta especie. Algunos autores de Colombia y Venezuela han evidenciado una mayor asociación de TcI con las manifestaciones de la CCC. Por otra parte, las parasitemias en los individuos infectados por *T. cruzi* son bajas y fluctuantes y un aumento de los niveles de parásitos en la sangre podría estar relacionado con un mayor daño a los tejidos.

Este estudio se centró en la detección de TcI a través de un ensayo alternativo de genotipificación con PCR tiempo real (qPCR) y en la evaluación de los niveles de parasitemia de *T. cruzi* para determinar su posible asociación con la presentación de la CCC en Chile. Para esto se diseñaron novedosos oligonucleótidos dirigidos al gen que codifica una desaturasa de esteroides C-5 putativa. Para estandarizar la técnica se utilizaron cepas y clones de referencia. Los individuos chagásicos crónicos (total = 58) fueron clasificados por la presencia (grupo 1 = 25) o ausencia (grupo 2 = 33) de CCC a través de trazado electrocardiográfico y Eco-Doppler. El ADN de las muestras fue extraído a través de un protocolo modificado y se evaluó fluorométricamente. Como control interno se utilizó la amplificación de una región del cromosoma 12 humano. Para evaluar la parasitemia en las muestras se utilizó la amplificación a través de qPCR de una región conservada del ADN satelital de *T. cruzi* y se realizó un análisis estadístico con la prueba de Mann Whitney.

La cantidad de parásitos de los individuos de ambos grupos fluctuó entre 73 y 0 parásitos/ml, con un promedio de 18 y 17 parásitos/ml en el grupo 1 y 2 respectivamente, sin encontrarse una asociación con la CCC ($p=0,2003$). Con qPCR fue posible detectar hasta 10 parásitos TcI/ml, no encontrándose la presencia de esta DTU en las muestras clínicas analizadas.

Se concluye que qPCR permite la detección de TcI en muestras con baja cantidad de parásitos, sin embargo, no se encuentra evidencia que TcI o los niveles de parasitemia tengan relación con la presentación de la CCC en individuos chilenos.

Financiamiento: Proyectos Fondecyt 1100768-1120382,
Becario Conicyt 21110865

Distribución espacial y estructura etaria de *mepraia spinolai*

ALEJANDRA SANDOVAL-RODRÍGUEZ¹, ANTONELLA BACIGALUPO², JUANA P. CORREA¹, ANDRÉS ROJAS², M. VICTORIA BARRERA², ANDREA YAÑEZ-MEZA¹, ROCÍO A. CARES¹, MILDRED J. EHRENFELD¹, PEDRO E. CATTAN², CAREZZA BOTTO-MAHAN¹

¹ Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias.

² Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias; Universidad de Chile

Introducción: *Mepraia spinolai*, vector de la enfermedad de Chagas, se localiza en zonas silvestres y rurales entre las Regiones de Atacama y Metropolitana; sin embargo, reportes de su distribución actual son escasos. *Mepraia spinolai* es una especie endémica de Chile reportada como vector silvestre de *Trypanosoma cruzi*, alcanzando niveles de infección de hasta 76,1% en poblaciones del centro-norte de Chile. Tales niveles, sumados al incremento de la invasión a viviendas, hacen de *M. spinolai* una especie potencialmente peligrosa.

Objetivo: Describir la distribución espacial y estructura etaria de *M. spinolai* en distintas localidades de las Regiones de Atacama y Coquimbo.

Material y Método: Durante el verano 2014-2015, se capturaron triatominos de forma manual en la Región de Atacama y en la de Coquimbo; en esta última también se utilizaron trampas de levadura. Cada punto de avistamiento y/o captura (foco) fue georeferenciado. Se consideró como una población al conjunto de focos cercanos entre sí (distancia menor de 100 metros del foco más cercano). Los triatominos fueron separados según su estado de desarrollo mediante claves, para determinar la estructura etaria de cada población.

Resultados: Se detectaron 437 focos, agrupados en 60 poblaciones. Las poblaciones con mayor cantidad de individuos capturados se ubicaron en El Maitén, comuna de Monte Patria (método manual, n=365) y en Matancilla, comuna de Illapel (mediante trampas, n=357), ambas en la Región de Coquimbo. El número promedio (\pm desviación estándar) de individuos por población fue de $210,2 \pm 97,5$ mediante captura manual y de $31,9 \pm 71,4$ individuos mediante trapeo. Los triatominos se ubicaron tanto en sitios plenamente silvestres, incluyendo rodados de piedras y chaguales, como en áreas peridomésticas rurales, principalmente en pircas. Se observó un gradiente de abundancia mediante trapeo, aumentando hacia el sur de la región de Coquimbo. La distribución etaria se caracterizó por la predominancia de estadios ninfales, correspondiendo los adultos sólo a un 3,8% de los individuos capturados por ambos métodos (132 adultos/3489 total de capturas).

Conclusiones: En la región de Coquimbo hubo poblaciones de *M. spinolai* más abundantes, y su ubicación no se restringió a las áreas silvestres, pudiendo estar muy cercana a viviendas en zonas rurales, lo que hace patente el riesgo de transmisión de *T. cruzi* por este vector en zonas donde la transmisión por *Triatoma infestans* se encuentra interrumpida. La gran cantidad de ninfas puede indicar que en verano las poblaciones de *M. spinolai* están en el periodo de mayor reproducción. Considerando la capacidad de colonización de acúmulos de piedras que muestra esta especie, se recomienda evitar la utilización de pircas como estructura divisoria de predios, rellenar los intersticios de aquellas existentes, y que la construcción de viviendas se realice alejada de roqueríos, rodados y chaguales en las áreas rurales de la zona endémica.

Proyectos FONDECYT 1140521, 1140650, 3140543.

Inhibición de caspasa 8 incrementa la infectividad de *T. Cruzi* En la línea celular de trofoblasto humano (BeWo)

CARRILLO, ILEANA¹, CASTILLO, CHRISTIAN¹, DROGUETT, DANIEL^{1,2}, LIEMPI, ANA¹, MUÑOZ LORENA¹, ASTUDILLO JAVIER¹, SALINAS, ANDREA¹, MAYA JUAN DIEGO¹, GALANTI, NORBEL¹, KEMMERLING, ULRIKE¹

¹ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

² Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile.
ukemmerling@u.uchile.cl

La enfermedad de Chagas congénita, causada por el protozoo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) es responsable de uno de cada tres nuevos casos. El trofoblasto constituye una barrera física contra los patógenos y su recambio epitelial se considera parte de la respuesta inmune innata. Estudios previos han demostrado que *T. cruzi* induce proliferación, diferenciación y muerte celular tipo apoptosis en el trofoblasto, sugiriendo un aumento en el recambio epitelial. La caspasa 8 es una molécula fundamental tanto en el proceso de diferenciación como en muerte celular en el trofoblasto.

Para evaluar el efecto del parásito sobre la expresión y activación de la caspasa 8, así como también el efecto que provoca la inhibición de la caspasa 8 sobre la infectividad del parásito en una línea celular de trofoblasto humano (BeWo), se incubaron células BeWo con tripomastigotes de *T. cruzi* de la cepa Ypsilon (Y) en una relación célula:parásito de 1:0.1 y 1:1 y en presencia o ausencia de IETD-CHO (inhibidor de caspasa 8) por 48 horas. La expresión de la procaspasa 8 y su forma activa fueron determinados mediante Western Blot e Inmunofluorescencia. Los niveles de infección de parásitos en las células fueron determinados mediante RT-PCR.

Concentraciones altas de parásitos inducen tanto aumento en la expresión como clivaje de la caspasa 8, siendo este último disminuido en presencia del inhibidor. Interesantemente, células con parásitos intracelulares (amastigotes) muestran una clara inmunoreactividad para la proforma de caspasa 8. Finalmente, frente a la inhibición de la caspasa 8 se obtuvo un incremento en la infectividad del parásito.

A partir de estos resultados se concluye que *T. cruzi* induce aumento de la expresión y de la activación de caspasa 8 y en presencia del inhibidor de caspasa 8 aumenta su infectividad en una línea celular de trofoblasto humano (BeWo). Estos resultados confirman que el parásito induce el recambio epitelial del trofoblasto, el que podría formar parte de los mecanismos antiparasitarios locales de la placenta humana.

Financiamiento Proyectos: FONDECYT 1120230 (UK), 1130113 (NG), 1130189 (JM), ERANET-LAC ELAC2014/HID-0328.

***Trypanosoma cruzi* induce un aumento en la expresión de BOK En explantes placentarios de vellosidades coriónicas humanas**

DROGUETT DANIEL^{1,2}, CASTILLO CHRISTIAN¹, CARRILLO ILEANA¹, MUÑOZ LORENA¹, LIEMPI ANA¹, SALINAS ANDREA¹, ASTUDILLO JAVIER¹, MAYA JUAN DIEGO¹, GALANTI NORBEL¹, KEMMERLING ULRIKE¹

¹ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

² Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile.
ukemmerling@u.uchile.cl

Introducción: La enfermedad de Chagas congénita, causada por el protozoo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), constituye un problema de salud pública relevante en Chile y en el resto del mundo. Durante la transmisión congénita el parásito debe atravesar la barrera placentaria, cuyo primer tejido está formado por el trofoblasto. El trofoblasto es un epitelio bi-estratificado, que sufre recambio epitelial. Este recambio epitelial podría formar parte de posibles mecanismos antiparasitarios locales de la placenta humana. Hemos demostrado previamente, que *T. cruzi* induce proliferación, diferenciación y muerte celular tipo apoptosis (todos procesos celulares involucrados en el recambio epitelial) en el trofoblasto. Interesantemente, proteínas de la vía intrínseca de la apoptosis están implicadas también en la inducción de proliferación y diferenciación celular. Específicamente, BCL-2 ovarian killer (BOK), un miembro proapoptótico de la familia BCL-2, es capaz de inducir la proliferación celular en el trofoblasto al unirse a la ciclina E1 a nivel nuclear.

Objetivo: Determinar el efecto de la infección con *T. cruzi* sobre la expresión de BOK en explantes placentarios de vellosidades coriónicas humanas (HPCVE).

Material y Método: HPCVE fueron cultivados en presencia y ausencia de tripomastigotes de *T. cruzi* cepa Y (10^5 y 10^6 parásitos/ml) durante 24 y 48 horas. Se cuantificó la expresión de BOK mediante Western blotting e inmunohistoquímica. Los datos fueron analizados mediante el test ANOVA seguido del Test de Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados: Altas concentraciones de *T. cruzi* inducen un aumento significativo en los niveles de expresión de BOK a las 24 horas post-infección. No se encontraron diferencias significativas para las otras condiciones y tiempos ensayados.

Conclusiones: BOK podría estar involucrado en los posibles mecanismos antiparasitarios de la placenta humana.

Financiamiento Proyectos: FONDECYT 1120230 (UK), 1130113 (NG), 1130189 (JM), ERANET-LAC ELAC2014/HID-0328

Comparación de linajes de *trypanosoma cruzi* en *triatoma infestans* y *mepraia spinolai* de focos silvestres de Chile

IHLE CAMILA¹, ANTONELLA BACIGALUPO¹, COSTOYA EDUARDO¹, ALDO SOLARI², PEDRO E. CATTAN¹

¹ Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.

² Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.

Introducción: Todos los linajes de *Trypanosoma cruzi* producen enfermedad en humanos, pero la amplia variedad de cuadros clínicos de la enfermedad de Chagas se asociaría a la alta variabilidad genética del protozoo; además, ésta podría determinar su relación con vectores y reservorios, y modular el grado de resistencia a las drogas empleadas en el tratamiento de la enfermedad.

Objetivo: Comparar la frecuencia de los linajes de *Trypanosoma cruzi* presentes en triatominos de localidades de la Región de Coquimbo, Región de Valparaíso y Región Metropolitana de Chile.

Material y Método: En este estudio se analizaron 229 muestras correspondientes a *Triatoma infestans* (56,3%) y *Mepraia spinolai* (43,7%) silvestres infectados por este protozoo; *T. infestans* se capturó en Calera de Tango (RM) y Putaendo (V), y *M. spinolai* en Til-Til (RM), Putaendo y El Sobrante (V), Reserva Nacional Las Chinchillas y El Maqui (IV). Se utilizó la técnica de DNA blot y ensayos de hibridación, para la detección de la región hipervariable de los minicírculos del ADN kinetoplastídico de *T. cruzi*, a través de sondas específicas marcadas para los linajes TcI, TcII, TcV y TcVI. Se determinó si existían diferencias en la proporción de infección entre especies y en la proporción de infección entre localidades, utilizando la prueba exacta de Fisher.

Resultados: El linaje más abundante, tanto en infecciones mixtas como únicas, fue TcI (79,6% en *M. spinolai* y 81,5% en *T. infestans*), seguido, en el caso de *M. spinolai* de TcII (34,7%) y TcVI (10,2%). En *T. infestans*, en cambio, luego de TcI los linajes más abundantes fueron TcII (40%), seguido de TcV (36,9%) y TcVI (23%). El único linaje que mostró diferencias significativas entre ambas especies fue TcV (Fisher, $p < 0,0001$). El linaje TcVI se encontró en ambas especies, siempre formando parte de infecciones mixtas y asociado a TcI. Sólo se encontraron diferencias significativas en la presencia de infecciones cuádruples al comparar ambas especies, habiendo una mayor proporción en *T. infestans* (Fisher $p = 0,006$). El linaje TcV se observó exclusivamente en Calera de Tango, lo que arrojó una diferencia altamente significativa para este linaje (Fisher, $p < 0,0001$) respecto a las otras localidades. No hubo diferencias significativas al comparar los otros linajes entre localidades. No se encontraron diferencias entre localidades en la proporción de infecciones mixtas.

Conclusiones: TcI resultó el linaje más abundante en ambas especies de triatominos silvestres chilenos y en la mayoría de las localidades, por lo que sería el linaje con mayor probabilidad de transmisión a los mamíferos. En *T. infestans* se observó una mayor cantidad y variedad de infecciones mixtas; TcV sólo se detectó en esta especie en la localidad de Calera de Tango, a pesar de que ha sido reportado en otros estudios realizados en *M. spinolai*. *Triatoma infestans* tendría una mayor probabilidad de transmitir mayor variedad de linajes a las personas, debido a su frecuente aparición en viviendas humanas atraído por la luz.

Proyectos FONDECYT 1140650 y 1120122

Modelación del nicho ecológico de los insectos vectores De la enfermedad de chagas: *mepraia spinolai* y *mepraia gajardoi* (hemiptera: reduviidae)

GARRIDO RUBÉN, BACIGALUPO ANTONELLA, BUSTAMANTE RAMIRO, CATTAN PEDRO E.,
PEÑA-GÓMEZ FRANCISCO, BOTTO MAHAN CAREZZA

Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

El nicho ecológico es un concepto central en ecología, es definido como el conjunto de condiciones bióticas y abióticas en las cuales un individuo puede sobrevivir. Las variables del nicho tienen una expresión en el espacio geográfico determinando así la distribución espacial de las especies. El nicho se puede conservar, esto ocurre cuando las especies retienen sus requerimientos en el tiempo. Existen herramientas para modelar el nicho ecológico y así proyectar la distribución geográfica de una especie, e incluso para modelar enfermedades infecciosas. La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una enfermedad zoonótica causada por el parásito flagelado *Trypanosoma cruzi* que es transmitido por insectos vectores triatominos a mamíferos y viceversa. En Chile existen cuatro especies de triatominos: *Triatoma infestans*, *Mepraia spinolai*, *Mepraia gajardoi* y *Mepraia parapatrica*, siendo las tres últimas endémicas de Chile y únicas en su género.

En este estudio se modela el nicho ecológico de los insectos vectores silvestres de enfermedad de Chagas, *M. spinolai* y *M. gajardoi*, en su ciclo silvestre de transmisión.

Mepraia spinolai se distribuye desde la III a la VI región del país (26° a 33° S), en zonas semiáridas-Mediterráneas asociadas a canteras, grietas en rocas, nidos de aves y en madrigueras de mamíferos silvestres. Por su parte *Mepraia gajardoi* se distribuye en el sector costero de la I y II regiones del país (18° a 25° S) y su hábitat se limita a zonas costeras, principalmente asociado a nidos de aves marinas donde se registran temperaturas máximas de 29°C y mínimas de 1°C. Resultados preliminares indican que la distribución potencial de *M. gajardoi* ocupa zonas costeras de la primera y segunda región, además de pequeñas porciones de valles de interior. Por otro lado *M. spinolai* proyecta su distribución a valles de interior de la tercera a la sexta región, con alta probabilidad asociada, y a zonas costeras de la cuarta región.

La modelación de nicho de los insectos vectores silvestres de la enfermedad de Chagas en Chile proyecta su distribución al espacio geográfico, y de esta manera se pueden evaluar zonas de riesgo para las poblaciones humanas en zonas endémicas.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1140521 y 1140650

Tamizaje de chagas a embarazadas de atención primaria de salud

RIQUELME NEMORINO¹, MORAGA JUAN², CIFUENTES CAROLINA³

¹ Centro Atención Especialidades.

² Policlínico EERE, Hospital Juan Noé, Arica.

³ Servicio de Salud Arica.

Antecedentes: Creación del Policlínico de Enfermedades Emergentes y Remergentes (EERE), adosado al Centro de Atención de Especialidades del Hospital Regional Juan Noé Crevani. El Policlínico es financiado por convenio entre el Hospital y el Servicio de Salud desde al año 2010. Las principales patologías del Policlínico son: enfermedad de Chagas (ECh), Hepatitis B, C y HLTV. El Policlínico cuenta con los siguientes profesionales para la atención de la comunidad: dos médicos, un enfermero/a, un psicólogo, dos TENS y dos administrativos. El tamizaje en embarazadas se realiza desde junio 2012.

Objetivo General: Fortalecer la pesquisa por infección de *Trypanosoma cruzi* en grupo objetivos (embarazada, recién nacido).

Objetivos Específicos: Establecer flujogramas y protocolos para notificación de casos con serología positiva confirmada; realizar seguimiento a los recién nacidos de madres son exámenes positivos con ECh; realizar rescate, notificación, seguimiento, tratamiento y estudio epidemiológico de los contactos de las embarazadas con ECh.

Metodología: Solicitud de tamizaje (test de ELISA para ECh) por matrona de Atención Primaria de Salud (APS); la muestra es derivada al Banco de Sangre del Hospital, quien envía resultado al Policlínico EERE y APS; los resultados positivos son derivados al Policlínico EERE; primer control realizado por enfermera/o; segundo control realizado por médico; seguimiento a embarazadas hasta terminar período de lactancia para realizar tratamiento; seguimiento a recién nacido, según algoritmo de diagnóstico de la infección por *T. cruzi* en recién nacido, hijo de madre con ECh.

Resultados: En base en la implementación del tamizaje de ECh, en los Centros de Salud Familiar (CESFAM) de APS, desde el año 2012 se han pesquisado un total de 24 embarazadas infectadas por *T. cruzi*, de las cuales 8 corresponden a nacionalidad boliviana. 98,3% de las embarazadas atendidas en su primer control prenatal en los CESFAM, se les realizó tamizaje para ECh en el 2014.

Discusión: Contar con un Policlínico destinado a la atención de enfermedades emergentes y remergentes, nos permite tener un manejo y control de la población del sistema público que padece la ECh, mejorando de forma progresiva los flujos de referencia y contrareferencia en los niveles de atención. De esta manera optimizar los recursos y potenciar la pesquisa, el seguimiento, tratamiento y el estudio epidemiológico de los contactos de los usuarios que padecen enfermedades como emergente y reemergente.

Perfil epidemiológico de pacientes con enfermedad de chagas y evaluación de tratamiento antiparasitario en población del area Norte de Santiago

TAPIA RESTELLI ROSA, VARGAS CVITANIC, MÓNICA
Hospital San José, SSS Metropolitano Norte, Santiago de Chile

Antecedentes: La enfermedad de Chagas (ECh) se conoce desde hace 9000 años, en momias del norte de Chile. Se confirma la presencia de *Trypanosoma cruzi* por técnicas de biología molecular y de megacolon y cardiopatía chagásica. La tripanosomiasis americana o ECh fue descrita en 1909 en Minas de Gerais por el investigador Carlos Chagas. Es una enfermedad oportunista en inmunodeprimidos y crónica en inmunocompetentes que causa discapacidad en el 7-15% de los pacientes. Existe consenso hoy en día de que la ECh debe ser tratada con fármacos antiparasitarios en todos los estadios, excepto en el estado terminal, ya que la terapia aplicada puede modificar su evolución natural.

Objetivo General: Evaluación de la terapia antiparasitaria en ECh en el Hospital San José (HSJ).

Objetivos Específicos: Evaluar la terapia antiparasitaria con nifurtimox (NFX) en pacientes con ECh; descripción y cuantificación de Reacción Adversa a Medicamentos (RAM) a NFX en pacientes tratados; seguimiento de la terapia en pacientes chagásicos en Area Norte.

Metodología: Se realizó un seguimiento prospectivo de todos los pacientes atendidos en el Policlínico de ECh del HSJ desde el año 2011 a marzo 2015. Cada paciente fue atendido por el médico y el químico farmacéutico a cargo en donde se evaluó condición clínica basal (exámenes de laboratorio y ECG), inicio de terapia de tolerancia a NFX en dosis baja por una semana, posteriormente control médico e inicio de terapia ajustada a peso del paciente en control mensual, o más frecuente si fuese necesario y hasta el término del tratamiento (60 días). Además, al inicio del tratamiento al paciente se le entregó un tríptico informativo de las reacciones adversa del NFX e información general sobre ECh.

Resultados: Ingresaron al estudio un total de 36 pacientes derivados desde el Banco de Sangre en su gran mayoría, 17 varones y 19 mujeres; el promedio de edad de todos los pacientes fue de 45.4 +/- 15.1 años. El 96.1% de los pacientes reside en la zona norte de Santiago, principalmente Qulicura y Colina. Todos los pacientes que iniciaron terapia recibieron un tríptico informativo. El 75% (27), finalizó su tratamiento y de éstos, 3 presentaron RAM grave a NFX: dos un rash cutáneo maculopapular y el tercero una gastritis grave; en todos estos casos fue necesario la suspensión de la medicación y atención en un servicio de urgencia. Uno de los pacientes reinició terapia con itraconazol.

Discusión: Todos los pacientes atendidos estaban en la etapa crónica indeterminada. El 8.3% de los pacientes presentó RAM grave al NFX, valor un poco más alto que lo descrito en literatura (menos del 3%) y éstas fueron gastritis y rash cutáneo que sí están descritas para este fármaco. En cuanto a las variables edad, distribución por sexo y estadio de la enfermedad estudiadas en los pacientes atendidos en nuestro Policlínico de ECh, éstas coincidieron con las informadas en el perfil epidemiológico a nivel nacional para esta misma patología. Aproximadamente el 92% de los pacientes tratados toleró la terapia.

Características generales de pacientes controlados en el policlínico de enfermedad de chagas del Hospital San Juan de Dios de Santiago-Chile (2004-2014). Informe preliminar

M. INÉS BAHAMONDE¹, EDURNE URARTE², MARISOL DENEGRI², ESTEBAN HUME³, MAXIMILIANO LICANLEO³, BERNARDO INFANTE³, CAROLINA MACAYA², RENZO TASSARA², CRISTIAN IRIBARRÉN², RUBÉN MERCADO², M. ANGÉLICA MARTINEZ²

¹ Servicio de Pediatría, Hospital de la Serena.

² Unidad Docente de Parasitología, Departamento Pediatría Occidente; Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

³ Ayudantes alumnos de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Introducción: La enfermedad de Chagas (ECh) en Chile es endémica y se estima una población de infectados crónicos superior a 120.000 personas. La mayoría de los afectados, desconocen su condición de “Chagásicos” crónicos o portadores de *Trypanosoma cruzi*. En los últimos años, principalmente gracias al tamizaje infectológico en los Bancos de Sangre, destinado a evitar el mecanismo de infección transfusional, junto a la obligatoriedad de confirmar la positividad de las muestras y de comunicar esta condición a los afectados, derivándolos a instancias clínicas pertinentes, se ha detectado un creciente número de casos que ahora demandan control y manejo. **Objetivo:** Entregar información preliminar de las características de los pacientes infectados crónicos por *Trypanosoma cruzi*, controlados en el Policlínico de ECh del Hospital San Juan de Dios de Santiago, Chile. **Materiales y Métodos:** Se incluyó a todos los pacientes con serología positiva para ECh, confirmada en el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), derivados entre los años 2004 y 2014, al Policlínico de ECh del Centro de Diagnóstico y Terapéutica del Hospital San Juan de Dios (CDT-HSJD). Los pacientes fueron instruidos sobre su condición y la importancia de los controles periódicos. Se ofreció la posibilidad de tratamiento, dependiendo de las condiciones clínicas de los pacientes, con tope en una edad de 60 años. **Resultados:** Número total de pacientes: 385. Sexo: masculino 149 (38,7%), femenino 237 (61,3%). El 85% (n°=327) de los pacientes se encontraban entre los 25 y 60 años de edad. El 70% (n°=270) de ellos conocía al vector. Más del 70% (n°=270) tenía el antecedente de haber recibido transfusión sanguínea. Menos del 2% (n°=7) de ellos conocía la ECh por antecedentes familiares. Más de un 60% (n°=231) de los pacientes refieren síntomas digestivos y/o Cardiológicos. Un 37% (n°=142) refiere haber habitado una casa de adobe en su vida. **Discusión:** Pese a desconocer su condición, la mayoría tiene antecedentes de riesgo para haber adquirido la ECh. La gran mayoría de los pacientes se concentró sobre las 3 décadas de vida, lo que sugiere que todos podrían haber estado infectados ya por al menos 20-30 años. Sin embargo, los asintomáticos correspondían a un menor porcentaje. La alteración más frecuente atribuible a ECh, fue la del ECG, donde se observó bradicardia y bloqueos de rama en 16,5%. Cerca de un 30% de los pacientes habían donado sangre anteriormente, pero nunca se les había notificado sobre su condición de chagásicos. A los pacientes se les proporcionó educación sobre su condición. Estos han mantenido buena adherencia a los controles en el tiempo y varios (40%) han recibido tratamiento específico con Nifurtimox y un grupo mayor, seguimiento. Debemos resaltar la importancia en notificar su condición a las personas que resultan positivas en el tamizaje de Bancos de Sangre y en la detección de sus parientes infectados, para el estudio temprano y la educación de este grupo humano. Esto, especialmente para ofrecer tratamiento oportuno, además de educar y prevenir en aspectos como la constipación, el manejo precoz de las alteraciones digestivas y cardíacas y el estudio del Recién Nacido, hijo de madre portadora, contribuyendo así a mejorar la calidad de vida de este grupo, lo que debiera también favorecer sus expectativas de vida.

Evaluación de proliferación, viabilidad e infectividad epimastigotes y tripomastigotes de la cepa y de *trypanosoma cruzi* que sobreexpresan el dominante negativo de la endonucleasa APE1 humana (hAPE1DN)

VALENZUELA LUCÍA, SEPÚLVEDA SOFÍA, PONCE IVÁN, GALANTI NORBEL, CABRERA GONZALO

Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas,
Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Trypanosoma cruzi, agente etiológico de la enfermedad de Chagas, se encuentra sometido a estrés oxidativo durante su ciclo de vida. Para reparar el daño al DNA causado por especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS/RNS), el parásito utiliza, entre otros mecanismos, la vía de reparación por escisión de bases (BER). Una de las enzimas participantes de esta vía, es la endonucleasa apurínica/apirimidínica (AP) que ha sido identificada tanto en humanos como en el parásito. En humanos, esta proteína se denomina APE1 para la cual se ha generado un dominante negativo (APE1DN), capaz de inhibir la actividad de la enzima *wild type*. La secuencia codificante de APE1DN, obtenida por mutagénesis sitio dirigida, se insertó en el vector de expresión pTREX-*gfp* y luego se transfectó epimastigotes de la cepa Y. La diferenciación *in vitro* de epimastigotes a tripomastigotes que sobreexpresan APE1DN (tripos-APE1DN), se realizó mediante metaciclogénesis en medio TAU 3AAG. La sobreexpresión de la proteína fue verificada mediante microscopía de fluorescencia y ensayos de inmunofluorescencia. Se observó que la sobreexpresión de APE1DN se asocia a nivel nuclear del parásito. Se realizó una curva de proliferación utilizando epimastigotes que sobreexpresan APE1DN y se comparó con epimastigotes que sobreexpresan la endonucleasa TcAP1 con su respectivo dominante negativo (TcAP1DN) y se observó que aquellos parásitos que sobreexpresan APE1DN presentan menor viabilidad en comparación con el resto. Tripos-APE1DN se trataron utilizando H₂O₂, NOO- y un sistema de generación constante de H₂O₂ (sistema glucosa-glucosa oxidasa) evaluando tanto su viabilidad como su infectividad en cardiomiocitos. Se observó que tripos-APE1DN presentan menor viabilidad respecto al control frente a daño oxidativo pero, sorprendentemente, posee mejor infectividad que el control. Se concluye que la vía BER está involucrada no sólo en la proliferación y viabilidad de *T. cruzi* frente a daño oxidativo, sino también la infectividad de cardiomiocitos.

Financiamiento: Fondecyt 1130113 (NG)

Participación del residuo Thr¹³² de la histona H2A de *trypanosoma cruzi* en la sobrevida del parásito frente a daño oxidativo al DNA

PÉREZ CARLA, SEPÚLVEDA SOFÍA, VALENZUELA LUCIA, CABRERA GONZALO, GALANTI NORBEL

Programa de Biología Celular y Molecular. Instituto de Ciencias Biomédicas,
Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Trypanosoma cruzi, agente causal de la Enfermedad de Chagas, está expuesto a daño oxidativo del DNA durante todo su ciclo de vida, tanto dentro del hospedero mamífero como en el intestino del vector triatomo. En mamíferos se ha observado que una de las primeras respuestas frente al daño del DNA es la fosforilación del residuo Ser¹³⁹ de la histona H2AX (variante de la histona H2A canónica). Las histonas son proteínas altamente conservadas en eucariontes; sin embargo, en tripanosomátidos el grado de conservación es bajo. A pesar que en estos organismos no se han identificado genes ortólogos para la histona H2AX, en *Trypanosoma brucei* se ha detectado que la histona H2A canónica es fosforilada en el residuo Thr¹³⁰ como consecuencia de daño al DNA. En *T. cruzi* se determinó que la treonina fosforilable de H2A análoga a la de *T. brucei* correspondería al residuo Thr¹³². El objetivo de este trabajo es determinar la importancia de la fosforilación de este residuo en la sobrevida de *T. cruzi* frente al daño oxidativo del DNA.

Epimastigotes de la cepa CL Brener se transfectaron con el plasmidio pTREX-cmyc-h2a (sobreeexpresa la histona H2A silvestre, fosforilable) o con el plasmidio pTREX-cmyc-h2a-Thr¹³²Ala (sobreeexpresa la histona H2A mutada, no fosforilable). La expresión de ambas proteínas fue comprobada mediante ensayos de *Western blot* utilizando un anticuerpo anti-cMyc. Las histonas totales asociadas a la cromatina de los parásitos transfectados fueron aisladas, separadas electroforéticamente y mediante ensayos de *Western blot* se corroboró que las histonas sobreexpresadas (cMyc-H2A y cMyc-H2A-Thr¹³²Ala) se incorporan a la cromatina. Los parásitos transfectados fueron incubados con diferentes concentraciones de H₂O₂ durante 30 min o 4 hrs y su viabilidad se determinó con Alamar Blue (Invitrogen). Se observó que los epimastigotes que sobreexpresan la variante no fosforilable de la histona H2A (cMyc-H2A-Thr¹³²Ala) son más sensibles a H₂O₂ que aquellos parásitos que sobreexpresan la histona de fenotipo silvestre (cMyc-H2A).

Estos resultados demuestran que el residuo Thr¹³² de la histona H2A de *T. cruzi* es importante para la sobrevida del parásito sometido a estrés oxidativo, sugiriendo fuertemente que, al igual que para *T. brucei*, dicho residuo es fosforilado en respuesta a daño al DNA. Estudios posteriores apuntan a detectar la fosforilación del residuo Thr¹³² de H2A frente a agentes genotóxicos. Nuestros resultados abren el camino hacia una nueva línea de investigación en la búsqueda de posibles blancos terapéuticos para el tratamiento de la Enfermedad de Chagas.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1130113

Enfermedad de chagas crónica: tratamiento con nifurtimox

ZULANTAY INÉS, APT WERNER, SAAVEDRA MIGUEL, ARRIBADA ARTURO, ARAYA EDUARDO,
MARTÍNEZ GABRIELA, VALENZUELA RENZO, VARGAS JULIO, GAMBI GIANCARLA,
RODRÍGUEZ JORGE

Laboratorio de Parasitología Básico-Clínico. Programa de Biología Celular y Molecular. ICBM.
Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Clínica INDISA. Escuela de Salud Pública.
Facultad de Medicina. Universidad de Chile

Este estudio ha permitido evaluar, aplicando diversos criterios de evaluación, la eficacia del tratamiento con Nifurtimox (NFX) en la enfermedad de Chagas (ECh) crónica en seguimiento prolongado. De un total de 226 pacientes evaluados, 157 (69.5%) cumplieron con los requisitos clínicos, serológicos, parasitológicos y electrocardiográficos de inclusión y de seguimiento prolongado post-terapia; 16 (7,1%) fueron tratados por los médicos locales sin contar con el perfil pre-terapia completo, no obstante fueron incorporados a nuestro estudio de seguimiento; en 38 pacientes (16,8%) los médicos tratantes tuvieron que suspender la terapia por efectos adversos del fármaco y 15 pacientes tratados (6,6%) abandonaron el estudio en la etapa de seguimiento post-terapia. El diseño muestral del proyecto “antes-después en comparación con grupo control”, contemplaba el tratamiento de 100 individuos con ECh crónica pre y post-terapia bajo Consentimiento Informado, no obstante se logró controlar a 173 pacientes. El objetivo específico de esta presentación es determinar la utilidad del xenodiagnóstico (XD), PCR convencional en sangre periférica (PCR-S) y PCR en deyecciones de triatomos alimentados sobre pacientes con ECh crónica (PCR-XD) en comparación con PCR cuantitativo, como criterio de evaluación de eficacia quimioterapéutica. Para ello, se determinó la condición parasitológica en pre y post-terapia con NFX de 104/157 pacientes, mediante las técnicas de XD, PCR-XD y PCR-S. Se analizaron los resultados de cada examen por separado y en conjunto, y se aplicó test de McNemar para evaluar los cambios en las respuestas luego de administrado el tratamiento. Los porcentajes de negativización para XD, PCR-XD y PCR-S fueron de 100%, 26,8% y 54% respectivamente. Solo 13 pacientes presentaron simultáneamente resultados negativos en las tres técnicas parasitológicas luego de aplicado el tratamiento, lo que corresponde a un 13.7%. La negativización de las pruebas cualitativas fue estadísticamente significativa para PCR-S ($p=0.015$) y PCR-XD ($p=0,05$). Al analizar los resultados de las tres pruebas simultáneamente, se observó que no existieron diferencias en las respuestas ($p=0.38$). Los resultados cualitativos fueron comparados con PCR Tiempo Real (qPCR), en 100/104 casos antes y después de seguimiento prolongado. Se pudo observar que el 65% de los casos disminuyó su carga parasitaria, incluidas altas parasitemias pre-terapia como 65.000 par/ml a 0.11 par/ml al término del período de seguimiento, 27% aumentó su carga parasitaria con un máximo de 13 parásitos/ml al final del período de seguimiento y 8 casos la mantuvo (incluidos 7 casos No Ct), es decir, sin parasitemia detectable en pre/post-terapia. Se concluye que la interpretación de los resultados cualitativos, en comparación con los cuantitativos (qPCR), permite inferir la relevancia de cuantificar la carga por *T. cruzi* en condiciones de post-terapia. En cuanto a la eficacia de NFX, los resultados de qPCR parecen ser auspiciosos. Se requiere confirmar estas observaciones realizando seguimiento post-terapia prolongado en los pacientes tratados.

Financiamiento: Proyectos Fondecyt 1100768 y 1120382

Cardiopatía chagásica crónica: clasificación según NYHA y resultados de PCR convencional

SAAVEDRA MIGUEL¹, APT WERNER¹, ZULANTAY INÉS¹, ARRIBADA ARTURO², TORO BRUNO³, VEGA BASTIÁN³

- ¹ Laboratorio de Parasitología Básico-Clinico, Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile
- ² Clínica INDISA, Santiago, Chile.
- ³ Ayudantes Alumnos de Parasitología. Escuela de Medicina. Universidad de Chile..

En Chile la cardiopatía chagásica crónica (CCC) es la manifestación más grave y frecuente de la Enfermedad de Chagas crónica (EChc). Presentándose en alrededor de un 30% de los pacientes. Las arritmias auriculares, ventriculares y bradicardias son las alteraciones más frecuentes. El electrocardiograma (ECG) es el elemento fundamental de diagnóstico de la CCC y de acuerdo a sus resultados, la CCC se clasifica en 4 grados según los criterios de la New York Heart Association (NYHA). Por otro lado, las técnicas de diagnóstico molecular como PCR permiten determinar si existe o no parasitemia de *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), el agente etiológico de la EChc. El objetivo de este estudio fue comparar los grados de cardiopatía según la clasificación NYHA, en dos grupos de individuos con CCC, 50 individuos con PCR positivo (Grupo A) y otros 50 individuos con PCR negativo (Grupo B). Los individuos procedían de las comunas de Illapel, Salamanca y Combarbalá, Región de Coquimbo, Chile. Siendo confirmada la ECh mediante serología convencional para *T. cruzi*. Ellos aceptaron bajo Consentimiento Informado participar en la investigación, realizándoseles ECG de 12 derivaciones y toma de muestra de sangre venosa para PCR. Los resultados del ECG fueron analizados por cardiólogo especialista en cardiopatía chagásica, de acuerdo a los criterios internacionales establecidos. En tanto el PCR se realizó en el Laboratorio de Parasitología Básico-Clinico de la Universidad de Chile, utilizando los partidores kinetoplastídicos 121-122. En el Grupo A 34 eran mujeres y 16 hombres, 24 de ellos (48%) presentan grado I y 26 (52%) grado II según NYHA, en el Grupo B 38 eran mujeres y 12 hombres, 20 de ellos (40%) presentan grado I y 30 (60%) grado II según NYHA. No existiendo diferencia estadísticamente significativa entre los grados de cardiopatía entre ambos grupos ($p=0,27$). Las alteraciones electrocardiográficas aisladas más frecuentes, tanto en el Grupo A como el B fueron la bradicardia sinusal (BS), hemibloqueo anterior izquierdo (HBAI), QTc prolongado (QTc). Por otro lado en el Grupo A, se presentaron un mayor número de alteraciones combinadas en el ECG que en el grupo B, 16 versus 9 alteraciones. Los resultados señalan que, independiente del resultado de PCR que representa la parasitemia en los individuos con EChc, la cardiopatía no presenta diferencia entre los grados de la NYHA en la CCC.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1120382

Curso “Introducción a la ecoepidemiología espacial”

Dr. David Gorla

19-21 de Octubre

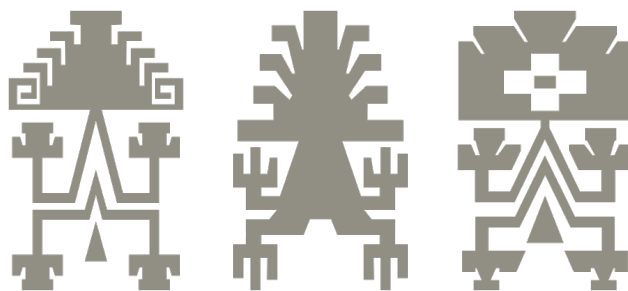
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias

Universidad de Chile

Santiago de Chile

**XXIV Congreso
Latinoamericano de Parasitología**

FLAP 2017



www.sociedadchilenaparasitologia.cl

www.parasitologia.cl

REVISTA

PARASITOLOGÍA LATINOAMERICANA



Órgano Oficial de la Federación
Latinoamericana de Parasitólogos