

REVISTA

PARASITOLOGÍA

LATINOAMERICANA

Vol. 64/ Nº 3 - DICIEMBRE 2015

Versión: ISSN: 0719-6326

Artículos originales

- La variación del nicho ecológico de *Triatoma infestans* en el Gran Chaco Americano
- Ecología de los triatomíneos silvestres endémicos de Chile
- Biogeografía histórica del vector endémico de la enfermedad de Chagas en Chile (*Mepraia*)
- Focos silvestres de *Triatoma infestans* en Latinoamérica: análisis y perspectivas para Chile
- Densidad relativa de *Mepraia spinolai* (Triatominae) y su frecuencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en Chile
- Detección de *Trypanosoma cruzi* en deyecciones de *Triatoma infestans*, mediante PCR tiempo final y tiempo real

Nota taxonómica

- *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) en Chile: antecedentes distribucionales y epidemiológicos



REVISTA

PARASITOLOGÍA LATINOAMERICANA

Volumen 64 N° 3-2015

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

Terapias anti-parasitarias contra enfermedades olvidadas

Tres destacados parasitólogos fueron galardonados con el Premio Nobel de Medicina 2015. **Dr. William Campbell** y **Dr. Satoshi Omura** descubrieron el fármaco *ivermectina* para el tratamiento de la filariasis y de algunos artrópodos. La filariasis linfática (*elefantiasis*) originada por *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*; la *oncocercosis* (ceguera de los ríos) originada por *Onchocerca volvulus* y la filariasis de cavidades originada por *Mansonella perstans* y *Mansonella ozzardi*. La filariasis linfática afecta a cerca de 120 millones de personas de 80 países, especialmente de Asia y África. Las otras filariasis comprometen a millones de personas de África, Asia y América Central. En la actualidad, se ha demostrado que la Ivermectina es efectiva contra el parásito de la sarna, *Sarcoptes scabiei* y la pediculosis por *Pediculus humanus var capitis, corporis* y *Phthirus pubis*.

La **Dra. Youyou Tu**, investigó la acción de la *artemisina* obtenida de una planta ancestral de la China, *Artemisia annua*, ha permitido el tratamiento eficaz de los casos de malaria graves por *Plasmodium falciparum* que actualmente origina cerca de 500 mil muertes al año, especialmente de niños en África.

Para la Parasitología chilena, la Sociedad Chilena de Parasitología, la Federación Latinoamericana de Parasitología, la Federación Mundial de Parasitólogos y los investigadores en general, es un honor que este premio se haya otorgado a tres investigadores que han trabajado en el tratamiento de parasitosis olvidadas y devastadoras que afectan a millones de personas.

Dr Werner Apt W. Presidente de la FLAP y de la Sociedad Chilena de Parasitología

Les saluda cordialmente,

Mauricio Canals Lambarri

M.D., PhD

Editor

Parasitología Latinoamericana.

La variación del nicho ecológico de *Triatoma infestans* en el Gran Chaco Americano

DAVID E GORLA. ¹

¹ Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal. CONICET - Universidad Nacional de Córdoba.
Velez Sársfield 299.5000 Córdoba, Argentina.

Correspondencia:
Email: david.gorla@conicet.gov.ar

Summary

Triatoma infestans is the main vector of *Trypanosoma cruzi* (causal agent of Chagas disease) in the southern cone countries of South America, although its geographic distribution reduced 90% after the joint effect of vector control programmes and a number of socio-economic factors that operated in the area during the last 60 years. The objective of this article is to compare at a macro scale the ecological niche of *T. infestans* where it still persists colonising rural houses with the one that once occupied but it is not present any more, all within the Gran Chaco Americano. The analysis was carried out using data on environmental variables produced by remote sensors and present in the Worldclim database, on temperature and precipitation. The approach of species distribution modelling using a generalized linear model was used, together with a method of niche comparison that estimate niche overlap, equivalency and similarity. Results show that present and past niches are equivalent, with very few differences in similarities. The niche that currently occupies *T. infestans* remains similar along the axis of climate variability and low temperatures, but it is reduced along the axis defined by precipitation and high temperatures, towards areas with less rainfall and warmer.

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

Introducción

Los triatomíneos son los vectores que en Latinoamérica primero suscitaron el interés de ecólogos animales. Posiblemente los primeros estudios que apuntaron a conocer características de la ecología poblacional de los triatomíneos fueron los de Rabinovich hacia inicios de la década de 1970, cuando publicó un conjunto de artículos que reportaban acerca de la ecología poblacional de parasitoides de triatomíneos y sobre los estadísticos vitales de *Triatoma infestans* bajo condiciones de laboratorio (Rabinovich 1972, Rabinovich 1970, entre otros). Hacia la década de 1980, los estudios de Schofield en Brasil reportaron acerca de la variación temporal de la abundancia de poblaciones de *T. infestans* en cerrado brasileño y dieron inicio a la exploración de los factores que regulaban la abundancia poblacional. Aproximadamente por la misma época, Brewer y colaboradores estudiaban parasitoides oófagos de Triatominae en el centro de Argentina y exploraron las posibilidades de utilizarlos como agentes de control biológico. Aún cuando encontraron 7 especies de parasitoides oófagos de Triatominae, estudios experimentales bajo condiciones de terreno mostraron que no tenían una elevada eficacia, más allá de producir un 36%

de parasitismo sobre *Triatoma delponte* en nidos de *Myopsitta monachus* (Brewer et al 1978, Brewer et al 1980, Brewer et al 1984). Sobre *T. infestans* mostraron menor eficacia de parasitoidismo. Los estudios de Gorla, Schofield y colaboradores hacia el sur del Gran Chaco Americano (norte de la provincia de Córdoba) pusieron a prueba hipótesis acerca de factores de regulación de la abundancia poblacional de *T. infestans*, en estudios experimentales bajo condiciones climáticas naturales (Gorla 1991, 1992, Gorla & Schofield 1985). Los estudios mostraron que la accesibilidad a la fuente de sangre era el principal factor de regulación de la abundancia poblacional y produjeron uno de los primeros modelos que integraba efectos dependientes e independientes de la densidad para describir la variación temporal de la abundancia de *T. infestans* bajo condiciones climáticas naturales. En paralelo, en Santiago del Estero, Gurtler y colaboradores realizaron un conjunto numeroso de estudios que apuntó a comprender los factores que determinaban la abundancia de *T. infestans* y la transmisión de *T. cruzi* en viviendas de comunidades rurales de Amamá y áreas vecinas (Cohen & Gurtler 2001, Gurtler et al 2007). En línea con los principales desarrollos de la ecología de poblaciones animales, los mencionados estudios apuntaron a comprender cómo y qué factores eran responsables de la variación temporal de la abundancia de *T.*

infestans en el área central de Argentina, y cómo tales variaciones podían interactuar con las intervenciones de control vectorial. Hacia fines de 1990 comenzaron los estudios para entender la variación espacial de triatomínos, especialmente de la distribución geográfica de *T. infestans* y otras especies de triatomínos, acompañando el desarrollo de herramientas metodológicas y el facilitado acceso a datos sobre variables ambientales a partir de productos de sensores remotos, analizados con sistemas de información geográfica. La expansión del conocimiento de la componente espacial de la ecología poblacional de *T. infestans* acompañó al desarrollo de los nuevos enfoques acerca del análisis de nicho ecológico (Soberón & Nakamura 2009) en el contexto de los estudios sobre efecto del cambio climático sobre la distribución de especies y las invasiones biológicas (por ejemplo Pearson & Dawson 2003, Peterson & Viegals 2001). Así, el eventual efecto del aumento de la temperatura sobre las poblaciones de *T. infestans* en Argentina fue analizada por Gorla et al (1997). La distribución geográfica a escala continental y la distribución de la prevalencia de infestación de viviendas rurales por *T. infestans* a meso y micro escala fueron analizadas usando información de variables ambientales producidas por sensores remotos (Gorla 2002) y usando herramientas de estadística espacial (Cecere et al 2004, Gorla et al 2009, Porcasi et al 2006).

Existe una buena cantidad de evidencias que indican que la original distribución de *T. infestans* estaba confinada a uno o dos áreas en los valles interandinos de Bolivia y en la región ecotonal entre la región chaqueña con la del altiplano boliviano (Bargues et al. 2006, Panzera et al. 2004). Aunque existen discusiones acerca de la ubicación y número de centros de dispersión, está ampliamente aceptado que *T. infestans* colonizó la región del Cono Sur en un período reciente, relativamente corto, y asociado a las rutas comerciales del imperio Inca primero y de españoles y portugueses más tarde. Una evidencia fuerte del carácter alóctono de la especie en buena parte del Cono Sur, la constituye el éxito con que la especie fue eliminada en casi el 90% del área que su distribución alcanzó, probablemente hacia la década de 1960, y la dificultad para controlarla (lejos del concepto de eliminación) en cercanías de la putativa área de su dispersión, en parte de los valles interandinos bolivianos y del Gran Chaco Americano (Gorla 2002, Schofield et al. 2006).

En el presente trabajo se comparan las condiciones de temperatura y precipitaciones de áreas dentro del Gran Chaco Americano en las que aún persisten poblaciones de *T. infestans* en viviendas rurales con áreas en las que hasta fines de 2000 poblaciones de *T. infestans* estuvieron presentes en viviendas rurales y representaban áreas de elevada endemicidad para la enfermedad de Chagas.

Métodos

El área correspondiente al Gran Chaco Americano se dividió en dos sub-áreas (Fig. 1).

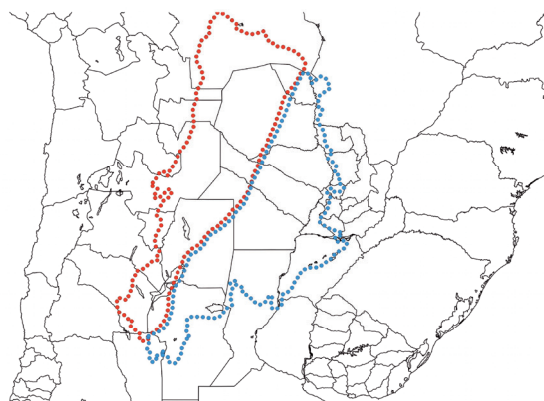


Figura 1. El área del Gran Chaco Americano fue dividido en 2 sub-áreas, una hacia el noroeste donde aún persisten poblaciones de *T. infestans* colonizando viviendas rurales y otra hacia el sureste, donde en el pasado hubo poblaciones abundantes de *T. infestans* pero desde aproximadamente 2000 fueron eliminadas o fuertemente reducidas.

La primera corresponde al área, donde desde 2000 las poblaciones domésticas de *T. infestans* que infestaban viviendas rurales fueron eliminadas o fuertemente reducidas. La segunda corresponde al área donde poblaciones de *T. infestans* aún persisten infestando viviendas rurales. El primer área corresponde principalmente al Chaco húmedo y el segundo al Chaco árido o semiárido. La división de áreas se realizó tomando en cuenta la ubicación de las unidades administrativas de nivel 2 (departamentos provinciales en Argentina, provincias dentro de departamentos en Bolivia) que fueron certificadas por la Organización Panamericana de la Salud como áreas en las que estaba interrumpida la transmisión vectorial de *Trypanosoma cruzi* por *T. infestans*.

Definidas las áreas donde *T. infestans* fue eliminado (o fuertemente reducido) y donde

la especie aún está presente en abundancia, se realizó un análisis comparativo de las condiciones ambientales a macro-escala entre ambas áreas. Para ello se usaron datos de temperatura de día y de noche, precipitaciones mensuales promedio obtenidas a partir de un conjunto de 1000 pares coordinados seleccionados aleatoriamente dentro de cada una de las 2 áreas (Fig. 1).

Usando los 1000 pares coordinados se extrajeron valores de 19 variables ambientales derivadas de temperatura y precipitación a partir de la base de datos Worldclim (descripción de las variables en Tabla 1 y en www.worldclim.org) y a partir de la temperatura de superficie diurna (LSTd) y nocturna (LSTn). La base de datos Worldclim (desarrollada por (Hijmans et al. 2005)), tiene formato de grilla con resolución espacial de 1 x 1 km y representa valores interpolados de temperatura y precipitación registradas por estaciones meteorológicas a nivel de terreno entre 1950 y 2000. Las estimaciones de LST (día y noche) fueron obtenidas a partir de productos derivados de un análisis temporal de Fourier de imágenes del sensor MODIS disponibles cada 8 días con resolución espacial de 1x1 kms. En total se usaron 59 variables ambientales para los análisis (19 de Worldclim, 28 del análisis temporal de Fourier y 12 para precipitaciones mensuales).

El análisis comparativo de las dos áreas mencionadas arriba se realizó usando tres aproximaciones. La primera fue la de una descripción basada en estadísticos descriptivos básicos, la segunda usó el modelado de la distribución geográfica con un modelo lineal generalizado con link binomial (asignando valor 1 para presencias en el área actual y 0 para las presencias en el área oriental del Gran Chaco). Para el ajuste del modelo se usaron las mismas 59 variables ambientales mencionadas arriba, cuyos valores fueron extraídos con un muestreo aleatorio de 1000 puntos para cada una de las dos áreas. La colinearidad entre variables ambientales fue evaluada calculando los factores de inflación de varianza (vif) (usando la función vif del paquete car de R). Las variables permanecieron en el modelo si su vif <= 10. Para la evaluación del modelo se calculó el área bajo la curva de operación del receptor, estimando el AUC parcial usando el paquete pROC de R, que toma en cuenta la crítica de (Lobo et al. 2008).

	Ausencia		Presencia	
	Min - Max	Me	Q1-Q3	Me
LSTd				
A0	22.1 - 31.2	27.2	26.4-28.1	27.9
A1	5.3 - 10.5	7.3	6.4-10.5	7.8
A2	0.8 - 0.6	1.5	1.3-6	1.8
A3	0.0 - 0.8	0.3	0.2 - 0.4	0.3
DA	69 - 92	81	78 - 86	86
MN	12.6 - 22.4	18.9	17.6 - 19.8	18.6
MX	28.2 - 41.6	33.3	32.1 - 35.1	35.2
P1	0.0 - 12	11.6	11.5 - 11.7	11.4
P2	2.1 - 4.4	2.9	2.7 - 3.2	3.2
P3	0.1 - 3.8	1.4	1.1 - 1.7	1.8
VR	20 - 65	35	28 - 44	37
LSTn				
A0	8.4 - 18.8	15.5	14.3-16.5	16.5
A1	4.4 - 9.5	6.6	5.9-9.5	6.8
A2	0.1 - 1.6	0.8	0.6-1.6	1.2
A3	0.0 - 0.8	0.4	0.2 - 0.5	0.4
DA	65 - 92	80	76 - 85	82
MN	0.1 - 14.2	8.6	6.4 - 10.5	8.7
MX	16 - 23.7	21.9	21.1 - 22.4	22.8
P1	0.0 - 0.4	0.4	0.3 - 0.6	0.3
P2	0.5 - 3.3	2.4	2.2 - 2.6	2.7
P3	0.1 - 3.9	2.5	2.3 - 2.7	2.4
VR	16 - 50	28	23 - 33	29
Bio6	0.3 - 11.9	8.2	6.2 - 9.5	7.1
Bio7	21.9 - 30.3	26.6	24.7 - 28.3	27.5
Bio11	7.6 - 18.0	15.7	14.3 - 16.6	15.3
Bio12	519 - 1419	914	751 - 1089	621
Bio19	21 - 80	72	45 - 101	20
Prec3	63 - 162	131	110 - 140	95
Prec9	13 - 89	36	23 - 51	13

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de las variantes ambientales usadas en el análisis de nicho para las áreas donde aún persisten poblaciones de *T. infestans* (Presencia) o no (Ausencia), dentro del Gran Chaco Americano. Min-Max: Mínimo-Máximo; Me: Mediana; Q1-Q3: cuantiles 1 y 3; LSTd y LSTn: temperatura de superficie de día y noche; A0 valor medio de la serie; A1, A2, A3: amplitud de los armónicos anual, 2-anual y 3-anual; DA: varianza debido a los 3 primeros armónicos; MN y MX: Mínimos y Máximos de la serie; P1, P2, P3: fases de los armónicos anual, 2-anual y 3 anual; VR: varianza de la serie; Bio6: temperatura mínima del mes más frío; Bio7: rango anual de temperatura; Bio11: temperatura mínima del cuatrimestre más frío; Bio12: precipitación anual; Bio19: precipitación del mes más frío; Prec3 y Prec9: precipitación del mes de Marzo y Septiembre. Temperatura en °C, precipitación en mm.

La última aproximación usó un método de comparación de nicho usando el índice de Schoener de solapamiento de nicho (D), que varía entre 0-1 (sin solapamiento e idéntico nicho, respectivamente), y usado para calcular tests de equivalencia y similitud. El análisis siguió la propuesta de (Broennimann et al. 2012), que usa un método de ordenamiento (PCA-env) para estimar solapamiento de nicho. Para el test de equivalencia de nicho, las 2000 ocurrencias obtenidas (1000 para Chaco árido, 1000 para Chaco húmedo) fueron agrupadas y aleatoriamente divididas en dos grupos de 1000 puntos. A partir de estos datos se calculó el estadístico D de solapamiento de nicho. El proceso fue repetido 100 veces y se construyó un histograma de frecuencias con los valores de D así simulados. Si el valor observado de D cae dentro de la densidad del 95% de los valores simulados, la hipótesis nula de equivalencia de nicho no puede ser rechazada.

Para el test de similitud de nicho se intercambi6 aleatoriamente el conjunto de ocurrencias observadas en uno de los rangos y se calcul6 el solapamiento del nicho simulado con el nicho observado en el otro rango. El test de similitud de nicho se bas6 en 100 repeticiones. Si el solapamiento observado es mayor que 95% de los valores simulados, la entidad ocupa ambientes en ambos rangos que son m6s similares entre s6 que lo que hubiera podido esperarse por azar. Todos los c6lculos fueron realizados usando el script de R producido por Broennimann et al (2012), apropiadamente modificado.

Resultados

El an6lisis descriptivo para las variables ambientales (Tabla 1) muestra que la mayor6a de las variables ambientales tiene valores similares en las dos 6reas consideradas, aunque la temperatura de superficie m6xima y promedio (d6a y noche) es levemente superior, en tanto que varios indicadores de precipitaci6n muestra menor precipitaci6n en el 6rea actualmente ocupada por *T. infestans*.

El an6lisis de la distribuci6n de las poblaciones de *T. infestans* contrastando las condiciones ambientales del 6rea actual con el 6rea que hist6ricamente ocup6 en la regi6n oriental del Gran Chaco, mostr6 que el modelo lineal generalizado construido con el promedio, la amplitud de ciclo bianual, la fase del ciclo bianual y la varianza de la temperatura de superficie diaria, la m6xima temperatura del mes m6s c6ldo (Bio5) y la lluvia ca6da en julio fue capaz de describir adecuadamente las distribuciones. El modelo mostr6 elevado ajuste con un AUC= 0.98 y un R² aproximado de 0.71 Tabla 2, Fig. 3.

	Coef. Estimado	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercepto)	-2.209e+02	1.982e+01	-11.146	< 2e-16 ***
LSTda0	1.696e-02	1.480e-03	11.462	< 2e-16 ***
LSTda2	1.946e-02	6.051e-03	3.216	0.0013 **
LSTdp1	-6.499e-03	8.014e-04	-8.109	5.08e-16 ***
LSTdvr	-1.169e-01	7.850e-03	-14.891	< 2e-16 ***
Bio5	-5.192e-02	7.066e-03	-7.348	2.01e-13 ***
Prec7	-5.529e-01	3.226e-02	-17.139	< 2e-16 ***

Devianza nula : 2771.20, 1998 grados de libertad
 Devianza Residual: 812.37, 1992 grados de libertad

Tabla 2. Variables ambientales seleccionadas por el modelo lineal generalizado con link binominal para describir la actual y la hist6rica distribuci6n de poblaciones *T. infestans* en la Regi6n del Gran Chaco Americano. LSTd: temperatura de superficie estimada por el sensor MODIS; A0: valor promedio; A2: amplitud del ciclo bianual; P1: fase de ciclo anual; VR: varianza; Bio5: temperatura m6xima del mes m6s c6ldo; Prec7: precipitaci6n media del mes de Julio.

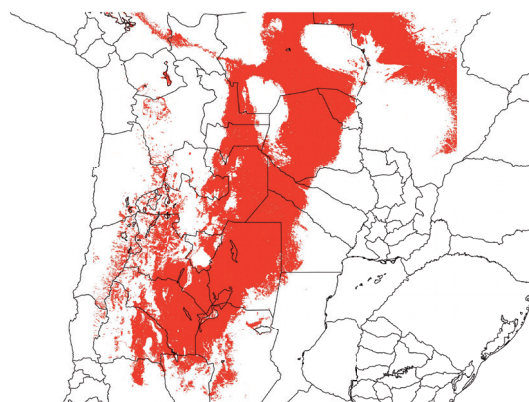


Figura 3. Identificaci6n del 6rea del Gran Chaco con variables ambientales similares a la de la actualmente ocupada por *T. infestans*, estimada por el modelo lineal generalizado usando 5 variables ambientales (ver Tabla 2).

El an6lisis PCA mostr6 que los dos primeros componentes explicaron 39.1% y 27.4%, respectivamente.

El primer componente refleja el efecto negativo de la variabilidad anual de la temperatura (amplitud del ciclo anual, rango anual y varianza anual) y positivos de la temperatura y precipitaci6n en los per6odos m6s fr6os del a6o (temperatura m6nima del mes y cuatrimestre m6s fr6os y precipitaci6n del cuatrimestre m6s fr6o). El segundo componente refleja el efecto negativo de las precipitaciones (promedio anual, lluvias de Septiembre y de Marzo) y positivo de la temperatura (principalmente promedio y m6nima anual). La Fig. 2 muestra que el rango de nicho ocupado en el eje del PCA1 es similar en 6reas con y sin *T. infestans*, pero el rango de nicho ocupado en el eje PCA2 es diferente, con un rango de valores m6s estrecho aunque m6s altos que los correspondientes al eje PCA2 en 6reas del chaco h6medo. Esto indica que el 6rea m6s apropiada para la persistencia de *T. infestans* est6 asociada a regiones 6ridas, c6ldas y con baja precipitaci6n. El espacio que hab6a ocupado *T. infestans* en 6reas m6s h6medas y fr6as sugiere que la especie expandi6 su nicho, ya sea porque se adapt6 a 6reas m6s h6medas y/o porque encontr6 micro-ambientes que ofrec6an condiciones semejantes a las regiones 6ridas, a6n dentro de regiones h6medas.

La comparaci6n de nichos definidos por las variables ambientales consideradas en este an6lisis entre el que actualmente ocupa *T. infestans*,

comparado con el que ocupaba en la región del chaco húmedo muestra que los nichos son equivalentes (e.g. no tienen diferencia significativa). La estimación de superposición de nicho fue $D = 0.26$. La similitud entre el nicho ocupado actualmente por *T. infestans* no difirió significativamente del nicho que había sido ocupado por *T. infestans* ($p = 0.36$), aunque la comparación en el sentido inverso se mostró marginalmente significativa ($p = 0.04$) (ver Fig. 2).

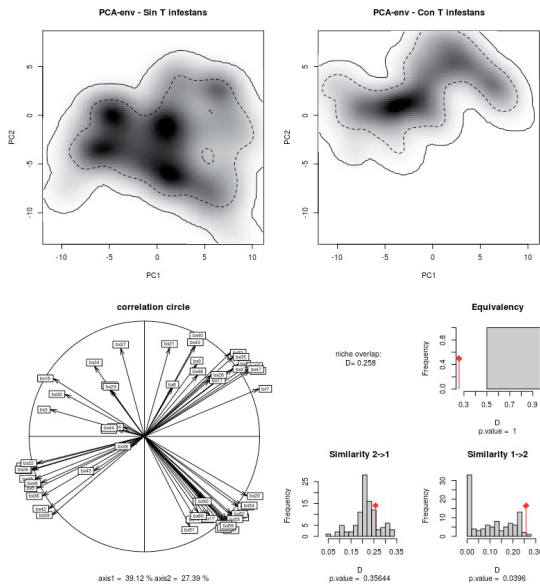


Figura 2. Resumen de la comparación de nichos ocupados por *T. infestans* actualmente y en el pasado. En la parte superior se muestran los espacios ambientales del Gran Chaco Americano definido por los dos primeros componentes principales que actualmente ocupa y ocupó en el pasado *T. infestans* (PCA-env con y sin *T. infestans*, respectivamente). Abajo a la izquierda el círculo de correlaciones para los dos primeros componentes principales, con las 58 variables usadas en el análisis. Abajo a la derecha, los resultados de los tests de Equivalencia y Similitud.

Discusión

El proceso de expansión y retracción de la distribución geográfica de *T. infestans* sobre el Cono Sur de Sud América ha sido bien documentado. La reconstrucción histórica realizada con marcadores moleculares (Pérez et al. 2011) sugiere la existencia de dos eventos de migración independientes, que habrían dado por un lado origen a las poblaciones de *T. infestans* que actualmente ocupan la región

del Chaco árido y por otro a las poblaciones de *T. infestans* que alguna vez ocuparon el área del Chaco húmedo. A mayor escala, los estudios de (Bargues et al. 2005, Panzera et al. 2004) mostraron las vías de colonización que el vector recorrió para llegar hasta el noreste de Brasil. La retracción de la distribución geográfica de *T. infestans* quedó documentada por los registros de los programas de control de los países del Cono Sur de Sud América, que regularmente informaron al INCOSUR, programa coordinado por la Organización Panamericana de la Salud (www.paho.org). Las evidencias sugieren que la expansión estuvo asociada con la instalación de las rutas de colonización y de comercialización del imperio Inca primero y de españoles y portugueses más tarde. La retracción se asoció a la acción de los programas de control vectorial de países del Cono Sur, especialmente desde la creación del INCOSUR. Además del efecto de los programas de control vectorial, otros factores convergentes seguramente influyeron sobre la reducción del área ocupada por *T. infestans*. La migración rural – urbana, que en grandes áreas agrícolas de Argentina y Brasil inició hacia la década de 1950 redujo fuertemente el número de viviendas rurales con características apropiadas para la instalación de abundantes poblaciones de *T. infestans*. Una segunda migración rural-urbana inició hacia fines de 1980 causada por la producción de soja, esta vez desde áreas históricamente de elevada endemicidad para la enfermedad de Chagas. El desarrollo de nuevas variedades de soja pudieran explotarse en regiones semiáridas y la tecnología de siembra directa permitió que áreas semiáridas fueran incorporadas a la producción agropecuaria (Aizen et al. 2009, Dougnac 2004), produciendo una nueva disminución del número de viviendas rurales apropiadas para la instalación de *T. infestans* (Hoyos et al. 2012, Moreno et al. 2012). En este contexto subregional, la distribución geográfica de *T. infestans* continúa reduciéndose y ocupando (al menos dentro de Argentina) la región árida del Gran Chaco, menos adecuada desde el punto de vista económico para la producción agropecuaria y donde los programas de control vectorial coordinados por agencias provinciales de salud mostraron históricamente serios problemas para sostener activos sistemas de vigilancia.

El análisis realizado a macro-escala en este trabajo mostró que el nicho ecológico de *T. infestans* en el Gran Chaco se está reduciendo en el eje definido

principalmente por las precipitaciones y temperaturas anuales. Específicamente, está reduciendo el espacio ocupado por áreas con mayores precipitaciones y permaneciendo en áreas con mayor temperatura, especialmente en los períodos más fríos. El cálculo de solapamiento de los nichos mostró que el actual nicho ocupado por *T. infestans* no tiene diferencias significativas con el nicho que la especie ocupaba en áreas del Chaco húmedo.

Agradecimientos

DEG es Investigador principal del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) de Argentina.

Referencias

- Bacigalupo A, Segura JA, García A, Hidalgo J, Galuppo S, Cattán PE. 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.
- Bacigalupo A, Torres-Pérez F, Segovia V, García A, Correa JP, Moreno L, et al. Sylvatic foci of the Chagas disease vector *Triatoma infestans* in Chile: description of a new focus and challenges for control programs. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2010; 105(5): 633-641.
- Boletín ISP. 2014. Vigilancia de Enfermedad de Chagas 2005 – 2013: Componente vectorial. Vol.4, No.6. Junio. Disponible http://www.ispch.cl/sites/default/files/Chagas%2023-06-2014_0.pdf
- Canals M, Solís R, Tapia C, Ehrenfeld M, Cattán, P.E. Comparison of some behavioral and physiological feeding parameters of *Triatoma infestans* Klug, 1834 and *Mepraia spinolai* Porter, 1934, vectors of Chagas Disease in Chile. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 1999; 94(5): 587-692.
- Carcavallo RU, Curto de Casas SI, Sherlock IA, Girón IG, Jurberg J, Galvao C, et al. Geographical distribution and alti-latitudinal dispersion. En: Carcavallo RU, Girón IG, Jurberg J, Lent H. Editores. Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas, vol. 3. Rio de Janeiro. Editora FIOCRUZ; 1999. p. 747– 792.
- Ceballos LA, Piccinali RV, Berkunsky I, Kitron U, Gürtler RE. First finding of melanic sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) colonies in the Argentine Chaco. *J. Med. Entomol*. 2009; 46: 1195-1202.
- González CR, Reyes C, Canals A, Parra A, Muñoz X, Rodríguez K. An entomological and seroepidemiological study of the vectorial-transmission risk of Chagas disease in the coast of northern Chile. *Med. Vet. Entomol*. 2015; 29(4): 387-392.
- Jercic MI, González CR, Oyarce A, Cancino B, Mac-Lean M. La enfermedad de Chagas en Chile: componente vectorial y serología en menores de 5 años durante el periodo 2005-2010. *El Vigía* 2012; 13(27): 7- 11.
- Lorca M, García A, Bahamonde MI, Fritz A, Tassara R. Certificación serológica de la interrupción de la transmisión vectorial de la Enfermedad de Chagas en Chile. *Rev. médica de Chile* 2001; 129(3): 264-269
- Ministerio de Salud Chile. 2011. Departamento de Epidemiología. Circular B 51/17 de Vigilancia de Enfermedad De Chagas.
- Ministerio de Salud de Chile, 2014. Departamento de Enfermedades Transmisibles. Norma General Técnica: Control y prevención nacional de la Enfermedad de Chagas. Febrero 2014. Disponible http://www.saludohiggins.cl/attachments/2196_NTG0162Chagas2014.pdf
- Noireau F, Flores R, Gutiérrez T, Abad-Franchm F, Flores E, Vargas F. Natural ecotopes of *Triatoma infestans* dark morph and other sylvatic triatomines in the Bolivian Chaco. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2000; 94: 23-27.
- Pinto JC. Southern Cone Initiative for the elimination of domestic populations of *Triatoma infestans* and the interruption of transfusional Chagas disease. Historical aspects, present situation, and perspectives. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007; 102:11-18.
- Rabinovich JE. Vital statistics of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. I. *Triatoma infestans* Klug. *J. Med. Entomol*. 1972; 9(4): 351-370
- Schofield CJ, Galvao C. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. *Acta Tropica* 2009; 110: 88-110.
- Velásquez CJ, González G. Aspectos de la enfermedad de Chagas en Paraguay. *Rev. Goiana Med*. 1959; 5: 357-373.

Ecología de los triatominos silvestres endémicos de Chile

Ecology of the endemic sylvatic triatomines of Chile

BOTTO-MAHAN C.¹, CORREA J.P.^{1,2}, BACIGALUPO A.², CAMPOS-SOTO R.³, CATTAN P.E.², SOLARI A.⁴

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

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

³ Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Ciencias, Instituto de Biología.

⁴ Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Instituto de Ciencias Biomédicas. Programa de Biología Celular y Molecular.

Correspondencia:

Carezza Botto Mahan

cbotto@uchile.cl

Casilla 653, Santiago, Chile

Summary

Chagas disease is considered one of the most important neglected tropical diseases in America. One reason of this situation is the scarce knowledge of basic ecological aspects of sylvatic triatomine vectors, which are responsible of unexpected outbreaks. In Chile, three species of endemic triatomines have been described: *Mepraia spinolai*, *M. gajardoi* and *M. parapatrica*. All these species are mainly diurnal and females strictly micropterous. Adult males, depending on the species, can be micropterous, brachypterous or macropterous. *Mepraia spinolai* is the most studied species, with *Trypanosoma cruzi* prevalence of up to 46%, however these rates are highly variable in space and time. *Mepraia gajardoi* and *M. parapatrica* have been less studied and this information is shown here.

Keywords: Vector ecology, sylvatic Chagas disease vectors, Chilean kissing bugs, *Mepraia*

Introducción

Un gran número de patógenos de animales y plantas dependen de vectores biológicos para su transmisión. Muchos de estos vectores presentan el potencial de moldear los patrones temporales y espaciales de la dispersión de estos patógenos en condiciones naturales. No obstante, existe escaso conocimiento sobre aspectos ecológicos básicos de vectores pertenecientes al ambiente silvestre, y su potencial rol funcional en la transmisión de enfermedades infecciosas hacia seres humanos, fauna doméstica y fauna silvestre (Ostfeld et al. 2008).

Los triatominos son insectos que pertenecen al Orden Hemiptera, Familia Reduviidae, Subfamilia Triatominae. Se caracterizan por ser hematófagos estrictos, asociarse estrechamente con seres humanos, fauna doméstica y silvestre, y por ser vectores del protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana en humanos (Kollien & Schaub 2000). La transmisión de *T. cruzi* de vector a mamífero ocurre principalmente mediante las heces que un vector infectado deposita sobre el sitio de la picadura o las mucosas de un hospedero. Los triatominos contraen la infección al ingerir sangre de un mamífero infectado. A nivel mundial, se han descrito 137 especies dentro de la Subfamilia Triatominae, donde los criterios usados para considerar una especie como válida son caracteres morfológicos y en algunos casos morfológicos

y moleculares (Galvão et al. 2003). Más de la mitad de las especies se han infectado natural o experimentalmente con *T. cruzi* (Schofield 1994).

Las vinchucas presentan un cuerpo alargado y aplanado dorso-ventralmente en ayuno, con patrones distintivos en el conxivo que varían según la especie (Lent & Wygodzinsky 1979). Presentan una cabeza cónica, con antenas largas y delgadas formadas de cuatro segmentos, ojos compuestos y prominentes, estilete delgado, recto y con tres segmentos (Schofield 1994). Su ciclo de vida está compuesto por huevo, cinco estadios ninfales y adulto, y en la mayoría de las especies es bastante extenso, promediando 300 días desde el huevo hasta el imago. Sin embargo, existe gran variabilidad en el tiempo de desarrollo dependiendo de la temperatura, humedad relativa, especie hospedera e intervalos de alimentación, entre otros (Nattero et al. 2011). La temperatura óptima para la sobrevivencia y reproducción de estos insectos es 27°- 28° C, y la mayoría de las especies no sobreviven a temperaturas sobre 37° C o bajo 10° C (Lent & Wygodzinsky 1979).

Dentro de los triatominos existen especies de hábitos domésticos que se asocian principalmente a viviendas humanas de construcción precaria (Schofield 1994). En este caso, la fuente principal de alimento la constituye seres humanos, animales domésticos y de corral (Schenone et al. 1980, Schofield 1994). Por otro lado, los triatominos de hábitos silvestres habitan en pedregales, madrigueras de animales, troncos y nidos de aves, entre otros.

Estas especies se alimentan principalmente de mamíferos silvestres, sin embargo, su dieta también incluye aves y ocasionalmente reptiles (Apt & Reyes 1990).

En Chile se han descrito tres especies endémicas de triatomíneos silvestres: *Mepraia spinolai* Porter 1934, *Mepraia gajardoi* Frias, Henry y González 1998, y *Mepraia parapatrica* Frias-Lasserre 2010, las cuales se caracterizan por exhibir hábitos principalmente diurnos y presentar hembras siempre micrópteras. Entre ellas se diferencian en algunos aspectos morfológicos (e.g., color, características de la genitalia), citogenéticos (i.e., cariotipo) y filogenéticos (Jurberg et al. 2002, Frias-Lasserre 2010, Campos et al. 2013).

Dentro de los métodos de detección de triatomíneos silvestres se encuentra la búsqueda activa, trampas con cebo animal, trampas luminosas, trampas de levadura y trampas de hielo seco (Schofield 1994, Lorenzo et al. 1998, Botto-Mahan et al. 2002, Bacigalupo et al. 2006).

Mepraia spinolai

Aspectos generales

Mepraia spinolai (sinonimia *Triatoma spinolai*, Lent et al. 1994) corresponde a la primera especie silvestre endémica de triatomíneo descrita para Chile. Actualmente, su distribución abarca desde la Región de Atacama hasta la Región de O'Higgins (26° a 34° S) (Frias-Lasserre 2010). Habita principalmente zonas áridas y semiáridas de los valles de interior, asociándose la mayoría de las veces a canteras, grietas en rocas, nidos de aves, madrigueras de mamíferos silvestres, bromeliáceas y pircas (Canals et al. 2001, Bacigalupo et al. 2006, 2010). Esta especie de triatomíneo presenta un marcado dimorfismo sexual, con machos micrópteros (longitud promedio = 1,7 cm, amplitud máx. abdomen = 0,4 cm), macrópteros (longitud promedio = 2,0 cm) y braquípteros, y hembras únicamente micrópteras (longitud promedio = 1,9 cm, amplitud máx. abdomen = 0,7 cm) (Lent & Wygodzinsky 1979). El adulto es de color negro con manchas rojizas en el conexivo, tanto dorsal como ventralmente. Las ninfas estadios I al V son de color café-rojizo al mudar, y en condiciones naturales se camuflan de color gris al utilizar su tercer par de patas traseras para cubrirse con arena o polvo del lugar que habitan (Ramírez et al. 2013). Esta especie presenta mayor actividad durante la fotofase,

con marcada preferencia por una temperatura media de $24.8 \pm 5.8^\circ \text{C}$ (Canals et al. 1997).

Ciclo de vida y desarrollo de *M. spinolai*

Bajo condiciones de laboratorio, se ha descrito que el ciclo de vida de *M. spinolai* dura entre 299 y 492 días. Específicamente, los huevos demoran 30-40 días en eclosionar, el estado ninfal I dura 15-57 días, el II 19-23 días, el III 21-52 días, el IV 27-58 días y el V 187-262 días (Lent & Jurberg 1967, Canals et al. 1994). Sin embargo, un estudio posterior utilizando un diseño experimental de infección dirigida y seguimiento de cohortes detectó que el parásito *T. cruzi* modifica algunos rasgos de historia de vida de *M. spinolai*. Los vectores infectados requieren más tiempo para alcanzar la adultez que vectores no infectados (Botto-Mahan 2009a). Probablemente, parásito y triatomíneo compiten por elementos trazas presentes en la sangre ingerida por *M. spinolai*, necesarios para gatillar la inducción hormonal del proceso de muda (Schaub 1992, Kollien & Schaub 2000). Una consecuencia de esta demora en el tiempo de desarrollo es que *T. cruzi* podría aumentar su probabilidad de transmisión a hospederos vertebrados definitivos, debido a que insectos infectados requerirían alimentarse un mayor número de veces para alcanzar la madurez (Schaub 1994) y consecuentemente transmitir el parásito vía heces contaminadas.

Conducta de alimentación y defecación de *M. spinolai*

Respecto a la conducta de alimentación, adultos de esta especie demoran en promedio 9.68 ± 5.5 min en realizar una picada y presentan una latencia media entre el inicio de la picada y la defecación de 24.4 ± 16.6 min (Canals et al. 1999). Sin embargo, un estudio posterior examinó los componentes de la conducta de alimentación de *M. spinolai* que incidían en la transmisión del parásito y que podían verse modificados en presencia de *T. cruzi*: conductas asociadas a la localización del hospedero, la conducta de alimentación y al patrón de defecación se modifican en presencia de *T. cruzi*. Insectos infectados requieren menos tiempo para detectar y orientarse hacia hospederos que los insectos no infectados (Botto-Mahan et al. 2006). Esto se podría deber a que insectos infectados presentan menores masas producto de una competencia parásito-vector por nutrientes presentes en el intestino del insecto

(Schaub 1992, Kollien & Schaub 2000), lo cual se traduce en síntomas de inanición anticipados provocando que los insectos estén más alerta frente a estímulos provenientes de potenciales hospederos. Respecto a la conducta de alimentación, los insectos pican más veces a sus presas y aumentaron la tasa de picada al estar infectados con *T. cruzi* (Botto-Mahan et al. 2006). Al igual que la explicación anterior, esta conducta alterada por parte de los insectos infectados se puede deber a los mayores niveles de inanición producto de la competencia parásito-vector que se traduce en un insecto menos eficiente al momento de encontrar un vaso sanguíneo apropiado para picar y alimentarse. La cantidad de sangre ingerida por los insectos es afectada por el estatus de infección; sin embargo, al remover el efecto del tamaño corporal no se observa un efecto del estatus de infección (Botto-Mahan et al. 2006), lo cual sugiere que este resultado podría interpretarse como un efecto indirecto producido por una reducción del tamaño corporal de los vectores en presencia de *T. cruzi*. Respecto a la defecación, los insectos infectados con *T. cruzi* defecan rápidamente en comparación a los insectos no infectados (Botto-Mahan et al. 2006). Esto indica que los insectos infectados presentan una mayor sincronía entre el fin del evento de picada y la emisión de heces infectantes. En resumen, los insectos infectados detectan más rápido a sus hospederos, los pican más veces implicando un mayor número de perforaciones en la piel, y defecan en menos tiempo que los insectos no infectados. Todos estos antecedentes, sumados al hecho de que los insectos infectados viven más tiempo, revelan una importante presión ejercida por el parásito para ser transmitido a su hospedero mamífero (Botto-Mahan et al. 2006, Botto-Mahan 2009).

Hospederos de *M. spinolai*

Estudios realizados en ejemplares de *M. spinolai* para detectar la composición de su dieta indicarían hospederos tales como cabras, gallinas, gatos, perros, roedores y humanos (Knierim et al. 1976, Apt & Reyes 1986). Un estudio realizado por Canals et al. (2000, 2001), utilizando individuos recolectados en una zona periurbana, muestra una alta incidencia de sangre de conejo en el contenido intestinal de estos insectos. Por otro lado, el análisis de 211 ejemplares de *M. spinolai* proveniente de una zona semiárida Mediterránea silvestre indica que esta especie utiliza como hospederos al lauchón orejudo (*Phyllotis*

darwini), degu (*Octodon degus*) y yaca (*Thylamys elegans*) (Rengifo 2000). Lo anterior sumado al hecho que *M. spinolai* presenta altos niveles de infección con *T. cruzi*, apuntaría a que este vector es el responsable de la transmisión silvestre del parásito en las zonas semiáridas Mediterráneas de Chile, donde se han detectado altos niveles de infección tanto en mamíferos silvestres como domésticos (Rozas et al. 2007, Botto-Mahan et al. 2008, 2010, Oda et al. 2014, Jiménez et al. 2015).

Aspectos epidemiológicos de *M. spinolai*

Mepraia spinolai es el vector de mayor relevancia en el ciclo de transmisión silvestre de *T. cruzi* en Chile. El impacto de *M. spinolai* en la Enfermedad de Chagas se estima entre un 0.20 y 5.8% (Canals et al. 1993, 1994, 1999) y el nivel de infección de poblaciones de *M. spinolai* utilizando métodos moleculares ha alcanzado un 46.2% en zonas semiáridas de la Región de Coquimbo (Botto-Mahan et al. 2005a). Sin embargo, las prevalencias son altamente variables espacialmente (Órdenes et al. 1996, Coronado et al. 2009, Oda et al. 2014) y su detección variaría de acuerdo al nivel de ayuno de los insectos examinados (Egaña et al. 2014). Los genotipos de *T. cruzi* circulantes descritos en este vector son TCI, TCII, TCV y TCVI, y pueden estar presentes en forma individual o en mezcla (Coronado et al. 2009, Campos-Soto et al. en prensa). Botto-Mahan y col. (2005b) estimaron el ámbito de hogar de este vector silvestre en verano e invierno, sugiriendo que la probabilidad de transmisión de *T. cruzi* hacia mamíferos silvestres y seres humanos debiera ser mayor en verano, cuando poblaciones de este insecto presentan un ámbito de hogar significativamente mayor que en los meses de invierno.

Mepraia gajardoi

Mepraia gajardoi es la segunda especie del género descrita en Chile. Se caracterizó en base a ejemplares capturados en el desierto costero del norte de Chile (18° a 26° S). En las regiones de Arica y Parinacota se han descrito poblaciones en Caleta Vitor, Morro de Arica, Playa Corazones, Caleta Camarones; en Tarapacá en Punta de Lobos, Río Seco, San Marcos; y en la Región de Antofagasta en Piedras Negras, Bandurrias, Cachinales y Médano (Frias et al. 1998, Botto-Mahan et al. 2008, Campos et al. 2013). Los machos adultos son únicamente braquípteros y

la amplitud promedio de su abdomen es de 0,55 cm. Las hembras son solamente micrópteras y su abdomen mide 0,82 cm promedio de ancho. Su color general es negro con pequeños puntos café rojizos en el conexivo lateral y las ninfas son negro brillante (Frías et al. 1998). Su morfología alar evaluada mediante morfometría geométrica se diferencia de la de *M. spinolai*, existiendo una población en Médano (Región de Antofagasta) con fenotipo intermedio entre *M. gajardoi* y *M. spinolai* pero con alas vestigiales (Campos et al. 2011). Existiría aislamiento reproductivo entre esta especie y *M. spinolai* considerando la baja fertilidad (% de huevos eclosionados) cuando se realizan entrecruzamientos (Frías et al. 1998). Se han capturado ejemplares asociados a nidos de aves marinas, cuevas de reptiles y roedores silvestres, pero también en corrales de animales domésticos, cerros rocosos o grietas en piedras. Habita en sectores costeros áridos en que las precipitaciones anuales no superan los 2 mm y donde se encuentran asentamientos humanos permanentes o temporales (Botto-Mahan et al. 2008, Frías et al. 2008, Egaña et al. 2014, González et al. 2015). Se ha descrito infectada naturalmente por *T. cruzi* con prevalencias que varían según sector y estadio de desarrollo, fluctuando entre 5,8% y 27,0%. (Carvajal et al. 2007, Botto-Mahan et al. 2008, Toledo et al. 2013, Egaña et al. 2014, González et al. 2015). En individuos capturados de poblaciones silvestres, los niveles de infección por *T. cruzi* detectados en heces fueron menores cuando se evaluaron en condiciones de ayuno en relación a post alimentación en laboratorio (20,0% vs 67,0%); esto podría indicar que los niveles de infección evaluados en ejemplares en ayuno podrían estar subestimados (Egaña et al. 2014). Los genotipos de *T. cruzi* circulantes en este vector son TCI, TCII, TCV y TCVI, sin embargo, el genotipo más frecuente varía según la población estudiada: Botto-Mahan et al. (2008) detectaron sólo TCII en ejemplares capturados en Playa Corazones (regiones de Arica y Parinacota) y Médano (Región de Antofagasta); luego Toledo y col. (2013) estudiaron la infección en varias poblaciones que fueron agrupadas en dos grupos según su cercanía a viviendas; los grupos capturados cerca de viviendas tuvieron mayores niveles de infección que los de sectores silvestres (27,0% vs 11,1%), siendo el genotipo más frecuente distinto entre ambos ambientes (TCII en ambiente silvestre, y TCVI en el periantrópico). Los niveles de infección

descritos para *M. gajardoi* son bajos y menores a los descritos para *M. spinolai*, por lo que se ha propuesto que podrían estar alimentándose de hospederos terminales o refractarios a la infección por *T. cruzi* (aves y reptiles) los que suelen abundar en los sitios donde *M. gajardoi* se ha capturado (Botto-Mahan et al. 2008, Toledo et al. 2013). A pesar que esta especie ha sido descrita como de hábitos diurnos, Faundez y Carvajal (2012) describen que podría tener hábitos nocturnos en consideración al reporte de usuarios del Monumento Nacional Morro de Arica y a un ejemplar detectado por ellos en este lugar.

Mepraia parapatrica

Mepraia parapatrica es la especie de más reciente descripción del género en Chile (Frías-Lasserre 2010). Se encuentra distribuida en la zona costera de las regiones de Antofagasta y Atacama, en el área comprendida entre el límite norte de distribución de *M. spinolai* y el límite sur de distribución de *M. gajardoi*, correspondiente al desierto litoral, entre los 24°36' - 26°51' S (Campos et al. 2013). Esta pequeña área costera posee características climáticas y ecológicas que dan cuenta de una mayor biodiversidad que la zona más amplia que habita *M. gajardoi* al norte (Campos et al. 2013). En la Región de Atacama se han detectado poblaciones en el Parque Nacional Pan de Azúcar (Isla Pan de Azúcar, Caleta Pan de Azúcar y Cerro El Soldado), y Caleta Zenteno; en la Región de Antofagasta se han detectado en Caleta Papos, Cachinales y Médano (Frías-Lasserre 2010, Campos et al. 2013). Los machos adultos de la especie son siempre alados (braquípteros o macrópteros) con longitudes que varían entre 1,55 a 2,0 cm y amplitud máxima del abdomen de 0,42 a 0,57 cm. Las hembras adultas son micrópteras midiendo entre 1,84 a 2,24 cm de longitud total, con ancho de abdomen entre 0,7-1,0 cm. El color general del cuerpo es negro con pequeños puntos rojos en el conexivo y algunas zonas café o café oscura (tarso, rostrum, entre otras) (Frías-Lasserre 2010). *Mepraia parapatrica* se ha encontrado en ambientes peridomésticos asociada a mamíferos (corral de *Capra hircus*), y en ambientes silvestres asociada a reptiles (lagartijas) o aves marinas (*Larus dominicanus*, *Spheniscus humboldti*), de los cuales se alimentaría. Esta última fuente de alimentación podría traducirse en diferencias en su eficiencia para transmitir *T. cruzi* a hospederos susceptibles (Frías-

Lasserre 2010). Sagua et al. (2000) describieron que individuos descritos como *M. spinolai* capturados en la Isla Pan de Azúcar, se alimentarían principalmente de aves marinas (78%; *L. dominicanus*, *L. modestus*, *S. humboldti* y *Pelecannus occidentalis*), y en menor proporción de mamíferos marinos (14%; *Otaria flavescens*) y reptiles (7%; *Tachymenis peruvianus*). No se logró detectar infección natural por *T. cruzi* en esos ejemplares, lo que podría deberse a sus hábitos alimentarios. Los ejemplares caracterizados por Sagua et al. (2000) están dentro del rango de distribución de *M. parapatrica*, coincidiendo además con sus preferencias de hospedero. Jurberg et al. (2002) menciona a estos individuos pertenecientes a *M. gajardoi*, mientras Frías-Lassarre (2010) los considera *M. parapatrica*.

Conclusiones

En las últimas dos décadas se ha incorporado la componente ecológica en el estudio de enfermedades infecciosas transmitidas por vectores. Esto sin lugar a dudas representa un avance en la manera en que se estudian y abordan las enfermedades infecciosas que afectan principalmente a seres humanos, fauna doméstica y fauna silvestre, especialmente si consideramos la ocurrencia de brotes epidémicos inesperados. En Chile, los esfuerzos por incorporar a los vectores silvestres de la enfermedad de Chagas en los programas de investigación han aumentado, y esto ha permitido recabar información en aspectos básicos de los triatomíneos, tales como rasgos de historia de vida, distribución, preferencias alimentarias, eco-epidemiología, entre otros. En los próximos años se debiera focalizar en el estudio de las especies del género *Mepraia* más asociada a las zonas costeras, con el fin de establecer su importancia en la transmisión silvestre de *T. cruzi*.

Agradecimientos

Los autores agradecen a todos los estudiantes y asistentes de investigación que han participado entusiastamente en actividades de campo y laboratorio. Se agradece la invaluable ayuda de CONAF, del Ministerio de Salud (Oficina de Zoonosis y Vectores) y de las SEREMIs de Salud de las regiones I a VI. Los autores fueron apoyados por la Comisión Nacional de Investigación Científica y

Tecnológica – CONICYT a través de los Proyectos de Investigación FONDECYT: 1140521 (CBM), 3140543 (JPC), 1140650 (AB, JPC y PEC), 3150289 (RCS) y 1120122 (AS). Adicionalmente, CBM agradece el financiamiento parcial del Programa U-Apoya, Universidad de Chile.

Referencias

- Apt W, Reyes H. Aspectos epidemiológicos de la enfermedad de Chagas I. Distribución geográfica, índices de infección en vectores y humanos. *Parasitol al Día*. 1986; 10: 94-101.
- Apt W, Reyes H. Algunos aspectos de la Enfermedad de Chagas en Latinoamérica. *Parasitol. al Día*. 1990; 14: 23-40.
- Bacigalupo A, Segura JA, García A, Hidalgo J, Galuppo S, Cattán PE. Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile. *Rev Méd Chile*. 2006; 134: 1230-1236.
- Botto-Mahan C. *Trypanosoma cruzi* induces life-history trait changes in the wild kissing bug *Mepraia spinolai*: implications for parasite transmission. *Vector-borne Zoonotic Dis*. 2009a; 9: 505-510.
- Botto-Mahan C, Canals M, Cattán PE. Field test of carbon dioxide and conspecifics as baits for *Mepraia spinolai*, wild vector of Chagas disease. *Acta Trop*. 2002; 82: 377-380.
- Botto-Mahan C, Cattán PE, Medel R. Chagas disease parasite induces behavioural changes in the kissing bug *Mepraia spinolai*. *Acta Trop*. 2006; 98: 219-223.
- Botto-Mahan C, Cattán PE, Canals M, Acuña M. Seasonal variation in the home range and host availability of the blood-sucking insect *Mepraia spinolai* in wild environment. *Acta Trop*. 2005b; 95: 160-163.
- Botto-Mahan C, Ortiz S, Rozas M, Cattán PE, Solari A. DNA evidence of *Trypanosoma cruzi* in the Chilean wild vector *Mepraia spinolai* (Hemiptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005a; 100: 237-239.
- Botto-Mahan C, Acuña-Retamar M, Campos R, Cattán P, Solari A. European rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) are naturally infected with different *Trypanosoma cruzi* genotypes. *Am J Trop Med Hyg*. 2009b; 80: 944-946.
- Botto-Mahan C, Sepúlveda M, Vidal M, Acuña-Retamar M, Ortiz S, Solari A. *Trypanosoma cruzi* infection in the sylvatic kissing bug *Mepraia gajardoi* from the Chilean Southern Pacific Ocean coast. *Acta Trop*. 2008; 105: 166-169.

- Botto-Mahan C, Campos R, Acuña-Retamar M, Coronado X, Cattán P, Solari A. Temporal variation of *Trypanosoma cruzi* infection in native mammals in Chile. *Vector-borne Zoonotic Dis.* 2010; 10: 317-319.
- 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.* 2013; 19: 280-286.
- Campos R, Botto-Mahan C, Coronado X, Jaramillo N, Panzera F, Solari A. Wing shape differentiation of *Mepraia species* (Hemiptera: Reduviidae). *Infect Genet Evol.* 2011; 11: 329-333.
- Campos-Soto R, Ortiz S, Córdova I, Bruneau N, Botto-Mahan C, Solari A. Interactions between *Trypanosoma cruzi* the Chagas disease parasite and naturally infected wild *Mepraia* vectors of Chile. *Vector-borne Zoonotic Dis.* En prensa.
- Canals M, Cattán PE, Ehrenfeld M. Algunas estimaciones numéricas de la importancia epidemiológica de los vectores de la enfermedad de Chagas en Chile. *Parasitol al Día.* 1993; 17: 79-86.
- Canals M, Cattán PE, Ehrenfeld M. Sobrevivencia de *T. spinolai* en ambiente habitacional. *Parasitol. al Día.* 1994; 18: 82-87.
- Canals M, Solis R, Valderas J, Ehrenfeld M, Cattán PE. Preliminary studies on temperature selection and activity cycles of *Triatoma infestans* and *T. spinolai* (Heteroptera: Reduviidae), Chilean vectors of Chagas' disease. *J Medical Entomol.* 1997; 34: 11-17.
- Canals M, Ehrenfeld M, Solis R, Cruzat L, Pinochet A, Tapia C, et al. Biología comparada de *M. spinolai* en condiciones de laboratorio y terreno: cinco años de estudio. *Parasitol al Día.* 1998; 22: 72-78.
- Canals M, Solis R, Tapia C, Ehrenfeld M, Cattán PE. Comparison of some behavioral and physiological feeding parameters of *Triatoma infestans* Klug, 1834 and *Mepraia spinolai* Porter, 1934, vectors of Chagas disease in Chile. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999; 94: 687-692.
- Canals M, Bustamante RO, Ehrenfeld M, Cattán PE. Assessing The impact of insect vectors on animal populations. *Acta Biotheor.* 1999; 46: 337-345.
- Canals M, Ehrenfeld M, Cattán PE. Situación de *Mepraia spinolai*, vector silvestre de la enfermedad de Chagas en Chile, en relación con otros vectores desde la perspectiva de sus fuentes de alimentación. *Rev Med Chile.* 2000; 128: 1108-1112.
- Canals M, Cruzat L, Molina MC, Ferreira A, Cattán PE. Blood host sources of *Mepraia spinolai* (Heteroptera: Reduviidae), wild vector of Chagas disease in Chile. *J Med Entomol.* 2001; 38: 303-307.
- Carvajal A, Orellana J, Wigant W, Borquez C, Lobato I. Prevalencia de triatominos infectados con *Trypanosoma cruzi* en el litoral de la ciudad de Arica. *Parasitol Latinoam.* 2007; 62: 118-121.
- Coronado X, Rozas M, Botto-Mahan C, Ortiz S, Cattán PE, Solari A. Molecular epidemiology of Chagas disease in the wild transmission cycle: the evaluation in the sylvatic vector *Mepraia spinolai* vector from an endemic area of Chile. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 81: 656-659.
- Egaña C, Vergara F, Campos R, Ortiz S, Botto-Mahan C, Solari A. *Trypanosoma cruzi* infection in *Mepraia gajardoi* and *Mepraia spinolai*: the effect of feeding nymphs from the field. *Am J Trop Med Hyg.* 2014; 91: 534-536.
- Faúndez EI, Carvajal MA. Notas sobre *Mepraia gajardoi* Frías, Henry & González, 1998 (Heteroptera: Reduviidae: Triatominae). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 2012; 50: 495-497.
- Flores E, Gallardo M, León X, López L, Maldonado L. Estudio preliminar de poblaciones de *Tropidurus peruvianus quadrivittatus*. Seminario de Título. Departamento de Ciencias Naturales, Iquique, Universidad de Chile. 1977.
- Frías-Lasserre 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: 572-583.
- Frias DA, Henry AA, González CR. *Mepraia gajardoi*: a new species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) from Chile and its comparison with *Mepraia spinolai*. *Rev Chil Hist Nat.* 1998; 71: 177-188.
- Galvão C, Carcavallo R, da Silva Rocha D, Jurberg J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zoo taxa.* 2003; 202: 1-36.
- Jiménez C, Fontúrbel F, Oda E, Ramírez P, Botto-Mahan C. Parasitic infection alters rodent movement in a semiarid ecosystem. *Mammal Biol.* 2015; 80: 255-259
- Jurberg J, Lent H, Carcavallo R, Silva D, Galvão C, Frías D. Estudio morfológico da genitalia externa masculina de *Mepraia gajardoi* Frías, Henry and González 1998

- (Hemiptera: Reduviidae) com comentários sobre suas relações filogenéticas. *Entomol Vect.* 2002; 9: 559-577.
- Knierim F, Castro M, Villarroel F, Schenone H. Estudio preliminar sobre la fuente de alimentación de *Triatoma infestans* y *Triatoma spinolai* mediante la reacción de doble difusión en gel. *Bol Chil Parasitol.* 1976; 31:34-36.
- Kollien AH, Schaub GA. The development of *Trypanosoma cruzi* in Triatominae. *Parasitol Today.* 2000; 16: 381-387.
- Lent H, Wygodzinsky P. Revision of the triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull Am Museum Nat Hist.* 1979; 163: 123-520.
- Lent H, Jurberg J. Algunas informacoes sobre *T. spinolai*, com um estudo sobre as genitalias externas. *Rev Bras Biol.* 1967; 27: 273-288.
- Lent H, Jurberg J, Galvao C. Revalidação do genero *Mepraia* Mazza, Gajardo & Jorg, 1940 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1994; 89: 347-352.
- Lorenzo MG, Reisenman CE, Lazzari CR. *Triatoma infestans* can be captured under natural climatic conditions using yeast-baited traps. *Acta Trop.* 1998; 70: 277-284.
- Nattero J, Rodríguez C, Crocco L. Influence of the quality and quantity of blood ingested on reproductive parameters and life-span in *Triatoma infestans* (Klug). *Acta Trop.* 2011; 97: 183-187.
- Oda E, Solari A, Botto-Mahan C. Effects of mammal host diversity and density in the infection level of a sylvatic kissing bug. *Med Vet Entomol.* 2014; 28: 384-390
- Órdenes HV, Ehrenfeld M, Cattán P, Canals M. Infección Tripano-triatomina de *Triatoma spinolai* en una zona de riesgo epidemiológico. *Rev Med Chile.* 1996; 124: 1053-1057.
- Ostfeld RS, Keesing F, Eviner VT. Infectious disease ecology: The effects of ecosystems on disease and of disease on ecosystems. Princeton and Oxford: Princeton University Press; 2008.
- Porter CE. Una *Triatoma* nueva en Chile. *Rev Chil Hist Nat.* 1934; 37: 192-193.
- Rengifo AV. Preferencias alimentarias específicas de *Mepraia spinolai* por vertebrados frecuentes en su hábitat. Tesis de Pregrado. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile; 2000.
- Ramírez PA, González A, Botto-Mahan C. Masking behavior by *Mepraia spinolai* (Hemiptera: Reduviidae): Anti-predator defense and life history trade-offs. *J Insect Behav.* 2013; 26: 592-602.
- Rozas M, Botto-Mahan C, Coronado X, Ortiz S, Cattán P, Solari A. Coexistence of *Trypanosoma cruzi* genotypes in wild and peridomestic mammals in Chile. *Am J Trop Med Hyg.* 2007; 77: 647-653.
- Sagua H, Araya J, Gonzalez J, Neira I. *Mepraia spinolai* in the Southeastern Pacific Ocean coast (Chile) – first insular record and feeding pattern on the Pan de Azúcar Island. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2000; 95: 167-170.
- Schaub GA. The effects of trypanosomatids on insects. *Adv Parasitol.* 1992; 31: 255-319.
- Schaub GA. Pathogenicity of Trypanosomatids on insects. *Parasitol Today.* 1994; 10: 463-468.
- Schenone H, Villarroel F, Rojas A, Alfaro E. Factores biológicos y ecológicos en la epidemiología de Chagas en Chile. *Bol Chil Parasitol.* 1980; 35: 42-54.
- Schofield CJ. Triatominae. Biología y control. West Sussex: Eurocommunica Publications. 1994.
- Toledo A, Vergara F, Campos R, Botto-Mahan C, Ortiz S, Coronado X, et al. *Trypanosoma cruzi* genotypes in *Mepraia gajardoii* from wild ecotopes in northern Chile. *Am J Trop Med Hyg.* 2013; 88: 285-288.

Biogeografía histórica del vector endémico de la enfermedad de Chagas en Chile (Mepraia).

Historical biogeography of endemic vector of Chagas disease from Chile (Mepraia).

CAMPOS-SOTO R.¹ *, TORRES-PÉREZ F.¹

¹ Instituto de Biología, Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

*Corresponding author at: Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Casilla 2373223, Valparaíso, Chile. Fono. +56 32 2274855
E-mail address: ricardo.campos.s@ucv.cl (Ricardo Andrés Campos Soto)

Summary

Chagas disease is caused by the protozoo *Trypanosoma cruzi* and is one of the main zoonosis mediated by vectors in America. Clarify the historical processes of dispersion of these vectors is crucial to understanding the current epidemiological status of this zoonosis. *Mepraia* is an endemic vector from Chile responsible of transmitting *T. cruzi* in the wild cycle. In this review, we address the evolutionary aspects about the origins of genus *Mepraia* and historical biogeographic processes that shaped the current structure of their lineages.

Keywords: Filogeografía, dispersión, silvestre, gajardoi, spinolai, parapátrica.

Introducción

La dispersión biogeográfica de los patógenos zoonóticos y sus vectores asociados pueden proveer información crítica para el entendimiento, manejo y control de las enfermedades zoonóticas endémicas (Lloyd-Smith et al. 2009). Las zoonosis silvestres tienen como factor común la nidalidad, que es la capacidad de mantener una circulación dinámica y permanente de infección en un área con características geográficas, climáticas y ecológicas específicas, donde habitan sus reservorios y/o vectores (Balashov 2010, Cabello & Cabello 2008). La enfermedad de Chagas es una de las zoonosis mediadas por vectores más importantes en América Latina con más de 8 millones de personas infectadas (Gürtler et al. 2008). El agente etiológico es el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, transmitido por insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae. Estos vectores presentan una gran variedad de formas, conductas y distribución en diversos hábitats silvestres, peridoméstico y doméstico. Los focos silvestres y ancestrales de estos insectos son los que mantienen la nidalidad de la infección en los distintos paisajes ecológicos. Los Triatominos que están presentes en Chile corresponden a *Triatoma infestans* y *Mepraia* spp. *Triatoma infestans* es una especie doméstica y de amplia distribución en diversos países sudamericanos, mientras que *Mepraia* es un vector silvestre y endémico de Chile.

Historia evolutiva de Triatominae

Los vectores de la enfermedad de Chagas pertenecen al orden Hemiptera, familia Reduviidae, subfamilia Triatominae. La familia Reduviidae es muy ancestral, con registros de fósiles que sugieren que las primeras formas depredadoras podrían haber derivado de hemípteros fitófagos durante el Periodo Pérmico -Triásico hace 230 millones de años (Ma) (Evans 1956). Estos especímenes fueron anteriores a los hematófagos, ya que los mamíferos y aves más antiguas aparecen recién en el periodo Jurásico, 50 Ma más tarde. La hematofagia deriva de un hábito depredador tal vez de insectos que depredaban invertebrados que vivían en nidos o madrigueras, seguido de un hábito hematófago facultativo sobre los vertebrados que habitaban estas madrigueras. Una prueba de esto se sustenta por el comportamiento de canibalismo que tienen algunas especies de triatominos y que puede ser visto como un hábito ancestral transitorio entre la depredación y la hematofagia (Ryckman 1951, Sandoval et al. 2000, 2004). De hecho, existen sorprendentes similitudes morfológicas entre algunos Reduviidae depredadores y Triatominae hematófagos que incluso han sido erróneamente clasificados (Lent 1982). Algunos Triatominae no han desarrollado eficientes adaptaciones fisiológicas, salivales y de su aparato bucal; debido a esto la picadura suele ser bastante dolorosa reportándose incluso casos humanos de shock anafiláctico. Todas estas observaciones

sugieren que la conducta de hematofagia habría surgido recientemente (a escala evolutiva) en la subfamilia (Schofield 2000, Stevens et al. 2011). La mayoría de los géneros de la subfamilia Triatominae están en América y sólo un pequeño número en África y Asia. Existen 144 especies descritas, agrupadas en 15 géneros y cinco tribus (Lent & Wygodzinsky 1979, Schofield & Galvão 2009, Justí et al. 2014). Estas habitan áreas principalmente silvestres en asociación estrecha con sus hospederos vertebrados de los cuales se alimentan, aunque hay algunas que han ocupado el ambiente peridoméstico y otras que colonizaron las viviendas humanas (Dujardin et al. 1999, Schofield 2000, Schofield & Galvão 2009).

Sobre el origen de la subfamilia existen algunos autores que sostienen que el origen de la subfamilia es monofilético, principalmente en base a caracteres relacionados al hábito hematófago (Lent & Wygodzinsky 1979); posteriormente la monofilia de la subfamilia habría sido reforzada a través de un estudio filogenético molecular inferido con genes mitocondriales (Hypša et al. 2002). Sin embargo, existen autores que sostienen que la subfamilia es polifilética, originándose de reducidos ancestrales diferentes no relacionados filogenéticamente que se adaptaron a la hematofagia de manera independiente, y varias veces dentro de Triatominae (de Paula et al. 2005, Schofield & Galvão 2009). En los últimos años se han publicado diversos estudios que apoyan la hipótesis de la monofilia del grupo, aunque la hipótesis alternativa no se puede descartar aún dada la posibilidad de que no se hayan incluido todos los taxa, y por las limitaciones de las inferencias filogenéticas asociadas al número de marcadores usados para realizar las reconstrucciones (Patterson et al. 2001, Weirauch & Munro 2009, Patterson & Gaunt 2010, Justí et al. 2014).

Los triatominos presentes en Chile están incluidos en la tribu Triatomini dentro del clado del hemisferio sur. *T. infestans* está incluida en el complejo *infestans* subcomplejo *infestans* mientras que las especies de *Mepraia* están incluidas en el complejo *spinolai*. Las relaciones filogenéticas entre el complejo *spinolai* y *T. infestans* no están completamente dilucidadas. Por ejemplo, de Paula et al. (2005) muestran que ambos taxa aparecen emparentados; sin embargo otros estudios son inconclusivos apareciendo el complejo *spinolai* en posición ancestral del dentro de todo el clado del Sur. El trabajo más reciente muestra que el complejo *spinolai* sería el taxa hermano del complejo

infestans, aunque el complejo *infestans* no aparece monofilético (Justí et al. 2014).

Complejo *spinolai* y género *Mepraia*

El género *Mepraia* fue descrito por Mazza et al. (1940) y revalidado por Lent et al. (1994), quienes lo describieron como un género monotípico constituido sólo por *Mepraia spinolai*. Lent y Wygodzinsky (1979) describieron al complejo *spinolai* integrado por *Triatoma eratyrisiformis* Del Ponte 1929, *Triatoma breyeri* Del Ponte 1929 y *Triatoma (Mepraia) spinolai*, el cual correspondería a un grupo de especies taxonómica y geográficamente aislado que habita regiones semiáridas de América del Sur. Geográficamente, *T. eratyrisiformis* y *T. breyeri* están separadas de *T.(M.) spinolai* por la Cordillera de los Andes (Lent & Wygodzinsky, 1979). Estas especies forman un grupo monofilético, originado de un ancestro que se habría dividido con el surgimiento de la Cordillera de Los Andes durante el Mioceno hace unos 20 a 25 Ma (Andrade et al. 2014, Campos et al. 2013a, Frías 2010, Moreno et al. 2006). El hallazgo de copias compartidas de genes mitocondriales entre *Mepraia* y *T. eratyrisiformis* es una fuerte evidencia de la estrecha relación de estos taxa (Campos-Soto et al. 2015). Existen autores que sugieren incluir a todas las especies del complejo *spinolai* en el género *Mepraia* (Hypša et al. 2002, Justí et al. 2014).

Linajes de *Mepraia*

El género *Mepraia* tradicionalmente ha estado representado por dos especies que se distribuyen en zonas costeras y el interior de los valles en Chile: *M. gajardoi* habita zonas netamente costeras del norte grande (18° 30' y 26° 30' S), y *M. spinolai* se puede encontrar tanto en la costa como el interior entre las regiones de Atacama y Metropolitana (26° 30' y 34° 20' S); ambas especies habitan entre piedras, en grietas de rocas, en sitios de descanso o nidos de diferentes mamíferos y aves (Frías et al. 1998). Un estudio reciente en base a caracteres morfológicos postuló que los insectos provenientes de las áreas intermedias entre *M. gajardoi* y *M. spinolai* (Región de Antofagasta y sector norte de la Región de Atacama) corresponderían a una nueva especie, *Mepraia parapatrica* (Frías 2010). Otro estudio

usando marcadores moleculares mitocondriales y nucleares reveló que los ejemplares de estas áreas intermedias entre la distribución de *M. gajardoi* y *M. spinolai* se encuentran más emparentados al linaje *M. spinolai* cuando se usó un marcador nuclear, pero al usar un marcador mitocondrial, éstos ejemplares se agrupaban con el linaje *M. gajardoi*. Esta incongruencia fue explicada como resultado de introgresión mitocondrial debido a pasados eventos de hibridación, o a la retención de polimorfismos ancestrales (Calleros et al. 2010). El estudio filogeográfico más reciente en base a marcadores mitocondriales muestra tres linajes soportados congruentes con las especies descritas; sin embargo las relaciones de ancestralidad de estos linajes aún no está resuelta (Campos et al. 2013b).

Hipótesis biogeográficas de dispersión en *Mepraia*

Frías (2010) al describir *M. parapatrica*, propone un origen y dispersión latitudinal (norte a sur) del género siguiendo un modelo de especiación parapátrica. Así, *M. gajardoi* que corresponde a la especie más septentrional, sería la más ancestral. Esta especie se habría separado de *T. eratyrusiformis* (distribuida en Argentina) por el surgimiento de la Cordillera de Los Andes. Luego, la formación del Desierto de Atacama en el Plioceno tardío (Hartley & Chong 2002) habría aislado las poblaciones del lado occidental hacia las regiones costeras. Subsecuentemente, esta especie se habría dispersado por la costa hacia el sur, diferenciándose de las poblaciones septentrionales lo suficiente para ser considerada una nueva especie, *M. parapatrica*. Este proceso se habría caracterizado por la heterocromatinización de los telómeros en *M. parapatrica*. Frías (2010) reporta machos adultos alados para ambos linajes (todos braquípteros en *M. gajardoi*, macropteros y braquípteros en *M. parapatrica*). La posterior dispersión hacia zonas meridionales habría sido acompañada de importantes cambios morfológicos y moleculares, como la aparición de individuos micrópteros (sin alas) asociado a un quiebre del cromosoma Y donde se sugiere están ligados los genes alares (Frías & Atria 1998). Las poblaciones de este último proceso de dispersión constituirían actualmente *M. spinolai*, la cual correspondería a la especie más derivada

(reciente) del género. Sin embargo, se ha reportado la existencia de individuos con alas vestigiales en la zona intermedia de la distribución del género correspondiente al linaje *M. parapatrica* (Campos et al. 2011). Este carácter podría ser considerado intermedio entre braquípteros y micrópteros, lo que permitiría postular que el carácter del tamaño alar es más bien un rasgo continuo y no asociado a un evento cromosómico sexual en particular.

Por otra parte, Campos et al. (2013b) en base a genes mitocondriales postula la existencia de tres linajes soportados (congruente con las especies descritas), y con una elevada divergencia genética entre las poblaciones. Las estimaciones de ancestro común más reciente realizadas en este trabajo muestran que el linaje *M. spinolai* sería el más ancestral, seguido de *M. gajardoi* y *M. parapatrica* como la más reciente del grupo. Estos últimos resultados sugieren que existen al menos dos propuestas alternativas a la hipótesis de Frías (2010) acerca de la dispersión y diferenciación de poblaciones y linajes descritos en *Mepraia*: i) Una de estas hipótesis es que la dispersión habría ocurrido latitudinalmente desde el centro hacia el norte (sur a norte), lo cual, no sería concordante con la ancestralidad estimada para *M. parapatrica*. ii) Otra hipótesis supone que la dispersión desde los Andes ocurrió por la zona norte y por la zona sur, originando dos grandes linajes de manera independiente y consecuentemente con los respectivos procesos de dispersión se habrían conectado ambos linajes para formar una zona de hibridación en las áreas que actualmente ocupan las poblaciones de *M. parapatrica*. Datos no publicados de cruzamientos entre *M. gajardoi* y *M. spinolai* muestran que no existe un fuerte aislamiento reproductivo, logrando producir híbridos fértiles. Análisis mediante morfometría geométrica mostraron que los híbridos de estos cruzamientos fueron clasificados (en base a sus distancias morfométricas) como pertenecientes al linaje *M. parapatrica* sobre un total de especímenes capturados dentro del rango de distribución de los tres linajes. Esto sugiere que los híbridos tienen conformaciones semejantes a especímenes pertenecientes al linaje *M. parapatrica* (Campos et al. 2015b). Tanto los rasgos morfológicos (Campos et al. 2011, Campos et al. 2015b) como la sugerencia de introgresión aportada por caracteres moleculares (Calleros et al. 2010) apoyarían la hipótesis de un posible origen híbrido de *M. parapatrica*. Esta

hipótesis no deja de ser importante considerando que en esta subfamilia se han descrito varios casos de hibridación entre especies, tanto en condiciones de laboratorio (Pérez et al. 2005, Costa et al. 2009, Correia et al. 2013) como naturales (Martínez-Ibarra et al. 2005, Martínez-Hernández et al. 2010). De esta manera, la hibridación podría ser un fenómeno causante de divergencia entre poblaciones, lo que podría explicar el origen de algunas especies de esta subfamilia (Costa et al., 2009). En el marco de la hipótesis biogeográfica de dos linajes originados desde los Andes, es razonable plantear el escenario en el que el origen de *M. parapatrica* (como lo indica su nombre) correspondería al resultado del proceso de dispersión parapatrica del gran linaje *M. gajardoi*. Dependiendo del grado de divergencia entre estos dos taxa y de los criterios operacionales para diferenciarlas, no es erróneo sugerir que *M. parapatrica* pueda alternativamente ser considerada una subespecie de *M. gajardoi*.

Comparando *Mepraia* y *T. infestans*

Análisis filogeográficos usando el gene mitocondrial *COI* mostraron que los haplotipos de *T. infestans* presentes en Chile representan los dos grandes linajes previamente descritos, el andino y no andino. En base a esto, se sugirió que la dispersión de *T. infestans* hacia lo que hoy es territorio Chileno habría ocurrido por dos zonas: i) la zona norte desde Perú y Bolivia (variante andina) hacia las regiones de Arica y Tarapacá, y ii) la zona norte-centro desde Argentina y Uruguay (variante no andina) hacia las regiones de Antofagasta, Atacama, Coquimbo y Metropolitana (Torres-Pérez et al. 2011). La divergencia entre los linajes andino y no-andino fue estimada hace unos 0.388-0.588 Ma (Torres-Pérez et al. 2011). Del mismo modo, la divergencia entre los linajes de *Mepraia* ha sido estimada alrededor de los 2.8-4.5 Ma (Campos et al. 2013b). El ancestro común más reciente de *T. infestans* fue estimado hace unos 0.89 Ma, mientras que el de *Mepraia* hace 3.6 Ma (Campos et al. 2013b), es decir, *Mepraia* habría estado presente en territorio Chileno mucho antes que el vector *T. infestans*. En base a estas estimaciones, se postuló que la dispersión de *T. infestans* hacia Chile habría ocurrido de forma silvestre y no mediada por el hombre (al menos en sus orígenes), dado que son

tiempos muy anteriores a la colonización humana en América y de los primeros movimientos indígenas (Dixon 2001, Torres-Pérez et al. 2011). Sin embargo, con el surgimiento de la domesticación de algunos roedores como fuente de alimento atractivos para los vectores silvestres, es posible que *T. infestans* se haya adaptado al ambiente doméstico y posteriormente las migraciones de las poblaciones humanas hayan adquirido un papel importante en la dispersión pasiva de esta especie, por ejemplo, en las primeras tribus andinas hace 5000 años A.C. y posteriormente con las culturas precolombinas (Cortez et al. 2010, Solari 2011). Los datos anteriores permiten postular que la presencia de *T. infestans* y *Mepraia* en Chile habría ocurrido principalmente de forma silvestre, aunque en períodos muy divergentes. Como dato adicional, se ha detectado la presencia de DNA de *T. cruzi* en momias de la cultura Chinchorro en las costas de la Región de Arica con una data de 9.000 años de antigüedad, correspondiendo al reporte más antiguo de la enfermedad de Chagas (Aufderheide et al. 2004). Considerando la antigüedad de este hallazgo y que no existen reportes de *T. infestans* habitando zonas costeras, se puede sugerir que *M. gajardoi* podría haber sido el vector responsable de propagar la infección en esa cultura. Lo anterior, evidencia la importancia que desempeñan los vectores silvestres en la transmisión de *T. cruzi*, cumpliendo un rol clave en la mantención de la nidalidad (Balashov 2010) de la infección desde periodos ancestrales.

Conclusión

Los estudios realizados hasta ahora permiten sugerir que *Mepraia* es un taxa ancestral, y que el arribo de *T. infestans* y *Mepraia* en lo que hoy es territorio chileno habría ocurrido en períodos muy divergentes. Existen diversas hipótesis biogeográficas que explican la actual estructura poblacional y ancestralidad de los linajes de *Mepraia*, por lo que se hace necesario someter a prueba estas distintas hipótesis implementado modernas herramientas provenientes de la filogeografía, bioinformática, acoplado a las técnicas morfométricas o citogenética que permiten robustas inferencias especialmente en grupos con profundas divergencias. El entendimiento de los procesos biogeográficos nos proveen valiosa información que contribuyen al entendimiento de los procesos históricos de la epidemiología de la infección chagásica, conocimiento que podría ser

aplicado para diseñar e implementar estrategias preventivas de manejo y control en las distintas áreas endémicas en las que pueden habitar estos vectores.

Agradecimientos

Los autores agradecen a todo el personal que ayudó en las actividades de terreno, al valioso e incondicional apoyo del Dr. Aldo Solari y Dra. Carezza Botto-Mahan y al financiamiento de CONICYT Programa FONDECYT en especial al proyecto 3150289.

Referencias

- Aufderheide AC, Salo W, Madden M, Streitz J, Buikstra J, Guhl F, et al. A 9,000-year record of Chagas' disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101(7): 2034–2039.
- Balashov YS. The 70th anniversary of E.N. Pavlovsky's concept of natural nidity of human diseases. *Entomol. Rev*. 2010. p. 533–536.
- Cabello CC & Cabello CF. Zoonosis con reservorios silvestres: Amenazas a la salud pública y a la economía. *Rev Med Chil*. 2008; 136(3): 385–393.
- Calleros L, Panzera F, Bargues MD, Monteiro FA, Klisiowicz DR, Zuriaga MA, et al. Systematics of *Mepraia* (Hemiptera-Reduviidae): Cytogenetic and molecular variation. *Infect Genet Evol*. 2010; 10(2): 221–228.
- Campos R, Botto-Mahan C, Coronado X, Catala SS, Solari A. Phylogenetic relationships of the spinolai complex and other Triatomini based on mitochondrial DNA sequences (Hemiptera: Reduviidae). *Vector borne zoonotic Dis*. 2013a; 13(1): 73–76.
- Campos R, Botto-Mahan C, Coronado X, Jaramillo N, Panzera F, Solari A. Wing shape differentiation of *Mepraia* species (Hemiptera: Reduviidae). *Infect Genet Evol*. 2011; 11(2): 329–333.
- Campos R, Monsalve J, Botto-Mahan C, Torres-Pérez F, Solari A. Análisis de cabezas en los linajes del género *Mepraia* sugiere una conformación híbrida en *M. parapatrica* (Hemiptera: Reduviidae). XVI Jornadas anuales de Parasitología. *Rev Parasitol Latinoam*. Olmué; 2015b. p. 45–84.
- 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*. 2013b; 19: 280–286.
- Campos-Soto R, Torres-Pérez F, Solari A. Phylogenetic incongruence inferred with two mitochondrial genes in *Mepraia* spp. and *Triatoma eratyrisiformis* (Hemiptera, Reduviidae). *Genet Mol Biol*. 2015a; 38(3): 390–395.
- Correia N, Almeida CE, Lima-Neiva V, Gumiel M, Dornak LL, Lima MM, et al. Cross-mating experiments detect reproductive compatibility between *Triatoma sherlocki* and other members of the *Triatoma brasiliensis* species complex. *Acta Trop*. 2013; 128(1):162–167.
- Cortez MR, Monteiro FA, Noireau F. New insights on the spread of *Triatoma infestans* from Bolivia-Implications for Chagas disease emergence in the Southern Cone. *Infect Genet Evol*. 2010; 10(2):350–353.
- Costa J, Peterson AT, Pierre J. Morphological evidence suggests homoploid hybridization as a possible mode of speciation in the Triatominae (Hemiptera, Heteroptera, Reduviidae). *Infect Genet Evol*. 2009; 9:263–270.
- Dixon JE. Human colonization of the Americas: Timing, technology and process. *Quat Sci Rev*. 2001; 20(1-3): 277–299.
- Dujardin JP, Panzera P, Schofield CJ. Triatominae as a Model of Morphological Plasticity under Ecological Pressure. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999; 94: 223–228.
- Evans J. Palaeozoic and Mesozoic hemiptera (Insecta). *Aust. J. Zool*. 1956. p. 165.
- Frías 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. *Neotrop Entomol*. 2010; 39(4): 572–583.
- Frías D & Atria J. Chromosomal variation, macroevolution and possible parapatric speciation in *Mepraia spinolai* (Porter) (Hemiptera: Reduviidae). *Genet Mol Biol*. 1998; 21(2): 179–184.
- Frías D, Henry A, Gonzalez C. *Mepraia gajardoi*: a new species of tritominæ (Hemiptera: Reduviidae) from Chile and its comparison with *Mepraia spinolai*. *Rev Chil Hist Nat*. 1998; 71: 177–188.
- Gürtler RE, Diotaiuti L, Kitron U. Commentary: Chagas disease: 100 years since discovery and lessons for the future. *Int J Epidemiol*. 2008; 37(4): 698–701.
- Hartley AJ & Chong G. Late Pliocene age for the Atacama Desert: Implications for the desertification of western South America. *Geology*. 2002; 40(1): 43.

- Hypša V, Tietz DF, Zrzavý J, Rego ROM, Galvao C, Jurberg J. Phylogeny and biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): Molecular evidence of a New World origin of the Asiatic clade. *Mol Phylogenet Evol.* 2002; 23(3): 447–457.
- Justi SA, Russo CAM, Mallet JRDS, Obara MT, Galvão C. Molecular phylogeny of Triatomini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Parasit Vectors.* 2014; 7: 149.
- Lent H. Microtriatoma pratai sherlock & Guitton, 1982 é sinônimo do Hemíptero predador Aradomorpha Championi Lent & Wygodzinsky, 1944 (Reduviidae, Reduviidae): notas. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1982. p. 449–451.
- Lent H, Jurberg J, Galvão C. Revalidação do gênero *Mepraia*, Mazza, Gajardo & Jorg, 1940 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1994; 89(3): 347–352.
- Lent H & Wygodzinsky P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull Am museum Nat Hist.* 1979; 163: 123–529.
- Lloyd-Smith JO, George D, Pepin KM, Pitzer VE, Pulliam JRC, Dobson AP, et al. Epidemic dynamics at the human-animal interface. *Science.* 2009; 326(5958):1362–1367.
- Martínez-Hernandez F, Martínez-Ibarra J a, Catalá S, Villalobos G, de la Torre P, Lacleste JP, et al. Natural crossbreeding between sympatric species of the phyllosoma complex (Insecta: Hemiptera: Reduviidae) indicate the existence of only one species with morphologic and genetic variations. *Am J Trop Med Hyg.* 2010; 82(1): 74–82.
- Martínez-Ibarra J, Morales-Corona Z, MG M-R, Del Riego-Ruiz R, Mundo-Barajas M. Híbridos naturales y fértiles entre especies del complejo *Meccus phyllosomus* (Hemiptera: Reduviidae) en Jalisco, México. *Entomol Mex.* 2005;4: 734–738.
- Mazza S, Gajardo R, Jörg M. *Mepraia* novum genus de Triatominae. *Mepraia spinolai* (Porter) 1933, redescrición del macho y descripción de la hembra. MEPRÁ Publicación. 1940; 44: 3–30.
- Moreno ML, Gorla D, Catala S. Association between antennal phenotype , wing polymorphism and sex in the genus *Mepraia* (Reduviidae : Triatominae). 2006; 6: 228–234.
- Patterson JS & Gaunt MW. Phylogenetic multi-locus codon models and molecular clocks reveal the monophyly of haematophagous reduviid bugs and their evolution at the formation of South America. *Mol Phylogenet Evol.* 2010; 56(2):608–621.
- Patterson JS, Schofield CJ, Dujardin JP, Miles MA. Population morphometric analysis of the tropicopolitan bug *Triatoma rubrofasciata* and relationships with old world species of *Triatoma*: evidence of New World ancestry. *Med Vet Entomol.* 2001; 15(4): 443–451.
- de Paula AS, Diotaiuti L, Schofield CJ. Testing the sister-group relationship of the Rhodniini and Triatomini (Insecta: Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mol Phylogenet Evol.* 2005; 35(3): 712–718.
- Pérez R, Hernández M, Quintero O, Scvortzoff E, Canale D, Méndez L, et al. Cytogenetic analysis of experimental hybrids in species of Triatominae (Hemiptera-Reduviidae). *Genetica.* 2005;125(2-3):261–270.
- Ryckman R. Recent Observations of Cannibalism in *Triatoma* (Hemiptera : Reduviidae). *J Parasitol.* 1951; 37(5): 433-434.
- Sandoval CM, Duarte R, Gutiérrez R, Rocha D da S, Angulo VM, Esteban L, et al. Feeding sources and natural infection of *Belminus herreri* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) from dwellings in Cesar, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004; 99(2): 137–140.
- Sandoval CM, Joya MI, Gutierrez R, Angulo VM. Cleptohaematophagy of the Triatomine bug *Belminus herreri*. *Med Vet Entomol.* 2000; 14(1): 100–101.
- Schofield CJ. *Trypanosoma cruzi* - The Vector-parasite Paradox. 2000; 95(4):535–544.
- Schofield CJ & Galvão C. Acta Tropica Classification, evolution , and species groups within the Triatominae. 2009; 110: 88–100.
- Solari A. Past and present of chagas disease in Northern Chile. *Chungara.* 2011; 43(2): 315–322.
- Stevens L, Dorn PL, Schmidt JO, Klotz JH, Lucero D, Klotz SA. Kissing bugs. The vectors of Chagas. *Adv Parasitol.* 2011; 75: 169–192.
- Torres-Pérez F, Acuna-Retamar M, Cook JA, Bacigalupo A, García A, Cattán PE. Statistical phylogeography of Chagas disease vector *Triatoma infestans*: Testing biogeographic hypotheses of dispersal. *Infect Genet Evol.* 2011; 11(1): 167–174.
- Weirauch C & Munro JB. Molecular phylogeny of the assassin bugs (Hemiptera: Reduviidae), based on mitochondrial and nuclear ribosomal genes. *Mol Phylogenet Evol.* 2009; 53(1): 287–299.

Focos silvestres de *Triatoma infestans* en Latinoamérica: análisis y perspectivas para Chile.

BACIGALUPO, A.¹ ; CORREA, J. P. ²; GARCÍA, A.³; CATTAN, P. E ^{1*}

- ¹ Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
- ² Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- ³ Oficina de Formación Médica Sede La Serena, Facultad de Medicina, Universidad Pedro de Valdivia.

* pcattan@u.uchile.cl

Summary

The Chagas disease vector, *Triatoma infestans*, has ordinarily been considered as a strictly domiciliated species. However, its presence in the sylvatic environment has been reported with increasing frequency.

This paper summarizes the findings of wild foci of *T. infestans* performed to date in Latin America.

We review the sylvatic findings of this triatomine in Chile, including data from a new focus of this vector species found outside human dwellings.

Furthermore, we include an analysis of the phenomenon and prospects for the situation of the wild foci of *T. infestans* in Chile.

Antecedentes de *Triatoma infestans*

Triatoma infestans (Hemiptera: Reduviidae) es el vector más importante de *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas, debido a su amplia distribución y a sus hábitos casi exclusivamente domésticos (Lent & Wygodzinsky 1979, Dias et al. 2002). Este insecto se difundió por casi la mitad del continente sudamericano favorecido por la asociación con migraciones humanas. En el sur de Perú, Bolivia y en el noroeste de Argentina, *T. infestans* ocupa hábitats peridomésticos tales como gallineros, cueros y corrales de cabras. En climas más cálidos la especie no suele sobrevivir fuera de las viviendas humanas (Schofield 1994). Sin embargo tolera temperaturas bajo 0°C hasta 37°C (Lent & Wygodzinsky 1979). En Chile se distribuyó inicialmente en viviendas desde la actual región de Arica y Parinacota por el extremo norte hasta la región del Libertador General Bernardo O'Higgins por el sur; sin embargo, los Servicios de Salud de Arica y de O'Higgins no han capturado ejemplares (ISPCH 2014), por lo que la especie habría reducido parcialmente su distribución en la zona norte y centro de Chile. Cabe destacar que se mantienen los programas de vigilancia activa y pasiva en las áreas previamente endémicas (OPS 2002, ISPCH 2014).

Los ministros de salud de los países del Cono Sur – Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay – en el marco de la “Iniciativa en Salud de

los Países del Cono Sur” (INCOSUR), crearon una comisión intergubernamental encargada de elaborar y ejecutar un plan de acción para la eliminación de *T. infestans*, vector domiciliario en esta sub-región, y la interrupción de la transmisión de *T. cruzi* por transfusión de sangre en 1991 (Alleyne 2002). La idea de la ausencia de poblaciones silvestres de *Triatoma infestans* fue el argumento pivotante al momento de lanzar campañas de control a gran escala contra este vector (Noireau et al. 2005). Chile fue el segundo país donde se declaró interrumpida la transmisión vectorial de *T. cruzi* en 1999, lo que fue certificado mediante un estudio serológico en niños (Lorca et al. 2001).

Según Schofield (1988), el proceso de domesticación de esta especie dataría de la época precolombina, asociado a la adquisición de sedentarismo por pueblos preincaicos y la cría doméstica del cuy (*Cavia porcellus*). *Triatoma infestans* ha sido considerado como originario de los valles de Cochabamba, Bolivia, y éste sería el probable centro de dispersión de la especie al resto de Sudamérica (Usinger et al. 1966, Schofield 1988, Dujardin et al. 1998, Barges et al. 2006). A partir del foco original, *T. infestans* se habría difundido al norte de Chile y sur de Perú; posteriormente, se habría extendido a Argentina y luego a Brasil pasando por el Chaco (Schofield 1988). Estas hipotéticas vías de dispersión han sido respaldadas por estudios isoenzimáticos y cromosómicos de poblaciones de *T. infestans* desde varias áreas geográficas (Panzera 1996, Dujardin et

al. 1998). Sin embargo, Torres-Pérez et al. (2011) propusieron que la colonización de *T. infestans* en Chile se habría dado por dos rutas: una por el norte, provenientes de Perú y Bolivia, generando las poblaciones del extremo norte de Chile (andinas); y otra desde el sureste, provenientes de Argentina, ya que los individuos de la zona centro-norte de Chile son más similares genéticamente a los encontrados en Argentina y Uruguay (no-andinas). Este antecedente se relaciona con lo encontrado por Cristi (2001), quien utilizando morfometría geométrica encontró claras diferencias entre individuos provenientes de Chile y Argentina respecto a especímenes bolivianos.

Focos silvestres en Latinoamérica

La existencia de poblaciones silvestres de *T. infestans* en el Cono Sur de América habría sido reportada inicialmente por Berg en Argentina (1879), donde se habrían encontrado ninfas entre piedras y maderas. Luego, Barrera habría hallado a la especie en nidos de pájaros ocupados por roedores en Mendoza, Argentina (1939). Posteriormente, Mazza habría hallado ejemplares en nidos de pájaros ubicados en la eco-región del Chaco de Santiago del Estero, Argentina (1943). Por otro lado, Torrico (1946) encontró a *T. infestans* en un sitio a 15 km al sur de la ciudad de Cochabamba, Bolivia, junto con *Triatoma sordida*, en piedras apiladas donde habitaban pequeños roedores.

Sin embargo, estos hallazgos no cambiaron la concepción generalizada de que la especie era estrictamente domiciliaria (Barretto et al. 1963). Se necesitaron muchos reportes para que se considerara la posibilidad de que la especie mantenía las capacidades de sobrevivir y desarrollarse fuera del hábitat altamente intervenido que genera la vivienda humana.

Se ha confirmado la existencia de focos silvestres de *T. infestans* en Bolivia en los valles de Cochabamba (Dujardin et al. 1987, Bermudez et al. 1993). En la comparación por isoenzimas, las poblaciones domésticas y silvestres eran virtualmente idénticas (Dujardin et al. 1987), mientras que diferían por morfometría (Dujardin et al. 1997a). Observaciones recientes mostraron una extensión más difundida de los focos silvestres de *T. infestans* en Bolivia. Entre 1995 y 1997, se capturaron ejemplares de *Triatominae* similares a especímenes domésticos de *T. infestans*, pero diferentes por morfometría y coloración

comparados con ejemplares domésticos capturados a 110 km de distancia. Estos fueron hallados en 13 sitios dentro de un radio de 15 km de un área deshabitada del Chaco en el Departamento de Santa Cruz, Bolivia (Noireau et al. 1997), en huecos de árboles (Noireau et al. 1999a, 1999b). Posteriormente, Noireau et al. (2000a) informaron de focos en el departamento de La Paz, Bolivia, correspondientes a poblaciones encontradas en valles andinos entre los 2.400 y 2.600 m.s.n.m. Su patrón cromático, perfiles isoenzimáticos y análisis de secuencias de ADN eran similares a especímenes domésticos, pero por medio de RAPD (*random amplified polymorphic DNA*) y morfometría se encontraron diferencias. Otras prospecciones han generado nuevos hallazgos, por lo que en resumen, se han reportado dos tipos de focos silvestres en Bolivia: 1) los andinos, en los departamentos de Cochabamba, La Paz, Chuquisaca y Potosí, que se ubican en la eco-región de los Bosques Secos Interandinos (Noireau et al. 2005, Buitrago et al. 2010, Roca et al. 2011, Brenière et al. 2013) y 2) los no-andinos, en el Chaco boliviano, los que se caracterizaron por una coloración más oscura (*dark morph*), y por localizarse en árboles huecos (Noireau et al. 2000a, 2000b, 2005).

Se han producido nuevos hallazgos ocasionales de adultos y ninfas en situación silvestre también en Argentina (Bejarano 1967, Viana & Carpintero 1977; Cichero et al. 1984) incluyendo formas melánicas de *T. infestans* en el Chaco argentino (Ceballos et al. 2009). Se han hallado focos silvestres en Paraguay (Velasquez & González 1959, Rolón et al. 2011) y Brasil, en el estado de Sao Paulo, donde fue encontrado en palmeras y en huecos de árboles, a veces conviviendo con otras especies de triatomos (Barretto et al. 1963, Barretto & Ferrioli 1964, Barretto 1967, Zeledón y Rabinovich, 1981). En general estos hallazgos han sido bajo piedras, troncos de árboles caídos o huecos, debajo de cortezas, en madrigueras de marsupiales o roedores y en nidos de aves (Ronderos et al. 1980, Noireau et al. 1999a, 1999b).

Triatoma infestans silvestre en Chile

En Chile, en la Región de Atacama, existía el antecedente del hallazgo de dos ninfas y un huevo de *T. infestans* en un nido de ave paseriforme encontrado en un eucalipto, *Eucalyptus globulus*, el cual presentaba individuos adultos bajo la corteza;

este foco fue hallado como resultado de la vigilancia activa en Amolanas, comuna de Tierra Amarilla, provincia de Copiapó (González et al. 2003).

Durante el verano 2003-2004 detectamos focos silvestres de *T. infestans* asociados a bromeliáceas terrestres del género *Puya* en las comunas de Calera de Tango y Talagante, provincia del Maipo, Región Metropolitana (Bacigalupo et al. 2006). Debido a este reporte, en la XIV reunión de la Comisión Intergubernamental del Cono Sur (INCOSUR) para la eliminación del *T. infestans*, se recomendó: “apoyar en Chile la caracterización taxonómica y la interpretación del hallazgo de poblaciones silvestres o con adaptación secundaria al ambiente silvestre, de presuntos especímenes de *Triatoma infestans*, de reciente localización en Región Metropolitana” (OPS 2005). Los *T. infestans* capturados fueron analizados respecto a su infección por *T. cruzi*, encontrándose un 40,9% de infección (Bacigalupo et al. 2006).

En el año 2008, encontramos nuevos focos asociados a pircas – muros de piedras apiladas que delimitan los predios – en la comuna de Putaendo, provincia de San Felipe de Aconcagua, Región de Valparaíso. Estas pircas albergaban una gran cantidad de pequeños mamíferos. La infección en los *T. infestans* analizados alcanzó un 36,5% (Bacigalupo et al. 2010).

En la Región de Atacama - donde se había notado un paulatino aumento de los reportes de *T. infestans* ingresando a las viviendas -, gracias a la vigilancia realizada en conjunto por personal de la Seremi de Salud (Secretaría Regional Ministerial de Salud), del MINSAL (Ministerio de Salud de Chile) y del ISPCH (Instituto de Salud Pública de Chile), en 2014 lograron hallar ninfas de la especie en pircas del sector de Quebrada de la Plata, en la comuna de Alto del Carmen, provincia de Huasco (Bertoglia 2014). No se reportó su estatus de infección por *T. cruzi*.

Recientemente, capturamos 4 ninfas estadio I en 2 noches de trampeo en un mismo punto de una pirca que conformaba un corral de cabras en Valle Hermoso, Comuna de Combarbalá, provincia de Limarí, Región de Coquimbo, Chile. Este corral estaba cercano a una vivienda humana; sin embargo, ésta se encontraba aislada, sin otras viviendas cercanas, ubicada en un cerro de la localidad, inmersa en el hábitat semiárido característico del área, por lo que su hallazgo podría ser considerado tanto peridoméstico como silvestre (Bacigalupo et al. datos no publicados). Aún no se dispone del resultado del

estatus de infección de estos individuos.

Análisis FODA en Chile

Fortalezas:

- Actualmente, el Ministerio de Salud de Chile (MINSAL), en conjunto con sus SEREMIS regionales, incorporan el concepto de *T. infestans* como una especie con focos silvestres en el marco de los programas de control y vigilancia de la enfermedad de Chagas (ISPCH 2014).

- Esto ha significado que en su programación regular, dediquen parte de su quehacer a realizar vigilancia activa en búsqueda de la fuente de los vectores que invaden los domicilios (por ej. Bertoglia 2014).

- El sistema de control y vigilancia centralizado que hay en Chile permite que las acciones puedan ser llevadas a cabo de forma uniforme, unificada y verificable, ya que los distintos Servicios de Salud deben cumplir y completar los mismos requerimientos e informes a lo largo del área endémica. Esto es debido a que son supervisados por autoridades del MINSAL que tienen a su cargo a todos los componentes del programa de control de la enfermedad de Chagas. Lo anterior permite que el MINSAL pueda hacer análisis a nivel país reuniendo todos los antecedentes disponibles, detectando aquellas áreas donde sea probable que la infestación o invasión de viviendas esté siendo generada por focos silvestres de *T. infestans* fuera de ellas. Esto se comprueba en la Norma General Técnica, donde se busca la integración y coordinación del sistema de salud (MINSAL 2014).

- Los materiales de construcción de viviendas rurales actualmente desfavorecen el adobe, el cual tiene alto riesgo de infestación. Prevalecen la madera y el cemento (Zulantay et al. 2004).

Debilidades:

- El desarrollo de actividades de vigilancia activa en búsqueda de focos silvestres de *T. infestans* podría interferir con la realización de otras actividades también importantes para los programas de control de la enfermedad de Chagas, tales como la fumigación de viviendas con insecticidas. Esta situación se podría suscitar en el periodo de mayor actividad de los triatomíneos - cuando es más probable capturarlos por su búsqueda activa de alimento - que

es la temporada calurosa de verano, periodo en el cual también se realizan las desinsectaciones en las casas y que corresponde a la época donde deberían realizarse las prospecciones en búsqueda de focos silvestres.

- Los últimos monitoreos y hallazgos realizados por el personal estatal de salud no han sido publicados en revistas científicas, ni tampoco se dispone de un sistema para mantener la información de fácil acceso al público interesado, lo que dificulta que estos datos puedan ser utilizados para análisis posteriores en el ámbito científico, tales como estudios de distribución geográfica de la especie, estudios de nicho ecológico, etc.

- La población en áreas endémicas ha sufrido una pérdida de “memoria histórica” respecto a la vinchuca (MINSAL 2014), lo que la pone en riesgo de reinfestaciones, conductas inapropiadas (tales como aplastar a los triatominos con la mano), y causa que los hallazgos de vectores no sean informados a las autoridades encargadas; es decir, falla de la vigilancia pasiva.

- La educación a la población en las áreas susceptibles de tener focos silvestres de *T. infestans* no se ha enfocado en el reconocimiento de todos los estados de desarrollo de *T. infestans*: los folletos informativos oficiales muestran primordialmente individuos adultos, lo que hace que las personas no reconozcan a los estados ninfales como pertenecientes a la misma especie, ni tampoco comprenden que las ninfas son capaces de transmitir *T. cruzi* (Bacigalupo et al 2006, 2010). Esto es relevante, dado que la población se podrían ver expuesta al ataque por ninfas al realizar excursiones o actividades como pastoreo de ganado, caza o minería, propias del ambiente rural, que es donde se localizan los focos silvestres.

- No parece haber una política de mejoramiento de la vivienda rural, en la forma de mallas para cubrir ventanas y puertas, como medida necesaria para controlar la invasión reiterada por vectores triatominos a las casas.

Oportunidades:

- Las prospecciones podrían dar como resultado la detección de focos silvestres de otras especies de triatominos, vectores de *T. cruzi*. Un relevamiento de los focos silvestres de triatominos, sean éstos *T. infestans* u otra especie, es crucial para poder evaluar el riesgo de dispersión de éstos a las

comunidades adyacentes.

- Existe en el país una capacidad instalada de científicos en universidades y centros de investigación, quienes podrían realizar acciones conjuntas con la autoridad sanitaria para monitorear y buscar focos silvestres de la especie, haciendo además otros análisis, tales como estudios genéticos para determinar si los *T. infestans* hallados en los domicilios provendrían de los focos silvestres que se hayan detectado; análisis de perfiles alimentarios para averiguar la dieta de los triatominos; y otras metodologías disponibles en la actualidad. Estas actividades podrían aportar a tener una aproximación al riesgo epidemiológico que estas poblaciones suponen al ser humano.

- El lamentable resultado del movimiento telúrico registrado en gran parte de la zona endémica en septiembre de este año produjo la caída de muchas viviendas de adobe; se sugiere que se inste a la comunidad a ocupar materiales para reconstruir que tengan menor probabilidad de albergar colonias de triatominos.

Amenazas:

- Tal como ha sido manifestado en otras ocasiones, en diferentes países, el “castigo al éxito” en el marco del control vectorial de *T. infestans* es una amenaza constante en países como Chile, que han sido exitosos en reducir el riesgo epidemiológico, lo que conlleva a que se reduzcan los recursos disponibles y el interés político (Schofield et al. 2006) para los programas de control, produciéndose competencia con otras prioridades sanitarias (MINSAL 2014). Esto repercutiría directamente en los programas de vigilancia entomológica activa de focos silvestres de *T. infestans*, puesto que su importancia relativa respecto a aquellas acciones que resguardan la salud humana directamente, como la fumigación de las viviendas para evitar la transmisión vectorial, se vería disminuida.

Perspectivas para Chile

En vista del escenario actual y de los reportes crecientes de hallazgos de *T. infestans* en ecotopos silvestres, y dado que la colonización en las viviendas es prácticamente nula en el país, sólo con algunos focos residuales en las regiones de Antofagasta y Coquimbo (ISPCH 2014), creemos que la existencia de focos externos a los domicilios - peridomésticos

y/o silvestres - se plantea como la explicación más probable para la gran cantidad de denuncias de especímenes adultos ingresando a los domicilios en el área endémica de Chile. Por ende, esperamos que al intensificarse las acciones de vigilancia activa tanto de la Autoridad Sanitaria como de instituciones dedicadas a la investigación, sean frecuentes los hallazgos de nuevos focos silvestres de la especie en el país.

Los reportes recientes han proporcionado evidencia de que los focos silvestres de *T. infestans* están mucho más difundidos de lo que se pensó, lo que necesariamente lleva hacia la investigación sobre el rol que cumplen las poblaciones silvestres en la recolonización de viviendas tratadas con insecticida (Noireau et al. 2005). Se debe comprobar que el origen de los individuos que invaden las viviendas sean los focos silvestres en cada caso, lo que requiere de investigaciones exhaustivas que comprendan tanto prospecciones en terreno en búsqueda de remanentes domésticos o peridomésticos, como de estudios genéticos y/o morfometría para poder aseverarlo, y así descartar que existan poblaciones residuales que hayan sobrevivido a las desinsectaciones realizadas con insecticidas. La recolonización puede ser testeada genéticamente, comparando poblaciones domésticas y silvestres para determinar si está ocurriendo flujo génico, usando marcadores polimórficos como ADN mitocondrial y microsatélites. Un análisis genético que comparó individuos domésticos y silvestres de Chile utilizando marcadores mitocondriales, arrojó que los *T. infestans* encontrados en domicilios no se segregaban de aquellos capturados en sectores silvestres (Torres-Pérez et al. 2011), y por tanto sus diferencias a nivel mitocondrial no permitían separar a ambos grupos. La recolonización también puede ser evaluada comparando ejemplares mediante morfometría geométrica (Dujardin et al. 1997a, 1997b): la comparación de ninfas entre poblaciones silvestres y de laboratorio de Chile, mostró diferencias significativas solamente en el tamaño isométrico de las cabezas (Moreno et al. 2009), lo que podría ser útil para determinar el origen de estados juveniles que puedan ser hallados en las viviendas.

Se puede estimar también la capacidad de dispersión, según la distancia entre ambos tipos de poblaciones, por medio de técnicas de marcado y recaptura (Noireau et al. 2005). Además, el uso de herramientas como sistemas de información geográfica para definir los focos silvestres actuales de

T. infestans aumentaría las posibilidades de predecir la distribución geográfica de otras poblaciones silvestres de esta especie y su eventual dispersión (Gorla 2002).

Siempre existirá la posibilidad de que una hembra fecundada de *T. infestans* ingrese a una vivienda, ponga huevos, y éstos sobrevivan a los insecticidas. De estos huevos pueden eclosionar ninfas, las cuales podrían recolonizar la vivienda, si las medidas de vigilancia pasiva, que involucra la detección por los moradores, como también las medidas de control y vigilancia activa, realizadas por el servicio de salud, no permanecen vigentes. La invasión por una hembra fecundada pareciera ser lo que ocurrió en el foco encontrado en el corral de cabras, ya que sólo se encontraron ninfas de primer estadio en un único punto, lo que hace sospechar que habrían emergido recientemente, y que habrían sido producto de la oviposición de una hembra que habría migrado o muerto, ya que no hubo otros triatominos capturados. Es relevante destacar que las hembras de *T. infestans* en laboratorio pueden vivir hasta 52 semanas y producir casi 400 huevos, de los cuales aproximadamente el 60% eclosionará si la hembra está fecundada (Rozas-Dennis & Cazzaniga 2000).

Esperamos que esta revisión y análisis pueda ser de utilidad para las autoridades de salud del país, en pos de tener una efectiva eliminación domiciliar de *T. infestans*.

Agradecimientos

Financiamiento: FONDECYT 1140650. Al Dr. José Antonio Segura, de la SEREMI de Salud Región Metropolitana, por hacernos partícipes del problema de la invasión de *Triatoma infestans*. A todos quienes participaron de los terrenos y del trabajo de laboratorio generado por la investigación de triatominos. A MINSAL y SEREMIs de Salud Región Metropolitana, de Valparaíso y de Coquimbo, por su apoyo en terreno y entrega de información relevante. A la Dra. Anita Bonell, por facilitar alojamiento en terreno.

Referencias

- Alleyne GAO. Prólogo. In: OPS (Organización Panamericana de la Salud). El control de la enfermedad de Chagas en los países del Cono Sur de América. Historia de una iniciativa internacional. 1991/2001. [Internet] 2002. [cited 2015 Nov 30].; p. 2-4 Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?gid=20193&option=com_docman&task=doc_view
- Bacigalupo A, Segura JA, García A, Hidalgo J, Galuppo S, Cattán PE. Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile. *Rev Med Chil.* 2006; 134:1230-1236.
- Bacigalupo A, Torres-Pérez F, Segovia V, García A, Correa JP, Moreno L et al. Sylvatic foci of the Chagas disease vector *Triatoma infestans* in Chile: description of a new focus and challenges for control programs. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2010; 105(5):633-641.
- Bargues MD, Klisiowicz DR, Panzera F, Noireau F, Marcilla A, Perez R, et al. Origin and phylogeography of the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* based on nuclear rDNA sequences and genome size. *Infect Genet Evol.* 2006; 6:46-62.
- Barrera JM. Contribución al conocimiento de la peste silvática en la Argentina. Caracteres del brote de Mendoza en 1937. *Rev Inst Bacteriol Malebran.* 1939; 8:431-454.
- Barretto MP, Siqueira AF, Correa EM. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres o *Trypanosoma cruzi*. 1. Encontro do *Triatoma infestans* em ecótopos silvestres. *Rev Ins Med Trop Sao Paulo.* 1963; 5:289-293.
- Barretto MP, Ferriolli F. Estudo sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi* IV. Infecção natural do *Triatoma infestans*, encontrado em ecótopos silvestres, por tripanossomo 1964, semelhante ao *T. cruzi*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1964; 6(5):219-224.
- Barretto MP. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XVII. Contribuição para o estudo dos focos naturais da tripanossomose americana, com especial referencia à região nordeste do Estado de Sao Paulo, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1967;1(2):23-35.
- Bejarano JFR. Estado selvático de *T. infestans* y otros aspectos a tener en cuenta para la eliminación de la enfermedad de Chagas. 2das Jornadas entomoepidemiológicas argentinas. 1967; 3:171-196.
- Berg C. Hemiptera Argentina: Ensayo de una monografía de los hemípteros, heterópteros y homópteros de la República, Argentina. *An Soc Cient Argent.* 1879; 7:266-267.
- Bermudez H, Balderrama F, Torrico E. Identification and characterization of sylvatic foci of *Triatoma infestans* in Central Bolivia. *Am J Trop Med Hyg.* 1993; 49(suppl.):371.
- Bertoglia M. Focos silvestres de *Triatoma infestans* en la región de Atacama. Reunión nacional de Vectores, Vigilancia de febriles y vectores emergentes. [Internet]. Oct 2014 [cited 2015 Nov 29]; [about 30 pp]. Available from: <http://web.minsal.cl/sites/default/files/files/FOCOS%20SILVESTRES%20DE%20T%20%20INFESTANS%20OCT%202014%2C%20final.pdf>
- Brenière SF, Salas R, Buitrago R, Brémond P, Sosa V, Bosseno M-F et al. Wild populations of *Triatoma infestans* are highly connected to intra-peridomestic conspecific populations in the Bolivian Andes. *PLoS ONE.* 2013; 8(11): e80786.
- Buitrago R, Waleckx E, Bosseno MF, Zoveda F, Vidaurre P, Salas S et al. First report of widespread wild populations of *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) in the valleys of La Paz, Bolivia. *Am J Trop Med Hyg.* 2010; 82(4): 574-579.
- Ceballos LA, Piccinalli RV, Berkunsky I, Kitron U, Gürtler RE. First finding of melanic sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) colonies in the Argentine Chaco. *J Med Entomol.* 2009; 46(5):1195-1202.
- Cichero JA, Gimenez AL, Martinez A. Estudio de los vectores de la enfermedad de Chagas en ambientes silvestres, peridomésticos y domésticos. *Chagas,* 1984; 1:33-37.
- Cristi D. Caracterización fenotípica por medio de morfometría geométrica de las alas de *Triatoma infestans* en el área endémica de la enfermedad de Chagas en Chile. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. de Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 2001. 115 p.
- Dias JCP, Silveira AC, Schofield CJ. The impact of Chagas disease control in Latin America - A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002; 97:603-612.
- Dujardin JP, Tibayrenc M, Venegas E, Maldonado L, Desjeux P, Ayala FJ. Isozyme evidence of lack of speciation between wild and domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) in Bolivia. *J Med Entomol.* 1987; 24(1): 40-45.
- Dujardin JP, Bermudez H, Casini C, Schofield CJ, Tibayrenc M. Metric differences between sylvatic and domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) in Bolivia. *J Med Entomol.* 1997a; 34(5): 544-551.
- Dujardin JP, Bermudez H, Schofield CJ. The use of morphometrics in entomological surveillance of sylvatic foci of *Triatoma infestans* in Bolivia. *Acta Trop.* 1997b; 66(3): 145-153.

- Dujardin JP, Schofield CJ, Tibayrenc M. Population structure of Andean *Triatoma infestans*: allozyme frequencies and their epidemiological relevance. *Med Vet Entomol*. 1998; 12(1): 20-29.
- González J, Bertoglia M, Peña N, Aguilera C, Cabezas R. 2003. Comunicación científica sobre la detección de una colonia de *Triatoma infestans* en un ejemplar de Eucalipto (*Eucaliptus globulus*) en la comuna de Tierra Amarilla, Región de Atacama.
- Gorla DE. Variables ambientales registradas por sensores remotos como indicadores de la distribución geográfica de *Triatoma infestans*. *Ecol Aust*. 2002; 12:117-127.
- ISPCH (Instituto de Salud Pública de Chile). Vigilancia para Enfermedad de Chagas 2005-2013: Componente vectorial. Boletín Instituto de Salud Pública de Chile. [Internet] 2014; 4(6): 16 p. [cited 2015 Nov 30]. Available from: http://www.ispch.cl/sites/default/files/Chagas%202005-06-2014_0.pdf
- Lent H, Wygodzinsky P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull Am Mus Nat Hist*. 1979; 163, art. 3.
- Lorca M, García A, Bahamonde MI, Fritz A, Tassara R. Certificación serológica de la interrupción de la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas en Chile. *Rev Med Chil*. 2001; 129(3):264-269.
- Mazza S. Comprobaciones de *Triatoma platensis*, *Eutriatoma oswaldoi*, *Panstrongylus sei* y *Psammolestes coreodes* en la Provincia de Santiago del Estero, todos ellos sin infestación y de *Eutriatoma sordida* con infestación por *S. cruzi*. Otros datos sobre infestación esquizotripanósica natural silvestre de *Triatoma infestans*. *Prensa Med Argent*. 1943; 30, 1-23.
- MINSAL (Ministerio de Salud: Gobierno de Chile). Norma general técnica: control y prevención nacional de la enfermedad de Chagas. [Internet]. 2014 [cited 2015 Nov 30]. [about 98 p.]. Available from: http://www.saludohiggins.cl/attachments/2897_NORMA_TECNICA.pdf
- Moreno L, Lártiga N, Puebla M, Bacigalupo A, García A, Torres F et al. Estudio comparativo de ejemplares de *Triatoma infestans* provenientes de poblaciones silvestres y de laboratorio, mediante morfometría geométrica. *Rev Ibero-Latinoam Parasitol*. 2009; 68(2):130-136.
- Noireau F, Flores R, Gutierrez T, Dujardin JP. Detection of sylvatic dark morphs of *Triatoma infestans* in the Bolivian Chaco. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1997; 92(5):583-584.
- Noireau F, Flores R, Gutierrez T, Bermudez H, García L, Dujardin JP. La realidad de los focos selváticos de *Triatoma infestans* en Bolivia. In: Cassab AJ, Noireau F, Guillén G. (Ed.). *Chagas: la enfermedad en Bolivia: conocimientos científicos al inicio del Programa de Control (1998-2002)*. Ministerio de Salud y Previsión Social, OMS/OPS, IRD & IBBA eds, La Paz. 1999a. p. 151-155.
- Noireau F, Flores R, Vargas F. Trapping sylvatic Triatominae (Reduviidae) in hollow trees. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1999b; 93:13-14.
- Noireau F, Bastrenta B, Catalá S, Dujardin JP, Panzera F, Torres M et al. Sylvatic population of *Triatoma infestans* from the Bolivian Chaco: from field collection to characterization. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2000b; 95(Suppl. I):119-122.
- Noireau F, Flores R, Gutierrez T, Abad-Franch F, Flores E, Vargas F. Natural ecotopes of *Triatoma infestans* dark morph and other wild triatomines in the Bolivian Chaco. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2000a; 94:23-27.
- Noireau F, Cortez MG, Monteiro FA, Jansen AM, Torrico F. Can wild *Triatoma infestans* foci in Bolivia jeopardize Chagas disease control efforts? *Trends Parasitol*. 2005; 21(1):7-10.
- Organización Panamericana de la Salud. Informe de la XI Reunión de la Comisión Intergubernamental para la eliminación de *Triatoma infestans* y la interrupción de la tripanosomiasis americana por transfusión. Montevideo: OPS; 2002.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud). Herramientas para la vigilancia de *Triatoma infestans* y otros triatomines en países del Cono Sur con certificación de la interrupción de la transmisión vectorial en toda la zona endémica. 2005. 11 p. OPS/DPC/CD/356/05.
- Panzera F. Cytogenetics. In: *Proceedings of the International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae*, Schofield, Dujardin & Jurberg ed., Mexico City, INDRE. 1996. p. 78-80.
- Roca G, Mougabure G, Germano M, Santo P, Rojas M, Noireau F, et al. Susceptibility of sylvatic *Triatoma infestans* from andean valleys of Bolivia to deltamethrin and fipronil. *J Med Entomol* 2011; 48(4):828-835.
- Rolón M, Vega MC, Román F, Gómez A, Rojas de Arias A. First report of colonies of sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Paraguayan Chaco, using a trained dog. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011; 5(5):e1026.
- Ronderos RA, Schnack JA, Mauri RA. Resultados preliminares respecto de la ecología de *Triatoma infestans* (Klug) y especies congénéricas con referencia especial a poblaciones peridomiciliarias. *Medicina (Buenos Aires)*. 1980; 40(Suppl 1):187-196.

Rozas-Dennis GS, Cazzaniga NJ. Effects of *Triatoma virus* (TrV) on the fecundity and moulting of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *An Trop Med Parasitol*. 2000; 94(6):633-641.

Schofield CJ. Biosystematics of the Triatominae. In: Biosystematics of Haematophagous Insects (ed. M.W. Service) Systematics Association Special. Oxford, Clarendon Press. 1988; 37:284-312.

Schofield CJ. Triatominae: biología y control. West Sussex: Eurocommunica Publications. 1994. 78 p.

Schofield CJ, Jannin J, Salvatella R. The future of Chagas disease control. *Trends Parasitol*. 2006; 22(12):583-588.

Torres-Pérez F, Acuna-Retamar M, Cook JA, Bacigalupo A, García A, Cattán PE. Statistical phylogeography of Chagas disease vector *Triatoma infestans*: Testing biogeographic hypotheses of dispersal. *Infect Genet Evol*. 2011; 11:167-174.

Torrice RA. Hallazgo de *Eratyrus mucronatus*, infestación natural de "vinchucas" de cerro y *Eutriatoma sordida* en Cochabamba. *An Lab Central Cochabamba*. 1946; 1:19-23.

Usinger RL, Wygodzinsky P, Ryckman RE. The biosystematics of Triatominae. *Ann Rev Entomol*. 1966; 11:309-330.

Velasquez CJ, González G. Aspectos de la enfermedad de Chagas en Paraguay. *Rev Goiana Med*. 1959; 5:357-373.

Viana MJ, Carpintero DJ. Aporte al conocimiento de los triatominos en la Argentina. Primera comunicación. *Rev Museo Arg Cienc Nat Bernardino Rivadavia*. 1977; 5:161-174.

Zeledón R, Rabinovich JE. Chagas disease: an ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors. *Ann Rev Entomol*. 1981; 26:101-133.

Zulantay I, Bozán F, Salas C, Zilleruelo N, Osuna A, Gil LC et al. Enfermedad de Chagas crónica. Ausencia de *Triatoma infestans* intradomiciliario y persistencia de *Trypanosoma cruzi* circulante post-terapia. *Parasitol Latinoam*. 2004; 59:93-98.

Densidad relativa de *Mepraia spinolai* (Triatominae) y su frecuencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en Chile.

[Relative density of Mepraia spinolai (Triatominae) and its frequency of infection with Trypanosoma cruzi in Chile].

ESTADELLA V.¹, BACIGALUPO A.¹; CATTAN P.E.^{1*}

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

*Correspondencia:

Pedro E. Cattan - pcattan@u.uchile.cl
Departamento de Ciencias Biológicas Animales,
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias,
Universidad de Chile.
Santa Rosa 11.735, La Pintana, Santiago, Chile.

Summary

In this study we addressed the relative density of *Mepraia spinolai* and its frequency of infection with *Trypanosoma cruzi* in foci from the Coquimbo, Valparaíso and Metropolitana regions of Chile, in order to characterize the epidemiological situation of the sylvatic vector in the north-center area of Chile.

The insects were captured during summer using carbon dioxide emitting baited traps, and their infection status with *T. cruzi* was assessed using the polymerase chain reaction (PCR). The results were compared using Fisher's exact test between localities, and among developmental stages of the vector in each study area.

We captured 440 specimens in 39 days. The relative densities and infection percentage frequency per locality were: El Maqui, 1.28 individuals/10 m², 35.42%; Reserva Nacional Las Chinchillas, 0.93 individuals/10 m², 44.67%; El Sobrante, 0.74 individuals/10 m², 27.27%; Putaendo, 1.63 individuals/10 m², 32.81%; and Til-Til, 1.73 individuals/10 m², 36.94%.

The comparison between localities according to infection frequencies was not significant; the same occurred with the comparison between developmental stages in each locality, regarding their infection with *T. cruzi*: no significant differences were detected. By means of a logistic regression, we established that there is a positive significant relation between the relative density of *M. spinolai* in an area and the infection status of these triatomines.

Keywords: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, sylvatic vector, triatomine.

Introducción

En el ciclo biológico del protozoo *Trypanosoma cruzi* intervienen mamíferos e insectos vectores triatomíneos. Los parásitos protozoarios son transmitidos a través de las deposiciones infectadas que el vector elimina al momento de alimentarse (Apt et al. 2006). La vía más común de transmisión del parásito al hombre y, por tanto, la de mayor importancia epidemiológica, es a través de insectos hematófagos estrictos de la sub-familia Triatominae. En Chile, los triatomíneos comprenden cuatro especies: *Triatoma infestans*, de hábitos comúnmente domiciliarios; *Mepraia spinolai*, *M. gajardoii* y *M. parapatrica*, de hábitos silvestres (Apt & Reyes 1986, Frías 2010).

Mepraia spinolai se encuentra sólo en Chile entre los 26° S y 34° S (Frías et al. 1998). Su distribución está restringida a las regiones áridas y semiáridas (Frías et al. 1987). Presenta un acentuado polimorfismo, con hembras ápteras y machos ápteros, alados o braquípteros. Es de hábitos diurnos (Canals et al. 1997). Ha sido encontrada entre piedras, en grietas de rocas, en sitios de descanso de diferentes mamíferos como zorros, conejos, liebres, vizcachas, otros roedores, marsupiales y en corrales de animales

domésticos (Lent & Wygodzinsky 1979). Además, se ha encontrado en bromeliáceas y pircas (Bacigalupo et al. 2006, 2010). Exhibe una marcada zoofilia, a la inversa de *T. infestans*, que es mucho más antropofílico en sus preferencias hematófagas (Canals et al. 2001). Sin embargo, registros de la década de los 90 en la región de Coquimbo demuestran que también puede alimentarse con sangre humana (Frías et al. 1995).

Se ha estudiado en laboratorio la variación de densidad poblacional de *M. spinolai*, observándose un efecto sobre la velocidad de desarrollo y la reproducción, modulado por condiciones climáticas (Ehrenfeld 1996). En condiciones constantes de temperatura y humedad, cohortes de menor densidad muestran un desarrollo más veloz, y alta capacidad reproductiva. Esta menor duración del ciclo se ha explicado por las oportunidades de alimentación que tienen los insectos (Canals et al. 1997). Al disminuir la densidad, aumenta la posibilidad de obtener alimento y por ello disminuye el tiempo de desarrollo. Sin embargo, bajo condiciones de densidad extremadamente bajas la sobrevivencia se ve perjudicada (Ehrenfeld et al. 1998). En condiciones naturales, con variabilidad ambiental, se observaron mayores densidades en la época calurosa de verano (Cattan et al. 2002). Este vector es más abundante y muestra un mayor ámbito de

hogar en verano, cuando los hospederos mamíferos son más abundantes, sugiriendo un mayor riesgo de transmisión de *T. cruzi* en meses cálidos (Botto-Mahan et al. 2005a).

La evidencia molecular indica que algunas poblaciones de *M. spinolai* de la zona centro-norte de Chile alcanzan un 46,2% de infección con *T. cruzi* (Botto-Mahan et al. 2005b); sin embargo, los niveles de infección en el vector son espacial y temporalmente heterogéneos, dependiendo de las características ecológicas del área examinada (Correa et al. 2015).

Considerando estos antecedentes, el objetivo de este trabajo fue determinar la densidad relativa de *M. spinolai* y su frecuencia de infección con *T. cruzi* en verano en focos de las regiones de Coquimbo, Valparaíso, y Metropolitana, para caracterizar mejor la situación epidemiológica de este vector en la zona centro-norte del país. Específicamente, se propuso: a) evaluar la densidad relativa de *M. spinolai* en distintas localidades; b) determinar la frecuencia de infección por *T. cruzi* en los diferentes estados de desarrollo de *M. spinolai* en cada foco, y c) establecer si la densidad relativa y el estado de desarrollo de *M. spinolai* son factores significativos en su infección por *T. cruzi*.

Material y Método

Se muestreó en cinco localidades de la zona centro-norte de Chile, durante Enero y Febrero de 2011. Las localidades correspondieron a:

- El Maqui, Comuna de Monte Patria, Provincia de Limarí, Región de Coquimbo.
- Reserva Nacional Las Chinchillas, Comuna de Illapel, Provincia de Choapa, Región de Coquimbo.
- El Sobrante, Comuna de Petorca, Provincia de Petorca, Región de Valparaíso.
- Putaendo, Comuna de Putaendo, Provincia de San Felipe de Aconcagua, Región de Valparaíso.
- Til-Til, Comuna de Til-Til, Provincia de Chacabuco, Región Metropolitana.

La Reserva Nacional Las Chinchillas y El Maqui se localizan en la misma área climato-geográfica, denominada estepa con gran sequedad atmosférica. La amplitud térmica varía entre 15 y 20 grados durante el año. El valor anual del agua caída es un poco mayor a 200 mm alcanzando su mayor valor acumulado en

el mes de julio. La temperatura máxima promedio en verano puede alcanzar un valor levemente mayor a 30 °C y la mínima media desciende a 12,6 °C; en contraste, en el invierno la temperatura máxima no sobrepasa los 20 °C y la mínima llega en promedio a 5,0 °C (Dirección Meteorológica de Chile, 2008). El Sobrante, Putaendo y Til-Til, presentan características de clima templado cálido con estación seca prolongada de 8 a 7 meses. La principal característica de este clima son las precipitaciones de invierno, entre mayo y agosto, con el 80% de lo que cae en todo el año. Estas precipitaciones son de nieve en aquellas zonas ubicadas sobre 1.500 metros de altura; ocasionalmente se registra alguna nevazón en los sectores bajos. La época seca está constituida por 7 u 8 meses con precipitaciones inferiores a 40 milímetros. La amplitud térmica anual es alta; hay casi 13 grados de diferencia entre el mes más cálido (enero) y el más frío (julio). La diferencia media entre las temperaturas máximas y mínimas diarias es entre 14 y 16 grados (Dirección Meteorológica de Chile, 2008). La zona que comprende todos los puntos de muestreo corresponde a un bioma de carácter templado mesomórfico, el cual se desarrolla entre los 31° y los 37° de latitud sur. Se describe como una zona de transición entre los caracteres xeromórficos del norte e hidromórficos del sur, con amplia presencia de arbustos espinosos, y hojas especialmente acondicionadas para evitar la pérdida de humedad a través de la transpiración. El Maqui se ubica en una zona entre el límite de estepa alto-andina de la cordillera de Coquimbo y estepa arbustiva de la precordillera; la Reserva Nacional las Chinchillas presenta una vegetación de matorral estepario del interior; mientras que Petorca, Putaendo y Til-Til presentan vegetación de matorral espinoso de la serranía (Gajardo 1995).

Adaptando lo reportado por Lorenzo et al. (1998) respecto al uso de levadura en trampas para capturar *T. infestans* en condiciones climáticas naturales, para la captura de *M. spinolai* se dispusieron 90 trampas al atardecer, las cuales fueron cebadas con 4 gr de levadura seca comercial, 100 ml de agua y 16 gr de azúcar, para producir la fermentación y la emisión de dióxido de carbono, principal producto liberado en condiciones aeróbicas desde los cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* (levadura), gas que se ha probado como señal olfativa para virtualmente todos los insectos hematófagos (Guerenstein et al. 1995). Las trampas se adosaron en ecotopos de triatomino,

tales como pircas, pedregales y chaguales. Cada una de ellas fue identificada con una letra correspondiente a la localidad y un número correlativo. Éstas fueron revisadas a la mañana siguiente a su postura, determinando presencia o ausencia de ejemplares de *M. spinolai*. Cada trampa fue georreferenciada con un equipo GPS, en el sistema de coordenadas de UTM WGS 84, 19 S, expresadas en metros. La densidad relativa se estimó considerando 5 m de radio como área de influencia de la trampa. En cada sitio de captura se sumó el total de especímenes capturados y se dividió por el área de influencia de las trampas que efectivamente capturaron triatominos. Los resultados se expresaron en base a 10 m². Se generó una base de datos con el registro de captura de cada una de las vinchucas, incluyendo datos sobre el lugar de captura, fecha, tipo de captura y estado de desarrollo según la descripción morfológica realizada por Lent & Wygodzinsky (1979) para ejemplares adultos y Frías et al. (1987) para estadios ninfales.

La detección de *T. cruzi* se hizo mediante PCR. Para la extracción de ADN, los abdómenes de cada uno de los triatominos fueron separados del resto del cuerpo y depositados en tubos Eppendorf; a cada tubo se agregó Guanidina-HCl 6M EDTA 0,2 M 190 µl y proteinasa K 10 µl a una concentración de 20 mg/ml, realizándose la maceración mecánica de los intestinos con baquetas de vidrio; luego se incubó por 3 h a 54 °C. La muestra fue centrifugada por un minuto a 10.000 x g, realizándose luego la extracción del lisado obtenido por medio del kit comercial Zymo Research Quick- gDNA Mini Prep®. El ADN obtenido se agregó a tubos de PCR para su amplificación, que contenían un Master Mix constituido por: 19,75 µl de agua bidestilada; 3,2 µl de buffer de la enzima 10X (que contenía Mg⁺² 20 mM) para lograr una concentración final de buffer 1X con 2 mM de Mg⁺²; 0,75 µl de MgCl₂ 50 mM, para obtener una concentración final de 1,17 mM de Mg⁺²; 0,12 µl de cada desoxirribonucleótido trifosfato 100 mM: dGTP, dATP, dCTP y dTTP, a una concentración final de 0,375 mM cada uno; 1,28 µl de cada partidor 10 µM, para una concentración final de 0,4 µM cada uno, cuya secuencia es la siguiente: 121: AAATAATGTACGGGGGAGATGCATGA y 122: GGTTCGATTGGGGTTGGTGAATATA; 0,26 µl de Paq5000 DNA polimerase (Agilent Technologies), para obtener 1,3 Unidades/reacción. Los tubos de PCR, cargados con 27 µl de Master Mix y 5 µl de la muestra, fueron amplificados en

un termociclador (Life express thermal cycler Bioer, Model: TC96/G/H (b)), sometándose a: un ciclo de 98 °C/ 1 min; un ciclo de 64 °C/ 2 min; 33 ciclos de 94 °C/ 1 min y 64 °C/ 1 min; y un último ciclo de 72 °C/ 10 min. Se usó agua bidestilada libre de nucleasas como control negativo y ADN de *T. cruzi* de la cepa Tulahuén como control positivo. Posteriormente, 10 µl de cada producto amplificado se cargaron en un gel de agarosa TBE 2% teñido con Gel Red Nucleic Acid Stain 0,1 µl/ml embebido en buffer TBE 1X, el que fue sometido a electroforesis por una hora a 90 Volts. Se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb. Al transiluminar el gel, se determinó como positiva aquella muestra que evidenció la presencia de una banda de 330 pb, correspondiente al ADN kinetoplastídico de la región hipervariable de los minicírculos de *T. cruzi*. Las muestras se amplificaron en duplicado (en distintas ocasiones), y en el caso de discordancia en los resultados, se realizó una tercera corrida de las muestras para dirimir. Se calculó la frecuencia de infección de *M. spinolai* por *T. cruzi* en todas las localidades muestreadas, mediante el cociente entre el número de individuos parasitados en el total de individuos examinados.

Se compararon las proporciones de insectos parasitados respecto de aquellos no infectados entre las localidades estudiadas; además, se comparó la infección por estado de desarrollo (ninfa I, II, III, IV, V, y adulto) dentro de cada localidad, mediante prueba exacta de Fisher. Para determinar si la densidad relativa de *M. spinolai* y el estadio de ésta estaban relacionados con su estatus de infección por *T. cruzi*, se realizó un modelo de regresión logística.

Resultados

Durante el verano de 2011 se capturaron 440 individuos en 39 días de trampeo, en ecotopos tales como: derrumbes de piedras (Las Chinchillas), pircas (El Maqui, El Sobrante y Putaendo), bromeliáceas y lecho pedregoso de río seco (Til-Til). El promedio total (\pm desviación estándar) de individuos capturados por día fue de $12 \pm 7,4$. Los promedios diarios por localidad se detallan en la Tabla 1.

Localidad	Número de capturados	Promedio de captura/día	Densidad /10 m ²	Prevalencia
El Maqui	48	9 ± 4	0,30	35,42%
Las Chinchillas	150	18 ± 11	0,17 4	4,67%
El Sobrante	21 5	± 2 0	,16	27,27%
Putando	64 1	4 ± 7	0,33 3	2,81%
Til-Til	157	18 ± 12	0,34 3	6,94%

Tabla 1. Densidad relativa y prevalencia de *T. Cruzi* en *M. spinolai* en sectores de la zona Centro-Norte de Chile, durante el verano de 2011.

Las frecuencias de infección entre localidades no mostraron diferencias significativas (Fisher: p = 0,325) ni tampoco hubo diferencias en la proporción de infectados entre estados de desarrollo por localidad (Fisher: El Maqui, p= 0,965; Las Chinchillas, p= 0,515; El Sobrante, p= 1,000; Putando, p= 0,970; Til-Til, p= 0,256). Las frecuencias de infección por estadio según localidad se presentan en la Tabla 2.

Estadio	Foco									
	El Maqui		Las Chinchillas		El Sobrante		Putando		Til-Til	
	+/n	%	+/n	%	+/n	%	+/n	%	+/n	%
I	10/26	38	27/51	53	5/16	31	13/35	37	25/83	30
II	3/9	33	18/47	38	0/0	0	4/12	33	9/23	39
III	3/8	38	15/31	48	0/2	0	1/6	17	12/24	50
IV	0/0	0	1/6	17	0/0	0	1/3	33	2/5	40
IV	0/0	0	2/5	40	0/0	0	1/4	25	2/8	25
Adulto	1/5	35	4/10	40	1/3	33	1/4	25	8/14	57

Tabla 2: Frecuencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en estados de desarrollo de *Mepraia spinolai*, en focos de la zona centro-norte de Chile, durante el verano de 2011.

Se generaron dos modelos de regresión logística: el primero (modelo 1) incluía las variables independientes densidad relativa y estado de desarrollo, en relación con el estatus de infección (variable dependiente); y el segundo (modelo 2) sólo comprendía la variable independiente densidad relativa en relación al estatus de infección (Tabla 3). Se evaluó si la variable estado de desarrollo debía incluirse en el análisis, considerándose o no importante para el modelo. Se demostró su no significación estadística comparando entre los dos

modelos de regresión logística mediante el test de razón de verosimilitud, con el cual no se encontraron diferencias significativas entre ambos modelos (LR Chi= 0,03; g.l = 1; Prob > Chi²= 0,8589), por lo que el modelo 2 fue seleccionado por ser más parsimonioso que el modelo 1. En base a estos resultados, se estableció que la densidad relativa de *M. spinolai* es un factor relevante en el estatus de infección de *M. spinolai* con *T. cruzi*, siendo un factor de riesgo, como se puede observar al analizar el odds ratio en la Tabla 3.

Parámetro	Modelo 1	Modelo 2
Nº de obs.	293	293
LR chi ² (1)	9,32	9,23
Prob > chi ²	0,0095	0,003
Pseudo R ²	0,0245	0,0245

Modelos de Regresión Logística	Modelo (1)		Modelo (2)
	DENSIDAD	ESTADIO	DENSIDAD
OR	3,17	1,013	3,168
Std. Err	1,21	0,077	1,209
Z	3,020	0,180	3,020
P> z 	0,003	0,859	0,003
I.C. 95%	1,500 - 6,700	0,872 - 1,178	1,499 - 6,695

Tabla 3. Parámetro asociado a los modelos (1) y (2) de la regresión

Discusión

Los resultados del trampeo confirman la presencia de *M. spinolai* en los distintos sitios estudiados, pudiéndose afirmar que los focos de la especie comunicados por Bacigalupo et al. (2006, 2010) en la región Metropolitana y en la región de Valparaíso, respectivamente, se han mantenido en el tiempo. Los ejemplares fueron encontrados en chaguales, pedregales y pircas, ecotopos congruentes con lo descrito en la literatura (Lent & Wygodzinsky 1979, Canals et al. 1998, Bacigalupo et al. 2006, 2010).

En estudios previos se había estimado una densidad relativa promedio de hasta 78,95 ind/m² en zonas pedregosas de Colina, Región Metropolitana (Canals et al. 1998). Estos valores son mucho más altos que los detectados en este trabajo, ya que

la mayor densidad obtenida por m² fue de 0,034 individuos en Til-Til (0,34 ind/10 m²), y la menor en El Sobrante con 0,016 individuos por m² (0,16 ind/10 m²). La diferencia entre estudios tiene varias explicaciones:

En primer lugar, la metodología fue distinta, usándose en Colina marcado y recaptura, y en nuestro trabajo se analizó por captura con trampas y remoción de ejemplares. La captura fue realizada en forma manual en estudios anteriores, lo que puede estar reflejando que el ser humano podría ser más atractivo para *M. spinolai* que el cebo de levadura; de hecho, no se han realizado estudios de campo que midan la distancia máxima a la cual una trampa de levadura en fermentación puede atraer triatominos, y esta distancia podría ser muy distinta a la distancia máxima a la cual *M. spinolai* detecta a una persona, dado que el ser humano tiene una gran cantidad de características atractivas que direccionan al vector, tales como calor, olores, etc., y que la diferencian de la trampa de levadura, la cual está casi a temperatura ambiente (Guerenstein et al. 1995). Sin embargo, los resultados que obtuvimos mediante trampeos son comparables entre sí, ya que se aplica la misma cantidad de cebo en cada trampa, lo que evita diferencias debidas al observador, que podrían generarse con el método manual. Por tanto, en Til-Til y en la Reserva Nacional Las Chinchillas efectivamente hay una mayor densidad de *M. spinolai* que en el resto de las localidades estudiadas.

En esta misma línea, la forma de calcular la densidad por m² podría ser la causa de las grandes diferencias en las densidades obtenidas, dado que en el estudio de Cattán et al. (2002) se indica que cada punto de trampeo tuvo 4 m² de área de influencia, y aquí se están atribuyendo 78,5 m² como área de influencia de cada trampa (asumiendo un área circular de 5 metros de radio). En ambos casos se establece este valor por convención entre los investigadores, dado que hasta que no se realicen pruebas de campo, no se puede dar ningún valor de área de influencia como definitivo; sin embargo, existe el antecedente del ámbito de hogar reportado por Botto-Mahan et al. (2005a) para *M. spinolai* de $47,2 \pm 17,2$ m² promedio en verano, el cual es cercano al valor de área de influencia postulado por nosotros, con una distancia máxima recorrida promedio de $12,1 \pm 2,9$ m, lo que también se aproxima a los 10 metros de diámetro propuestos como área de influencia de la trampa utilizada.

En tercer lugar, las diferencias de densidad podrían deberse a que el sitio de trabajo es diferente, ya que en esta ocasión no se trabajó en Colina, región Metropolitana, como en el estudio de Cattán et al. (2002), y se han reportado grandes variaciones de densidad en ubicaciones espaciales distintas dentro de un mismo sitio, donde *M. spinolai* puede presentar una densidad cercana a los 200 ind/m² en un sector, mientras que en otro a no más de 10 metros de distancia no llega a 20 ind/m² (Canals et al. 1998); es esperable que estas variaciones espaciales ocurran también entre localidades.

En cuarto lugar, el horario de actividad de las trampas pudo no haber sido suficiente para alcanzar el momento de máxima actividad de la especie, que se describe que coincide con las horas de mayor calor del día, aproximadamente entre 10 y 4 PM (Canals et al. 1997); en nuestro caso, las trampas fueron retiradas alrededor de mediodía. En los estudios previos no hay descripción del horario de trabajo, el cual podría estar dando cuenta de estas diferencias.

Se debe tener en cuenta que las fluctuaciones poblacionales de estos insectos dependen de múltiples factores, asociados principalmente al proceso alimentario-reproductivo, así como también a la abundancia y cercanía de hospederos, al tipo de vegetación y a las fluctuaciones de humedad y temperatura durante el año, entre otros (Canals et al. 1997, Botto-Mahan et al. 2005a). Se observaron mayores densidades en la época calurosa de verano en condiciones naturales (Cattán et al. 2002). La densidad de las poblaciones de triatominos puede depender además directa o indirectamente de la interacción con sus hospederos vertebrados (Alzamora et al. 2007). La fuente de alimentación puede afectar la sobrevivencia y la fecundidad del vector. Se ha demostrado que el consumo de sangre de conejo afecta positivamente los parámetros poblacionales de *M. spinolai* (Acuña et al. 2009). Esto deja planteada la incógnita del efecto de la abundancia relativa de algunos hospederos sobre las poblaciones locales del vector, lo que podría estar dando cuenta de la variación en densidad entre localidades. El cambio en la estructura comunitaria de hospederos podría estar influenciado por cambios en el paisaje, lo que podría afectar tanto la densidad de los triatominos como su infección; de hecho, se ha reportado mayor infección en sitios deforestados (Gottdenker et al. 2012). Este aspecto no fue evaluado en este trabajo; sin embargo, había diferencias en

cuanto al hábitat y vegetación presentes en los distintos sitios, lo que también podría estar dando cuenta de las diferencias por localidad.

En relación a la infección de *M. spinolai* por *T. cruzi* obtenida en este estudio, ésta difiere de algunos estudios previos realizados en las mismas localidades. En Til-Til, región Metropolitana, en 1994 se reportó un 61,5% de infectados (Frías et al. 1995), valor mucho mayor a lo encontrado en este estudio (36,9%). Ordenes et al. (1996) en Colina, región Metropolitana, reportaron niveles generales de infección de 26,0%; además, detectó variación de la frecuencia de infección dentro del área de estudio (en distintos puntos de trapeo), lo que también podría estar dando cuenta de las disimilitudes de nuestros resultados respecto a otros estudios. Sin embargo, el trabajo más reciente de Bacigalupo et al. (2006) en Til-Til, presentó niveles de infección de 32,6%, semejantes con lo encontrado en este caso. La similitud entre los estudios más actuales podría ser un indicio de cambios a mayor escala temporal, si los comparamos con los resultados de Frías et al. (1995).

En La Reserva Nacional Las Chinchillas, Botto-Mahan et al. (2005b), reportaron un 46,2%, congruente con el 44,7% de este trabajo. Los resultados registrados para El Maqui, región de Coquimbo, El Sobrante y Putaendo, región de Valparaíso, no pueden ser comparados con otros previos, ya que constituyen el primer reporte en la literatura respecto a *M. spinolai* en estos sitios, en lo referente a sus índices de densidad y frecuencia de infección por *T. cruzi*. En el caso de Putaendo, dado que el sitio investigado también alberga a *T. infestans* silvestre, se puede relacionar la prevalencia encontrada en éstos en dos periodos de verano por Bacigalupo et al. (2010), de un 36,5%, con el 32,8% reportado en *M. spinolai* en este trabajo. Esta frecuencia muy similar es esperable, dado que estos vectores comparten su ecotopo y tienen disponibles los mismos hospederos – principalmente micro-mamíferos - para alimentarse, por lo que están expuestos a una probabilidad de infección similar, si no tienen preferencias alimentarias que los diferencien. Se debe hacer notar, sin embargo, que existe susceptibilidad diferencial a la infección de ambas especies de vectores al ser alimentados por *Octodon degus* naturalmente infectados (Campos et al. 2007), por lo que esta comparación tendría mayor validez si se compararan ambas especies triatomínicos provenientes de los mismos puntos y mismo periodo de captura.

Las variaciones en los niveles de infección podrían estar relacionadas con cambios climáticos, como lo que comunicó Botto-Mahan et al. (2010) para dos periodos: 1999-2000 y 2005-2006, en la región de Coquimbo. Se obtuvieron niveles altos de infección a *T. cruzi* en diferentes micro-mamíferos capturados en un área con focos de *M. spinolai* durante el periodo de 1999-2000, y menores durante 2005-2006, proponiéndose que tal variación fue resultado de la influencia del fenómeno climático ENSO (El Niño-Southern Oscillation) ocurrido en 1997-1998, el cual aparentemente afectó el ciclo silvestre de transmisión de *T. cruzi* en regiones semiáridas. Durante eventos de El Niño, aumenta la población de mamíferos y vectores, y se amplía la distribución geográfica de ambos. Esto generaría mayor disponibilidad de hospederos potenciales para los vectores, facilitando la infección con el protozoo (Botto-Mahan et al. 2010).

Por otra parte, no se observaron diferencias significativas en la frecuencia de infección por estado de desarrollo en cada localidad, a diferencia de lo reportado por Ordenes et al. (1996). Por tanto, en los sitios que estudiamos, cualquier estado de desarrollo, sea éste ninfa I, II, III, IV, V o adulto, tiene una probabilidad similar de estar infectado con *T. cruzi*, lo que significa que todos ellos representan un riesgo de transmisión del parásito a los mamíferos susceptibles, incluyendo a los seres humanos. Este resultado concuerda con el estudio de Botto-Mahan et al. (2005b) y Bacigalupo et al. (2006), quienes tampoco encontraron diferencias significativas en la prevalencia a *T. cruzi* entre los distintos estados de desarrollo de *M. spinolai*. Existen estudios de laboratorio que prueban que existe transmisión directa de *T. cruzi* entre vectores de Chagas, mediante canibalismo, en el cual un individuo pica el abdomen de otro de mayor tamaño que se haya alimentado de una presa, y también mediante la coprofagia, en la cual un triatomino se alimenta de las deyecciones frescas de otro vector (Schaub 1988). Esto contribuiría a equiparar los niveles de infección entre estadios de mayor edad y los juveniles, y por tanto podría explicar estos resultados.

Hay que considerar también que la fuente de alimentación de *M. spinolai* es un factor que influye en su infección con *T. cruzi*, ya que el tipo de sangre ingerida puede afectar a los protozoos que se encuentran en el tracto digestivo del triatomino (Schaub 1989, Kollien & Schaub, 2000).

El parásito no infecta a las aves (Kierszenbaum et al. 1976) ni a los animales de sangre fría, pero las aves domésticas son importantes como fuente de alimento para el vector (OPS, 2003). Por otra parte, estudios previos indican que en la dieta de estos vectores comúnmente se encuentran: conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*), y micro-mamíferos nativos (*Phyllotis darwini*, *Octodon degus*, *Abrothrix olivaceus*, *Oligoryzomys longicaudatus* y *Thylamys elegans*, entre otros) (Canals et al. 2001; Rengifo, 2000). Todos estos vertebrados están presentes en las zonas de muestreo de este trabajo y varios de ellos han presentado infección por *T. cruzi* (Galuppo et al. 2009, Botto-Mahan et al. 2009, 2010). Además, se ha visto que *M. spinolai* no tiene preferencia por una especie en particular, sino que preferiría a éstas según su abundancia relativa (Cruzat, 1997). Esto puede explicar los valores similares de infección en los distintos focos, ya que existe evidencia de que estos roedores son reservorios competentes que puede mantener niveles de infección estables en el tiempo (por ej.: para *O. degus* véase Botto-Mahan et al. 2012).

Se encontró una asociación positiva en la relación densidad/prevalencia, lo que indica que el riesgo de infección aumenta cuando se incrementa la densidad de las poblaciones de *M. spinolai*. Esto es congruente con lo observado previamente por Ordenes et al. (1996), quienes describieron que por cambios en la estructura de edades se produce una variación en la proporción de individuos infectados a lo largo del año, con baja infección entre marzo y junio, y niveles mayores entre julio y febrero, lo que haría más peligrosa a esta especie en la época de calor, tal como describe Wood (1954) con *Triatoma protracta*, la cual presenta mayor concentración de protozoarios en las deyecciones que en otros periodos. Esto coincide con la época donde *M. spinolai* presenta ámbitos de hogar mayores (Botto-Mahan et al. 2005a). Por otra parte, es probable que el calentamiento global sea cada vez más relevante en el ciclo de la enfermedad, ya que los cambios temporales y espaciales de la temperatura, la precipitación y la humedad relativa, podrían favorecer la ecología poblacional de los vectores y, por consiguiente, el riesgo de transmisión de enfermedades. Con el calentamiento global se espera que los vectores aumenten sus poblaciones y se desplacen a otros sitios (Githeko et al. 2000), por lo que el riesgo de transmisión de *T. cruzi* probablemente se incrementará.

Con este trabajo se logra aportar nuevos antecedentes respecto a la densidad relativa y frecuencia de infección de *M. spinolai* por *T. cruzi*, en tres de las regiones donde se distribuye esta especie de triatomino, destacándose la relación positiva entre densidad local del vector y prevalencia del parásito en el mismo.

Agradecimientos

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1140650, 1100339. A Alejandro Mellado, Felipe Rojas, Pamela Espíndola, María Fernanda González y Claudia Sepúlveda, quienes participaron en el muestreo de triatominos en terreno. A CONAF Reserva Nacional Las Chinchillas, por las facilidades otorgadas para trabajar en el área protegida.

Referencias

- Acuña-Retamar M, Botto-Mahan C, Canals M, Correa P, Cattán PE. Comparative population dynamics of the bug *Mepraia spinolai*, a sylvatic vector of Chagas' disease, in different hosts. *Med Vet Entomol.* 2009; 23(2):106-110.
- Alzamora A, Correa P, Gaggero E, Acuña-Retamar M, Cattán PE. Conducta de picada y defecación de *Mepraia spinolai* en dos hospederos frecuentes en su hábitat. *Parasitol Latinoam.* 2007; 62:112-117.
- Apt W, Reyes H. Aspectos epidemiológicos de la enfermedad de Chagas en Chile. Distribución geográfica, índices de infección en vectores y humanos. *Parasitol Día.* 1986; 10:94-101.
- Apt W, Heitmann I, Jercic M, Jofré L, Muñoz P, Hauck N, et al. Prevención y control de la enfermedad de Chagas. Guías clínicas de la Enfermedad de Chagas. Ministerio de Salud. Chile. 2006. p. 5-6.
- Atías A. Parasitología Médica. Editorial Mediterráneo. 2000. 615 p.
- Bacigalupo A, Segura J, García A, Hidalgo J, Galuppo S, Cattán PE. Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile. *Rev Med Chil.* 2006; 134:1230-1236.
- Bacigalupo A, Torres-Pérez F, Segovia V, García A, Correa J, Moreno L, et al. Sylvatic foci of the Chagas disease vector *Triatoma infestans* in Chile: description of a new focus and challenges for control programs. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2010; 105(5):633-641.
- Barrozo R, Lazzari C. The response of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to carbon dioxide and other host odours. *Chem Senses.* 2004; 29:319-329.
- Botto-Mahan C, Cattán PE, Canals M. Field test of carbon dioxide and conspecific as baits for *Mepraia spinolai* wild vector of Chagas disease. *Acta Trop.* 2002; 82:377-380.
- Botto-Mahan C, Cattán PE, Canals M, Acuña M. Seasonal variation in the home range and host availability of the blood-sucking insect *Mepraia spinolai* in wild environment. *Acta Trop.* 2005a; 95(2):160-163.
- Botto-Mahan C, Ortiz S, Rozas M, Cattán PE, Solari A. DNA evidence of *Trypanosoma cruzi* in the Chilean wild vector *Mepraia spinolai* (Hemiptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005b; 100:237-239.
- Botto-Mahan C, Cattán PE, Medel R. Chagas disease parasite induces behavioural changes in the kissing bug *Mepraia spinolai*. *Acta Trop.* 2006; 98:219-223.
- Botto-Mahan C, Acuña-Retamar M, Campos R, Cattán PE, Solari A. Short Report: European rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) are naturally infected with different *Trypanosoma cruzi* genotypes. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 80(6):944-946.
- Botto-Mahan C, Campos R, Acuña M, Coronado X, Cattán PE, Solari A. Temporal variation of *Trypanosoma cruzi* infection in native mammals in Chile. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(3):317-319.
- Botto-Mahan C, Bacigalupo A, Correa J.P, Oda E, Solari A. Field assessment of *Trypanosoma cruzi* infection and host survival in the native rodent *Octodon degus*. *Acta Trop.* 2012; 122:164-167.
- Campos R, Acuña-Retamar M, Botto-Mahan C, Ortiz S, Cattán PE, Solari A. Susceptibility of *Mepraia spinolai* and *Triatoma infestans* to different *Trypanosoma cruzi* strains from naturally infected rodent hosts. *Acta Trop.* 2007; 104:25-29.
- Canals M, Solís R, Valderas J, Ehrenfeld M, Cattán P.E. Preliminary studies on temperature selection and activity cycles of *Triatoma infestans* and *T. spinolai* (Heteroptera: Reduviidae), Chilean vectors of Chagas' disease. *J Med Entomol.* 1997; 34:11-17.
- Canals M, Ehrenld M, Solis R, Cruzat L, Pinochet A, Tapia C, et al. Biología comparada de *Mepraia spinolai* en condiciones de laboratorio y terreno: cinco años de estudio. *Parasitol Día.* 1998; 22:(3-4)72-78.
- Canals M, Cruzat L, Molina M.C, Ferreira A, Cattán P.E. Blood host sources of *Mepraia spinolai* (Heteroptera; Reduviidae), wild vector of Chagas disease in Chile. *J Med Entomol.* 2001; 38:303-307.
- Cattán PE, Pinochet A, Botto-Mahan C, Acuña M, Canals M. Abundance of *Mepraia spinolai* in a Periurban Zone of Chile. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002; 97(3):285-287.
- Correa JP, Bacigalupo A, Fontúrbel FE, Oda E, Cattán PE, Solari A, et al. Spatial distribution of an infectious disease in a small mammal community. *Sci Nat.* 2015; 102:51. p. 4.
- Dirección Meteorológica de Chile. Guía climatológica de Chile. 2008. [Internet] [2012 Aug 05] Available from: <http://164.77.222.61/climatologia/>
- Ehrenfeld M. Estudio del efecto de condiciones ambientales sobre parámetros poblacionales de *Triatoma spinolai*

- (Porter, 1933). Memoria de título Med. Vet. Fac. de Cs. Vet y Pec. U. de Chile. 1996. 70 p.
- Ehrenfeld MJ, Canals M, Cattán PE. Population parameters of *Triatoma spinolai* (Hemiptera: Reduviidae) under different environmental conditions and densities. J Med Entomol. 1998; 35(5):740-744.
- Frías D, Martínez H, Wallace A. Algunos aspectos taxonómicos de *T. spinolai*. Act Entomol Chil. 1987; 14:155-170.
- Frías D, Solari A, Gonzales C, Henry A, Alviña A. Índices de infección de *Meptraia spinolai* con *Trypanosoma cruzi*, su invasión a ambientes domésticos e interacción con *Triatoma infestans*. Parasitol Día. 1995; 19:139-A, 195.
- Frías DA, Henry AA, Gonzalez CR. *Meptraia gajardoi*: a new species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) from Chile and its comparison with *Meptraia spinolai*. Rev Chil Hist Nat. 1998; 71:177-188.
- Frías D. A new species and karyotype variation in the bordering distribution of *Meptraia spinolai* (Porter) and *Meptraia gajardoi* Frías et al (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Chile and its parapatric model of speciation. Neotrop Entomol. 2010; 39(4):572-583.
- Gajardo R. La vegetación natural de Chile. Clasificación y distribución geográfica. 2ª Ed. Editorial Universitaria, Santiago. 1995. 165 p.
- Galuppo S, Bacigalupo A, García A, Ortiz S, Coronado X, Cattán PE, Solari A. Predominance of *Trypanosoma cruzi* genotypes in two reservoirs infected by sylvatic *Triatoma infestans* of an endemic area of Chile. Acta Trop. 2009; 111:90-93.
- Githeko A, Lindsay S, Confalonieri U, Patz J. El cambio climático y las enfermedades transmitidas por vectores: un análisis regional. Bull World Health Org. 2000; 78(9):1136-1147.
- Gottdenker NL, Chaves LF, Calzada JE, Saldaña A, Carroll CR. Host life history strategy, species diversity, and habitat influence *Trypanosoma cruzi* vector infection in changing landscapes. PLoS Negl Trop Dis. 2012; 6(11):e1884. p. 11.p
- Guerenstein PG, Lorenzo MG, Núñez JA, Lazzari CR. Baker's yeast, an attractant for baiting traps for Chagas' disease vectors. Experientia. 1995; 51(8):834-837.
- Kierszenbaum F, Ivanyi J, Budzko DB. Mechanisms of natural resistance to trypanosomal infection. Role of complement in avian resistance to *Trypanosoma cruzi* infection. Immunol. 1976; 30:1. p. 6.
- Kollién A, Schaub G.A. The development of *Trypanosoma cruzi* in Triatominae. Parasitol Today. 2000; 16:381-387.
- Lent H, Wygodzinsky P. Revision of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), and their significance as vector of Chagas' disease. Bull American Mus Nat Hist. 1979; 163:130-520.
- Lorenzo MG, Reisenman CE, Lazzari CR. *Triatoma infestans* can be captured under natural climatic conditions using yeast-baited traps. Acta Trop. 1998; 70:277-284.
- OPS-Organización Panamericana de la Salud. Zoonosis y enfermedades comunes al hombre y los animales Vol. 3. 3ª ed. Washington DC. 2003. 544 p.
- Ordenes H, Eherenfeld M, Cattán PE, Canals M. Infección tripano-triatomino de *Triatoma spinolai* en una zona de riesgo epidemiológico. Rev Med Chil. 1996; 124:1053-1057.
- Rengifo A. Preferencias alimentarias específicas de *Meptraia spinolai* por vertebrados frecuentes en su hábitat. Memoria de título de Med. Vet. Fac. de Cs. Vet y Pec. U. de Chile. 2000, 69 p.
- Schaub GA. Direct transmission of *Trypanosoma cruzi* between vectors of Chagas' disease. Acta Trop. 1988; 45:11-19.
- Schaub G. *Trypanosoma cruzi*: Quantitative studies of development of two strains in small intestine and rectum of the vector *Triatoma infestans*. Exp Parasitol. 1989; 68:260-273.
- Wood SF. Environmental temperature as a factor in development of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma protracta*. Exp Parasitol. 1954; 3(3):227-233.

Detección de *Trypanosoma cruzi* en deyecciones de *Triatoma infestans*, mediante PCR tiempo final y tiempo real.

Detection of Trypanosoma cruzi in dejections of Triatoma infestans by final-time and real-time PCR.

SAAVEDRA M.¹, ZULANTAY I.¹, APT W.¹, ARAYA E.¹,
MARTINEZ G.¹, VARGAS J.², PIZARRO V.², RODRIGUEZ J.³

- ¹ Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Programa de Biología Molecular y Celular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Laboratorio de Parasitología Básico Clínico.
² Universidad de Chile, Facultad de Medicina. Ayudantes Alumnos de Parasitología. Carrera de Medicina.
³ Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Escuela de Salud Pública.

Correspondencia: Inés Zulantay Alfaro
izulanta@med.uchile.cl

Laboratorio Parasitología Básico Clínico. Programa Biología Molecular y Celular,
Facultad de Medicina, Universidad de Chile,
Independencia 1027, Casilla 9183 Santiago 1, Santiago, Chile.

Summary

Chagas disease (ChD) is one of the main public health problems in a number of Latin American countries. This parasitosis is produced by the flagellate protozoan *Trypanosoma cruzi* and is characterized by a generally symptomatic acute phase and a chronic asymptomatic phase which may have a long evolution. Although the use of final-time PCR (PCR) and real-time PCR has allowed an important advance in the parasitological diagnosis of *T. cruzi*, they may be combined with conventional parasitological techniques such as xenodiagnosis (XD). This study evaluated the efficacy of the parasitological diagnosis of *T. cruzi* using three techniques. Conventional XD was applied to 50 patients with chronic (ChD) from the IV Coquimbo Region, Chile. After the microscopic analysis of the dejections of triatomines 30, 60 and 90 days after feeding on the patients, the fecal samples of the triatomines of the three periods were processed and used for PCR (PCR-XD) and real-time PCR (real-time PCR-XD). After 30 days, 6%, 68% and 88% were positive by XD, PCR-XD and real-time PCR-XD, respectively. After 60 days 14%, 74% and 96% were positive, and after 90 days the percentages were 24%, 76% and 98%, respectively. Cochran and McNemar tests showed that the difference between PCR-XD and real-time PCR-XD was not significant after 30 days ($p=0,063$), while after 60 and 90 days real-time PCR-XD was significantly different from XD and PCR-XD ($p=0,003$). I conclude that the real-time PCR-XD technique is more efficient than XD or PCR-XD in the diagnosis of *T. cruzi*.

Keywords: *Trypanosoma cruzi* - Chagas disease - xenodiagnosis - PCR - real-time PCR

Palabras Claves: *Trypanosoma cruzi* - enfermedad de Chagas - xenodiagnóstico - PCR - PCR tiempo real

Introducción

La enfermedad de Chagas (ECh) es una zoonosis parasitaria causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*. La parasitosis se encuentra distribuida desde el sur de Estados Unidos hasta la zona centro-sur de Argentina y Chile, y debido a sus implicancias médicas, sociales y económicas constituye uno de los principales problemas de salud pública de Latinoamérica (Guhl 2007). En Chile se estima que existen 100.000 individuos infectados desde la región de Arica y Parinacota hasta la región de O'Higgins (ENS, 2009-2010). Las regiones rurales y periurbanas de las regiones de Atacama y Coquimbo son consideradas hiperendémicas (Moncayo 2003, Apt et al. 2005). La ECh requiere para su transmisión, la participación de vectores biológicos y hospederos mamíferos, incluido el hombre, siendo la transmisión vectorial el mecanismo de mayor relevancia epidemiológica en el continente. En Chile, se han descrito los insectos triatomíneos *Triatoma infestans*, *Mepraia spinolai*, *Mepraia gajardoi* and *Mepraia parapatrica* (Campos et al. 2013). Otras vías de transmisión la

constituyen: vía congénita, accidentes de laboratorio, transfusiones sanguíneas (Moncayo 2003) e ingesta de alimentos contaminados con deyecciones de triatomíneos (Barbosa 2006).

La ECh presenta dos períodos: agudo, caracterizado por altas parasitemias y crónico, que puede ser indeterminado (asintomático) o determinado (Rassi Jr. et al. 2012), caracterizado por una baja cantidad de parásitos en circulación. Debido a esto, es que la elección de los métodos de diagnóstico de la ECh depende de la etapa de la enfermedad. Es así como, en fase aguda, los métodos de elección son los parasitológicos directos como hemocultivo y xenodiagnóstico (XD), no obstante, tienen sensibilidad limitada (Neto 2012). En la fase crónica, los exámenes indirectos serológicos como ELISA e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), son los más recomendados (Zulantay et al. 1998, Rassi Jr. et al. 2012).

Existe consenso que la detección y tratamiento precoz de la infección por *T. cruzi* aumenta las posibilidades de curación. Desde este punto de vista, un método diagnóstico precoz y eficaz implica reducir la progresión de la enfermedad. La reacción en cadena de la polimerasa a tiempo

final (PCR), ha evidenciado alta sensibilidad en la detección de *T. cruzi* (Britto 2009), a pesar de ser una técnica cualitativa. La aplicación de PCR tiempo real, variante cuantitativa de la original, ha abierto una ventana para detectar y/o cuantificar la carga parasitaria por *T. cruzi* (Duffy et al. 2009) y evaluar eficacia de fármacos en el tratamiento antichagásico. En el presente estudio, se evalúa la eficacia de XD, PCR y PCR tiempo real para detectar *T. cruzi* desde purificados de deyecciones de *T. infestans*.

Material y Métodos

50 individuos con ECh crónica, condición confirmada mediante las técnicas serológicas convencionales de IFI y ELISA IgG (Zulantay et al. 1998) procedentes de localidades urbanas o rurales de las Provincias de Choapa (Comunas de Illapel, Salamanca, Los Vilos y Canela) y Limarí (Combarbalá), áreas endémicas de la IV Región de Coquimbo, aceptaron formar parte del estudio bajo Consentimiento Informado (Proyecto Fondecyt 1100768) aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile (Resolución 049-2009). Se aplicaron las técnicas de XD, PCR y PCR tiempo real en deyecciones de triatomos alimentados mediante XD (PCR-XD y PCR tiempo real-XD, respectivamente), según se describe a continuación:

Xenodiagnóstico

A la población en estudio se aplicó XD, según técnica descrita por Schenone (1999), consistente en dos cajitas, cada una con siete ninfas de tercer o cuarto estadio de *T. infestans* libres de infección. Luego de su aplicación por 20 a 30 minutos en la cara externa de cada brazo del paciente, las cajas fueron mantenidas a 27°C y 75% de humedad. Posteriormente, se realizó el examen microscópico entre porta y cubreobjetos de las deyecciones de los insectos a los 30, 60 y 90 días post alimentación, en búsqueda de formas móviles de *T. cruzi*. La presencia de un parásito por campo se consideró como resultado positivo. Paralelamente las deyecciones de los triatomos fueron recibidas en 500 µl de PBS pH 7.2, y fueron incubadas durante 15 minutos a 98°C y centrifugada por tres minutos a 3.500 rpm. Los sobrenadantes fueron almacenados a -20°C hasta su uso (Zulantay et al. 2007). El proceso de purificación del sobrenadante de deyecciones se realizó con el kit FavorPrep Blood Genomic DNA

Extracción Mini Kit (Favorgen Biotech Corp.), a partir de un volumen de 100 µl de sobrenadante, al cual, previo a la extracción, se adicionó una cantidad conocida de ADN genómico humano, que actúa como control interno exógeno (CIE), verificando el proceso de extracción y la reacción de PCR tiempo real-XD. La muestra fue transferida a columnas de sílica gel, utilizando los reactivos según especificaciones del fabricante y posterior a la extracción del ADN, el purificado fue mantenido a -20°C.

PCR-XD con partidores de ADN kinetoplastídico de *T. cruzi*

Para evaluar la presencia de *T. cruzi* mediante PCR-XD en las muestras en estudio, se utilizaron primers kinetoplastídicos que generan una banda específica de 330 pb. La mezcla de reacción estuvo compuesta por 5 µl de las muestras de purificados de XD; 3 µl de los oligonucleótidos 121 (5'-AAATA-ATGTACGGG (T/G) GAGATGCATGA3') y 122 (5'GGTTTCGATTGGGGTTGGTGTAATATA-3') a una concentración de 10 µM; 4 µl de buffer de Taq polimerasa Sistema Gotaq® Flexi ADN Polimerase Promega; 25 mM de MgCl₂ (2 µl); 0,4 µl (10 mM) de los cuatro dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP); 1 U Taq polimerasa (0,2 µl) y 2,4 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). El programa de amplificación constó de dos ciclos de 98°C por 1 minuto y 64°C por 1 minuto, seguido por 33 ciclos de 94°C por 1 minuto, 64°C por 1 minuto y 72°C por 1 minuto; para finalizar con un ciclo de extensión de 72°C por 10 minutos. 10 µl de los amplificados se sometieron a electroforesis durante aproximadamente 60 min, a 113 volts en gel de agarosa al 2% en buffer Tris Borato EDTA 1x teñido con 10 µl de bromuro de etidio (10 µg/ml). Se utilizó como control positivo de reacción, ADN de paciente con parasitemia confirmada mediante XD y PCR y, como control negativo, deyecciones purificadas de XD de paciente sin ECh. En todos los geles fue incluido un marcador de 100 pb (Blench Top) y se tomó una fotografía el registro.

PCR tiempo real-XD con partidores de ADN nuclear de *T. cruzi*

La presencia de *T. cruzi* fue determinada aplicando el sistema de detección TaqMan® en termociclador Mx3000P™ Stratagene (Agilent Technologies) según las condiciones sugeridas por el fabricante y

utilizando los partidores de ADN satelital Cruzi 1 (5'-ASTCGGCTGATCGTTTTTCGA-3'), Cruzi 2 (5'-AATTCCTCCAAGCAGCGGATA-3') a una concentración de 0,5 µM (Piron et al. 2007) y sonda de ADN satelital Cruzi 3 (5'-CACACTGGACACCAA-3') en concentración de 0,2 µM (Piron et al. 2007, Schijman et al. 2011). La mezcla de reacción estuvo compuesta por 2 µl de la muestra a investigar, 10 µl de Brilliant Multiplex QPCR Master Mix (Stratagene), 0,5 µl de una solución 1:500 de Reference Dye (ROX), 1 µl de cada uno de los oligonucleótidos satelitales Cruzi 1 y Cruzi 2, 0,4 µl de la sonda Cruzi 3, 0,2 µl de BSA (100X) y 4,9 µl de Molecular Biology Grade Water (Mo Bio) para un volumen final de reacción de 20 µl. Como control negativo se utilizó ADN de XD de paciente sin ECh, como control positivo ADN de XD de paciente con parasitemia confirmada mediante XD y PCR-XD. Paralelamente, se utilizó como CIE de PCR tiempo real-XD, una parte de una secuencia del cromosoma 12 humano (X12). Con este fin, se adicionó a cada una de las muestras de deyección en estudio, previo al proceso de extracción, 20 ng de ADN equivalente genómico humano (Jena Bioscience®) de individuo sin ECh (Bravo et al. 2012). El CIE fue diseñado para descartar casos de falsos negativos debido a ausencia de ADN en la muestra evaluada, ya sea por problemas en la extracción o inhibición en la reacción de qPCR. Para X12, se utilizaron los partidores N1X12 forward (5'-AGCTGGCTAGACTGTCAT-3') y N2X12 reverse (5'-CTTTGCCGTTGAAGCTTG-3') a una concentración de 1 µM (Bravo et al. 2012) y la sonda N3X12 (5'-TGGGACTTCAGAGTAGGCAGATCG-3') a una concentración de 0,4 µM (datos originales del laboratorio no publicados). La mezcla de reacción se compuso de 2 µl de la muestra a investigar, 10 µl de Brilliant Multiplex QPCR Master Mix (Stratagene), 0,5 µl de una solución 1:500 de Reference Dye (ROX), 2 µl de N1X12, 2 µl de N2X12, 0,8 µl N3X12, 0,2 µl de BSA (100X) y 2,5 µl de Molecular Biology Grade Water (Mo Bio) para un volumen final de reacción de 20 µl. Como control negativo se utilizó ADN de XD que no posee ADN humano (Bravo et al. 2012) y como control positivo ADN de XD, al cual se agregó previo al proceso de extracción ADN genómico humano.

Las reacciones de PCR tiempo real para *T. cruzi* y X12, se realizaron en el mismo ensayo y con el mismo perfil térmico, que consistió en 10 minutos de pre-incubación a 95°C y 40 ciclos de amplificación

(95°C por 15 segundos y 60°C por 1 minuto). El registro de la fluorescencia emitida se realizó a 60°C al final de cada ciclo. Los resultados se analizaron con el software MxPro v4.1 (Agilent Technologies).

Análisis estadístico

El análisis descriptivo se realizó a través de tablas y porcentajes. Las comparaciones de las técnicas diagnósticas se hicieron a través de las pruebas de Cochran (p-value < 0,05) y Mc Nemar (p-value < 0,05).

Resultados

La observación microscópica de las muestras de XD, permitió determinar una positividad del 6%, 14% y 24% a los 30, 60 y 90 días, respectivamente. Por otro lado PCR-XD aplicado en las 150 muestras de ADN de deyección, en los 3 periodos en estudio, evidenció una positividad del 68%, 74% y 76%. En cuanto a PCR tiempo real-XD, en todas las muestras se evidenció la amplificación de X12 (Ct promedio: 31,8), por lo cual se descartaron problemas en el proceso de extracción (pérdida de ADN), reacción inespecífica y/o de inhibición de PCR tiempo real-XD. En cuanto a la detección de *T. cruzi* en los ensayos, en todos los periodos hubo concordancia del 100% entre las 3 técnicas, excepto a los 30 días donde la concordancia entre PCR-XD y PCR tiempo real-XD alcanzó el 91%. No amplificaron 6 (12%) muestras en el periodo de 30 días; 2 (4%) a los 60 días y solo 1 (2%) a los 90 días. Los resultados de positividad de las 3 pruebas diagnósticas a los 30, 60 y 90 días fueron: XD (6%, 14% y 24%); PCR-XD (68%, 74%, 76%) y PCR tiempo real-XD (88%, 96% y 98%), respectivamente (Tabla 1).

Período**	POSITIVIDAD*		
	XD	PCR-XD	PCR tiempo real-XD
30 días	6%	68%	88%
60 días	14%	74%	96%
90 días	24%	76%	98%

* Cochran: 30 días, Q=62,318(p=0,001); 60 días, Q=64,33 (p=0,001) y 90 días, Q=58,541 (p=0,001).

** Mc Nemar: 30 días (p=0,063); 60-90 días (p=0,003).

Tabla 1. Positividad de xenodiagnóstico, PCR tiempo real en muestras de ADN de deyecciones de *T. infestans* en 3 periodos de evaluación (30, 60 y 90 días).

Utilizando la prueba de Cochran se determinó que las positivities de XD, PCR-XD y PCR tiempo real-XD, son estadísticamente significativas para los tres períodos de evaluación: 30 días, $Q=62,318$ ($p\text{-value}=0,001$); 60 días, $Q=64,33$ ($p\text{-value}=0,001$) y 90 días, $Q=58,541$ ($p\text{-value}=0,001$). Al realizar las comparaciones múltiples utilizando las pruebas de Mc Nemar, se determinó que a los 30 días no existen diferencias significativas entre la positividad de los exámenes de PCR-XD y PCR tiempo real-XD ($p\text{-value}=0,063$), pero a la vez la positividad de ambas es mayor que el XD. Por otra parte, las comparaciones de la positividad de PCR-XD y PCR tiempo real-XD a los 60 y 90 días de estudio, indican que hay diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-value}=0,003$), en otras palabras, PCR tiempo real-XD es la técnica de elección por sobre XD y PCR-XD.

Discusión

En la actualidad, no existe consenso internacional sobre los parámetros de evaluación de eficacia de los fármacos administrados para el tratamiento de la ECh crónica (Rodríguez et al. 2011, Rassi Jr. et al. 2012), los que en general incluyen evaluación clínica, electrocardiográfica, radiológica, parasitológica y serológica (Rassi & Luquetti 2004). Este estudio contribuye al conocimiento de esta problemática con la evidencia de la mayor precocidad y positividad en el diagnóstico de *T. cruzi* mediante PCR tiempo real-XD en comparación con las técnicas de XD y PCR-XD, resultado original que puede modificar los actuales protocolos de evaluación quimioterapéutica para esta fase de la enfermedad, donde se describe en literatura aplicación de técnicas como hemocultivo, XD, PCR (Britto et al. 2009), PCR-XD (Zulantay et al. 2011) y genotipificación de *T. cruzi* (Venegas et al. 2009) en condiciones de pre y/o post-terapia.

Las muestras biológicas utilizadas en este estudio (ADN extraído de deyecciones de *T. infestans* utilizados en el XD), representan una gran ventaja respecto al ADN de *T. cruzi* extraído de sangre periférica, debido a que el vector biológico amplifica en forma natural *T. cruzi* en su intestino medio, previo al estudio parasitológico mediante PCR-XD o PCR tiempo real-XD, pudiendo detectar parasitemias más bajas que la muestra ADN proveniente de sangre periférica. Los resultados de PCR tiempo real-XD son evidencia irrefutable de la persistencia de *T. cruzi* cuando se evalúa un fármaco

tripanicida, puesto que al contrario de PCR o PCR tiempo real aplicado en ADN de *T. cruzi* sanguíneo, puede corresponder a restos parasitarios circulantes que aun no han sido lisados. Es así que, PCR tiempo real-XD corresponde a ADN extraído de las formas tripomastigotas circulantes en la sangre del paciente y que el vector biológico fue capaz de tomar y amplificar en su intestino medio, lo que evidencia la persistencia de parásitos viables y, a pesar que PCR tiempo real-XD requiere obligadamente realizar en forma previa el XD en los pacientes en estudio, lo que consume gran cantidad de horas microscópicas para el observador, estudios previos han evidenciado que es posible evitar la fase microscópica del XD y detectar *T. cruzi* a través de la aplicación directa de PCR-XD y PCR tiempo real-XD, con mayor sensibilidad en comparación al XD y disminuir al mínimo el riesgo de infección accidental por *T. cruzi* (Saavedra et al. 2013). Este estudio evidencia que PCR tiempo real-XD es más precoz, tiene mayor positividad y presenta ventajas en comparación a las técnicas de XD y PCR-XD, lo que permite sugerir que PCR tiempo real-XD sería una herramienta útil para evaluar la eliminación de *T. cruzi* circulante en individuos con ECh crónica sometidos a tratamiento tripanicida.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico FONDECYT. Financiamiento: Proyectos Fondecyt 1100768 (Inés Zulantay) y 1120382 (Werner Apt).

Bibliografía

- Apt W, Arribada A, Zulantay I, et al. Itraconazole or allopurinol in the treatment of chronic American trypanosomiasis: the results of clinical and parasitological examinations 11 years post-treatment. *Ann Trop Med Parasitol.* 2005; 99:733-741.
- Barbosa PR. The oral transmission of Chagas' disease: an acute form of infection responsible for regional outbreaks. *Int J Cardiol.* 2006; 112:132-133.
- Bravo N, Muñoz C, Nazal N, Saavedra M, Martínez G, Araya E, Apt w, Zulantay I. Real-Time PCR in faecal samples of *Triatoma infestans* obtained by xenodiagnosis: proposal for an exogenous internal control. *Parasites & Vectors.* 2012; 5:59.
- Britto C. Usefulness of PCR-based assays to assess drug efficacy in Chagas disease chemotherapy: value and limitations. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009; 104 Suppl 1: 122-35.
- Campos R, Torres-Perez F, Botto-Mahan C, Coronado X, Solari A. High phylogeographic structure in sylvatic vectors of Chagas disease of the genus *Mepraia* (Hemiptera: Reduviidae). *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases.* 2013;19:280-6.
- Duffy T, Bisio M, Altcheh J, Burgos JM, Diez M., Schijman A. Accurate Real-Time PCR Strategy for Monitoring Bloodstream Parasitic Loads in Chagas Disease Patients. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009; 3 (4): e419.
- Encuesta Nacional de Salud. ENS Chile 2009-2010. Ministerio de Salud. 1064 pág. Disponible en: [<http://web.minsal.cl/portal/url/item/bcb03d7bc28b64dfe040010165012d23.pdf>]. Acceso: 21 Noviembre 2015.
- Guhl F. Chagas disease in Andean countries. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102 Suppl 1:29-38.
- Moncayo A. Chagas disease: Current Epidemiological Trends after the Interruption of Vectorial and Transfusional Transmission in the Southern Cone Countries. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003; 92(1): 577-591.
- Neto A. *Trypanosoma cruzi*: the supposed removal of the use of the xenodiagnosis and blood culture. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2012; 54:235-36.
- Piron M, Fisa R, Casamitjana N, Lopez-Chejade P, Puig L, Vergés M, Gascón J, Gómez I, Prat J, Portús M, Sauleda S. Development of a real-time PCR assay for *Trypanosoma cruzi* detection in blood samples. *Acta Trop.* 2007; 103 (3):195-200.
- Rassi A, Luquetti AO. Critérios de cura da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* na espécie humana. In JR Coura (ed.), *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*, Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2005; p. 677-683.
- Rassi A, JR, Rassi A, Marcones J. American Trypanosomiasis (Chagas Disease), *Infect Dis Clin N Am.* 2005; 26: 275-291.
- Rodrigues J, Borges-Pereira J. Chronic phase of Chagas disease: why should it be treated? A comprehensive review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011; 106(6): 641-645.
- 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. Xenodiagnosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999; 94:289-294.
- Schijman AG, Bisio M, Orellana L, et al. International Study to Evaluate PCR Methods for Detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in Blood Samples from Chagas Disease Patients. *PLoS Neglected Tropical Diseases.* 2011; 5(1):e931.
- Venegas J, Coñoepan W, Pichuantes S, Miranda S, Apt W, Arribada A, Zulantay I, Coronado X, Rodríguez J, Reyes E, Solari A, Sánchez G. Differential distribution of *Trypanosoma cruzi* clones in human chronic chagasic cardiopathic and non-cardiopathic individuals. *Acta Tropica.* 2009; 109(3):187-93.
- Zulantay I, Apt W, Rodríguez J, Venegas J, Sánchez G. Serologic evaluation of treatment of chronic Chagas disease with allopurinol and itraconazole. *Rev Med Chil.* 1998; 126 (3):265-70.
- Zulantay I, Apt W, Gil LC, Rocha C, Mundaca K, Solari A, Sánchez G, Rodríguez C, Martínez G, DE Pablos LM, Sandoval L, Rodríguez J, Vilchez S, Osuna A. The PCR-based detection of *Trypanosoma cruzi* in the faeces of *Triatoma infestans* fed on patients with chronic American trypanosomiasis gives higher sensitivity and a quicker result than routine xenodiagnosis. *Ann Trop Med Parasitol.* 2007; 101(8):673-9.
- Zulantay I, Apt W, Valencia C, Torres A, Saavedra M, Rodríguez J, Sandoval L, Martínez G, Thieme P, Sepúlveda E. Detection of *Trypanosoma cruzi* in untreated chagasic patients is improved by using three parasitological methods simultaneously. *J Antimicrob Chemother.* 2011; 66:2224-2226.

***Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) en Chile: antecedentes distribucionales y epidemiológicos.**

CHRISTIAN R. GONZÁLEZ ^{1,2} Y CAROLINA REYES ²

¹ Instituto de Entomología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.

² Laboratorio de Entomología Médica, Instituto de Salud Pública de Chile.

Introducción

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana es una infección sistémica causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*. Esta patología es una zoonosis en la que participan un gran número de reservorios vertebrados y transmisores triatominos. La enfermedad de Chagas se transmite a los seres humanos y a más de 150 especies de animales (perros, gatos, cobayos, roedores, marsupiales, etc.), principalmente por hemípteros hematófagos de la familia Reduviidae, en la cual se incluye la subfamilia Triatominae conformada por cinco tribus y 15 géneros (Schofield & Galvao, 2009).

El impacto de esta enfermedad no se limita a las zonas rurales. Las migraciones de población, a gran escala, a las zonas urbanas en Latinoamérica y a otras regiones del mundo, han aumentado la distribución geográfica y cambiado la epidemiología de la enfermedad de Chagas. En Estados Unidos, y en otras regiones donde está presente la enfermedad, aunque no a niveles endémicos, las estrategias de control se concentran en prevenir la transmisión causada por transfusiones de sangre, trasplantes de órganos y la transmisión transplacentaria (Ministerio de Salud 2011).

La presentación de la enfermedad de Chagas se encuentra estrechamente relacionada al área de distribución de sus vectores, que abarca desde México a Sudamérica. En Chile, al igual que en el resto del cono sur de Sudamérica, *Triatoma infestans* (Klug) es el principal vector de la Enfermedad de Chagas.

En el año 1999, Chile fue certificado como un país que logró la interrupción de la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas (Lorca et al. 2001), realizada por una comisión de expertos de la Iniciativa de Control de la transmisión por *T. infestans* y transfusional de la enfermedad de Chagas de los países del Cono Sur (INCOSUR – Chagas) y de la OPS/OMS, convirtiendo a Chile en el segundo país de la región, después de Uruguay, en lograr esta meta (Pinto 2007).

1. Clasificación taxonómica

Reino: Animalia
 Filo: Arthropoda
 Clase: Insecta
 Orden: Hemiptera
 Suborden: Heteroptera
 Infraorden: Cimicomorpha
 Superfamilia: Reduvidae
 Familia: Reduviidae
 Subfamilia: Triatominae
 Género: *Triatoma* Laporte, 1832
 Especie: *Triatoma infestans* (Klug, 1834)

2. Características morfológicas

T. infestans es un insecto de aproximadamente 20 a 30 mm, de coloración general negruzca a café-negruzca con tonalidades amarillentas en el corium, patas y el conexivo abdominal (fig.1).

Cabeza: alargada, casi tan larga como el pronoto, rugosa y con presencia de granulaciones. Ojos sobresalientes, en vista dorsal, y dispuestos en la parte baja de la cabeza, en vista lateral. Clípeo ensanchado en la parte posterior; genas redondeadas. Antenas negruzcas; primer segmento antenal alcanzando casi el ápice del clípeo; segundo segmento cerdoso. Rostro alargado, cerdoso, dispuesto en posición ventral y sobrepasando la posición de los ojos. Cuello negruzco con manchas amarillentas laterales.

Tórax: pronoto negruzco brillante, porción anterior con dos pequeños tubérculos proyectados anteriormente y con los ápices generalmente amarillentos; zona posterior rugosa. Escutelo completamente negruzco brillante, rugoso y con un proceso distal elongado y cónico. Hemiélitros oscuros, aunque la región central del ala (corio) negra pero con la membrana café; parte inferior del ala negra pero con presencia de manchas amarillentas. Venas de la membrana alar negruzcas. Patas largas y delgadas, negruzcas con el primer segmento (trocánter) y la base del fémur amarillos;



Fig. 1. Adulto hembra de *Triatoma infestans*.



Fig. 2. Ninfa de quinto estado de *Triatoma infestans*.

fémur anterior y medio con pequeños denticulos subapicales.

Abdomen: dorsalmente convexo, ligeramente comprimido en la línea media, ventralmente oscuro a negruzco; espiráculos respiratorios ubicados cerca de la sutura conexival. Conexivo negro y cada segmento con grandes áreas amarillentas la cual se extiende hasta la zona ventral (urotergito).

3. Ciclo biológico

T. infestans es un insecto hemimetábolo, lo cual significa que su ciclo biológico comprende los estados de huevos, ninfas (cinco estadios) y adultos. Es una especie doméstica y peridoméstica, aunque también ha sido encontrada ocupando focos silvestres en Bolivia (Noireau et al. 2000), Argentina (Ceballos et al. 2009), Paraguay (Velásquez & González 1959) y Chile (Bacigalupo et al. 2010). Presenta hábitos crepusculares y nocturnos, alimentándose preferentemente de noche de una amplia variedad de hospederos incluyendo al hombre. Los cinco estados ninfales son hematófagos y, potencialmente, vectores de *T. cruzi*; se diferencian de los adultos en que su genitalia y las alas no están completamente desarrolladas, (Fig.2). Su ciclo biológico completo depende de la disponibilidad de alimento y la temperatura y, en promedio, la fase ninfal puede completarse, en condiciones de laboratorio, en 158 días; los adultos logran vivir, bajo condiciones de laboratorio, unas 26 semanas los machos y alrededor de 16 semanas las hembras (Rabinovich 1972).

4. Distribución

Esta especie se distribuye preferentemente en el cono sur de América del Sur extendiéndose a algunas zonas de Brasil y en Argentina con

reportes que alcanzan a los 46°S (Provincias de Chubut y Santa Cruz) (Carcavallo et al. 1999). El área tradicionalmente endémica, por la presencia de este vector, se extendía entre la región de Arica y Parinacota por el norte, a la región de O'Higgins por el sur, incluyendo a la región Metropolitana. Sin embargo, luego de las intensas campañas de aplicación de insecticidas desde la década del 80, su rango de distribución actual comprende zonas de la Región de Tarapacá (sector Huarasiña) hasta la Región Metropolitana (áreas de Calera de Tango).

5. Importancia médica

T. infestans es el principal vector de *T. cruzi* en Chile. Presenta adaptaciones y comportamientos, tales como defecación sobre el hospedero y un corto período de defecación después de picar (Canals et al. 1999), los cuales optimizan el proceso de picada, y con esto, la posible transmisión del patógeno al hospedero. Ahora bien, considerando que la enfermedad de Chagas es más frecuente en áreas rurales (6% de la población total del país), que la transmisión vectorial de la enfermedad se encuentra interrumpida, y que actualmente se realiza control de la transmisión transfusional, en todos los servicios de sangre del país, la prevalencia de la enfermedad ha disminuido desde un 16,7%, registrada en los años 80 (Schenone et al. 1991) a 0,7% según datos de la Encuesta Nacional de Salud 2009-2010 en población chilena ≥ 15 años (Ministerio de Salud 2014). Sin embargo, es necesario considerar que, de igual manera, se mantienen altos porcentajes de infección por *T. cruzi* en ejemplares de *T. infestans* de las regiones de Atacama (39,9), Coquimbo (47,9), Valparaíso, oficina provincial de Aconcagua (41,1) y Región Metropolitana (70,4), con un índice nacional de 49,2 (Jercic et al. 2012, Boletín del Instituto de Salud Pública ISP, 2014).

Como se ha señalado, a pesar del avance en la eliminación de la infestación domiciliar, se mantienen focos residuales en localidades de las regiones de Antofagasta y Coquimbo; se observa, además, el fenómeno de intrusión de *T. infestans*, desde focos silvestres a las viviendas, en sectores rurales de las regiones de Valparaíso (Bacigalupo et al. 2010) y Metropolitana (Bacigalupo et al. 2006). Recientemente en el país, se ha reportado la presencia de perros seropositivos a *T. cruzi* en el sector costero de la zona norte (Iquique), asociado a triatominos silvestres (González et al. 2015), lo que constituye un factor de riesgo para la población debido al rol de estos cánidos como reservorios y centinelas, situación que debe ser considerada y evaluada en otras zonas del país con presencia de *T. infestans*.

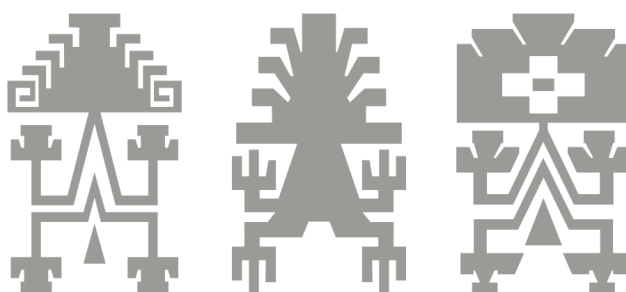
Por lo anterior, resulta importante mantener la continuidad de los Programas de Vigilancia de la enfermedad de Chagas, en las regiones del país, donde se distribuye este vector.

Referencias

- Bacigalupo A, Segura JA, García A, Hidalgo J, Galuppo S, Cattán PE. 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.
- Bacigalupo A, Torres-Pérez F, Segovia V, García A, Correa JP, Moreno L, et al. Sylvatic foci of the Chagas disease vector *Triatoma infestans* in Chile: description of a new focus and challenges for control programs. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2010; 105(5): 633-641.
- Boletín ISP. 2014. Vigilancia de Enfermedad de Chagas 2005 – 2013: Componente vectorial. Vol.4, No.6. Junio. Disponible http://www.ispch.cl/sites/default/files/Chagas%2023-06-2014_0.pdf
- Canals M, Solís R, Tapia C, Ehrenfeld M, Cattán, P.E. Comparison of some behavioral and physiological feeding parameters of *Triatoma infestans* Klug, 1834 and *Mepraia spinolai* Porter, 1934, vectors of Chagas Disease in Chile. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 1999; 94(5): 587-692.
- Carcavallo RU, Curto de Casas SI, Sherlock IA, Girón IG, Jurberg J, Galvao C, et al. Geographical distribution and alti-latitudinal dispersion. En: Carcavallo RU, Girón IG, Jurberg J, Lent H. Editores. *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas*, vol. 3. Rio de Janeiro. Editora FIOCRUZ; 1999. p. 747– 792.
- Ceballos LA, Piccinali RV, Berkunsky I, Kitron U, Gürtler RE. First finding of melanic sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) colonies in the Argentine Chaco. *J. Med. Entomol*. 2009; 46: 1195-1202.
- González CR, Reyes C, Canals A, Parra A, Muñoz X, Rodríguez K. An entomological and seroepidemiological study of the vectorial-transmission risk of Chagas disease in the coast of northern Chile. *Med. Vet. Entomol*. 2015; 29(4): 387-392.
- Jercic MI, González CR, Oyarce A, Cancino B, Mac-Lean M. La enfermedad de Chagas en Chile: componente vectorial y serología en menores de 5 años durante el período 2005-2010. *El Vigía* 2012; 13(27): 7- 11.
- Lorca M, García A, Bahamonde MI, Fritz A, Tassara R. Certificación serológica de la interrupción de la transmisión vectorial de la Enfermedad de Chagas en Chile. *Rev. médica de Chile* 2001; 129(3): 264-269
- Ministerio de Salud Chile. 2011. Departamento de Epidemiología. Circular B 51/17 de Vigilancia de Enfermedad De Chagas.
- Ministerio de Salud de Chile, 2014. Departamento de Enfermedades Transmisibles. Norma General Técnica: Control y prevención nacional de la Enfermedad de Chagas. Febrero 2014. Disponible http://www.saludohiggins.cl/attachments/2196_NTG0162Chagas2014.pdf
- Noireau F, Flores R, Gutiérrez T, Abad-Franchem F, Flores E, Vargas F. Natural ecotopes of *Triatoma infestans* dark morph and other sylvatic triatomines in the Bolivian Chaco. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2000; 94: 23-27.
- Pinto JC. Southern Cone Initiative for the elimination of domestic populations of *Triatoma infestans* and the interruption of transfusional Chagas disease. Historical aspects, present situation, and perspectives. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007; 102:11-18.
- Rabinovich JE. Vital statistics of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. I. *Triatoma infestans* Klug. *J. Med. Entomol*. 1972; 9(4): 351-370
- Schofield CJ, Galvao C. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. *Acta Tropica* 2009; 110: 88-110.
- Velásquez CJ, González G. Aspectos de la enfermedad de Chagas en Paraguay. *Rev. Goiana Med*. 1959; 5: 357-373.

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