



UNIVERSIDAD DE CHILE.

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS.

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA.



RESPUESTA SISTEMICA DEL ROEDOR *Octodon degus*
FRENTE A LA PICADA DEL VECTOR SILVESTRE DE LA
ENFERMEDAD DE CHAGAS, *Mepraia spinolai*.

CRISTOBAL RIGOBERTO CANO FONTT

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias
Biológicas y Animales.

PROFESOR GUÍA: Dr. PEDRO CATTAN

Financiado por Proyecto FONDECYT N° 1040711

SANTIAGO - CHILE

2008

Índice.

• Resumen.	2
• Summary.	3
• Introducción.	4
• Revisión Bibliográfica.	6
• Hipótesis y Objetivos.	13
• Materiales y Métodos.	14
• Resultados y Discusión.	19
• Conclusiones.	54
• Bibliografía.	55
• Anexos.	58

Resumen.

Con el propósito de determinar la respuesta sistémica de *Octodon degus* a la picada de *Mepraia spinolai*, vector silvestre de la enfermedad de Chagas, fue necesario en primera instancia generar los rangos de normalidad, hematológica, de glicemia y cortisol, para *O. degus*, que no se encontraban disponibles.

Se utilizaron para este estudio 33 roedores, de éstos, nueve fueron para determinar los valores basales y seis grupos de cuatro animales cada uno para medir las diferencias entre los individuos sin tratamiento, contra los animales picados por el insecto, con muestreos pasada 1h., 3hrs. y 5 días de picadas reiteradas en el tiempo.

De cada animal se obtuvo una muestra de sangre por punción intracardiaca bajo anestesia general para determinar VGA, Leucocitos, Glucosa y Cortisol. De esto fue posible concluir que el principal grupo leucocitario de *O. degus* son los Linfocitos. No se encontraron diferencias importantes para VGA, leucocitos ni glicemia entre los grupos experimentales y el rango normal.

Se estableció que los niveles de cortisol fueron superiores por mucho a los encontrados en la bibliografía consultada, determinándose al factor ambiental, como el principal factor estresante.

Summary.

To determinate the systemic response of *Octodon degus* for *Mepraia spinolai* bite, a wild vector of Chagas disease, it was necessary first create the normal species range of blood cells, sugar and cortisol for *O. degus* because these were not available.

In the study 33 rats were used, nine of them ones to determine the normal range and six groups of four animals each, to know the differences between normal and bited rats, the rats were bleed one hour of after bleed bite, tree hours of after bite and after five days of consecutive bites.

Each animal was bleed by a hearth puction under general anesthesia to determinate agglomerated globular volume (VGA), Leucocytes, sugar and cortisol. with that, it is concludes, that the principal white cell for *O. degus* is Lymphocyte. Differences for VGA, Leucocytes and sugar were not found between normal and experimental animals.

The cortisol level was higher than the concentrations reported in other publications, so the environmental factor was the most important stress factor.

Introducción.

La enfermedad de Chagas, denominada por el Ministerio de Salud como una zoonosis vectorial, se presenta en forma natural en el continente Americano. Ésta es una patología de carácter crónico en inmunocompetentes y oportunista en inmunodeprimidos (Salazar *et al.*, 2006).

Actualmente ocupa el cuarto lugar de importancia como carga de enfermedad (AVAD) en América, después de las enfermedades respiratorias, las diarreas y el SIDA. Dado que no existe una vacuna eficaz para prevenir la enfermedad, las estrategias de control están focalizadas en disminuir la transmisión, principalmente vectorial, por tratarse de la forma de contagio más importante (Salazar *et al.*, 2006).

Conforme con recientes estudios de La División de Salud Ambiental del Ministerio de Salud de Chile (DISAM), cada año son notificados al menos 550 nuevos casos de enfermedad de Chagas en los distintos bancos de sangre del país y el número de personas infectadas asciende aproximadamente a 142.000. Este número subdiagnostica el problema, pues no contempla a aquellas personas infectadas que no se han realizado exámenes que permitan detectar la presencia del parásito en la sangre (Mujica y Haydee, 2003).

El parásito causante de la enfermedad, *Trypanosoma cruzi* (Figura 1), es transmitido al hombre vía transplacentaria, transfusional y por insectos vectores. En Chile esta última es la vía de transmisión de mayor importancia epidemiológica. Los vectores son insectos hematófagos estrictos y oportunistas, pertenecientes al orden Hemiptera, familia Reduviidae, subfamilia Triatominae, conocidos popularmente como vinchucas (Mujica y Haydee, 2003).

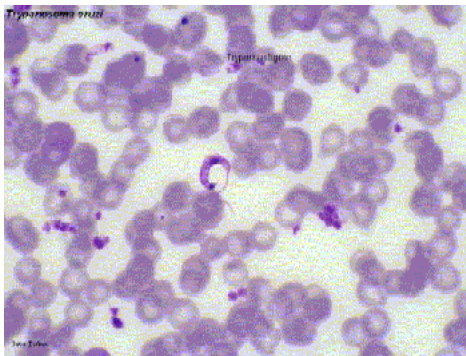


Figura 1: *Trypanosoma cruzi* en frotis sanguíneo. (Apt *et al.*, 2006.)

En Chile existen tres especies representativas de estos insectos (Canals *et al.*, 1999), dos de ellos con un rol comprobado en la mantención del ciclo del parásito. *Triatoma infestans*, es el vector más asociado al hombre y la otra especie, responsable del ciclo silvestre de la enfermedad, es *Mepraia spinolai* (Figura 2), (Canals *et al.*, 1999); la cual es cada día más relevante como vector de *T. cruzi* hacia el hombre. Sobre el tercer tipo de triatomino existente en el país, *Mepraia gajardoi*, si bien ha sido reportada en el desierto costero entre los 18° y los 26° S. su participación en el ciclo de la enfermedad se desconoce (Frias *et al.*, 1998). Sin embargo nuevos antecedentes han demostrado que *M. gajardoi* pudiera tener un rol en el ciclo chagásico en Chile, ya que recientemente, se ha reportado como portadora de *T. cruzi* (Botto *et al.*, 2008)



Figura 2: *Mepraia spinolai*
(Foto: Mariana Acuña.)

Existe información sobre la utilización de *Octodon degus* como fuente de alimentación por parte de *M. spinolai* (Rengifo, 2000). Por ello surge la pregunta sobre la importancia de *O. degus* en la epidemiología de la enfermedad de Chagas y el rol que ésta y otras especies juegan en la diseminación de la enfermedad tanto como reservorio silvestre y como forma de contagio a las poblaciones humanas. En este trabajo, se intentará aportar para dilucidar la respuesta sistémica de *O. degus* frente a la picada de *M. spinolai*, vector de la enfermedad de Chagas, como parte de un proyecto que intenta evaluar comparativamente la respuesta con otros micromamíferos en particular *Oryctolagus cuniculus*, (conejo europeo), una especie introducida en Chile y tradicionalmente considerada como doméstica y afín (como mascota y/o fuente de alimento) para los seres humanos.

Revisión bibliográfica.

La enfermedad de Chagas, también conocida como Tripanosomiasis Americana, fue descrita en 1909 en Minas Gerais, Brasil, por el Doctor Carlos Ribeiro Justiniano Chagas (Mujica y Haydee, 2003). Sin embargo, esta zoonosis parasitaria existe en el continente americano desde hace más de 9.000 años, ya que se ha documentado infección chagásica en comunidades prehistóricas del norte de Chile (Apt *et al.*, 2006). Su importancia en salud pública radica en que es una enfermedad crónica, pudiendo causar discapacidad (7 a 15% de los casos) e incluso la muerte (Mujica y Haydee, 2003).

Actualmente la infección se encuentra en forma natural en el continente americano desde el sur de California (paralelo 43 latitud norte), hasta Latinoamérica, región central de Argentina (paralelo 49 latitud sur) (Figura 3), zona donde habitan los vectores biológicos. Afecta a 17 países, con no menos de 12 millones de personas infectadas procedentes de las áreas urbanas y periurbanas (Apt *et al.*, 2006).



Figura 3: Distribución de la enfermedad de Chagas en América (en gris)
Las líneas negras corresponden a los límites norte y sur de la enfermedad

En América se estima que existen 80 a 100 millones de personas en riesgo de ser infectadas (Apt *et al.*, 2006). La enfermedad es más frecuente en áreas rurales y periurbanas, asociada más cercanamente a reservorios de mamíferos silvestres (Mujica y Haydee, 2003) y la cantidad de gente expuesta en Chile, corresponde aproximadamente a 850.000 personas. Se estima que el número de personas infectadas en esta área sería de 142.000 aproximadamente (Olea,

2003) y la población que habita zonas endémicas se encuentra distribuida desde el límite norte del país (frontera con Perú) hasta la VI región por el sur (Apt *et al.*, 2006).

La enfermedad de Chagas continúa siendo un problema de salud pública en nuestro país. Si bien se interrumpió la transmisión por *T. infestans*, se han reportado hallazgos de especímenes "asilvestrados" de esta que podrían reivindicarla como potencialmente peligrosa (Bacigalupo *et al.*, 2006). Además de lo anterior, aún persisten dos factores de propagación como la transmisión congénita y la existencia de *M. spinolai* (vinchuca silvestre) en toda el área endémica chilena (Guajardo, 2002); esta última, podría ser causante directa (por picadura) o indirecta de nuevas infecciones, por medio de consumo de productos de origen animal provenientes de animales infectados con *T. cruzi* (Olea, 2003).

Su agente etiológico, es el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, éste es un protozoo flagelado, altamente variable. Morfológicamente presenta cuatro formas: amastigote (intracelular), epimastigote, tripomastigote y tripomastigote metacíclico. Mediante técnicas de electroforesis e isoenzimas, se ha podido identificar varios zimodemas con características biológicas y patológicas particulares, que le dan un carácter propio a la enfermedad de Chagas en las diferentes regiones donde es prevalente. De igual forma, el análisis de ADN ha podido revelar la existencia de esquizodemas, que al igual que los zimodemas, se pueden asociar con comportamientos biológicos particulares de los parásitos (Apt *et al.*, 2006).

En un estudio, mediante la investigación de las características biológicas como la virulencia, la evolución de la parasitemia, el histotropismo y las formas celulares predominantes, fue posible diferenciar hasta tres grandes grupos de cepas de *T. cruzi* denominados biodemas. Actualmente se diferencian dos linajes de *T. cruzi* TC1 y TC2. TC1 es del ciclo silvestre y de casos humanos del Altiplano Chileno-boliviano y de algunos casos de Venezuela, TC2 corresponde al ciclo doméstico y se divide en 5 sub-grupos a, b, c, d y e (Apt *et al.*, 2006).

La heterogeneidad biológica ha sido observada a nivel de cepas o aislamientos y algunos trabajos han abierto la posibilidad de considerar un comportamiento diferenciado entre los clones constitutivos con respecto a su cepa parental (Apt *et al.*, 2006).

La enfermedad de Chagas, se puede manifestar en forma aguda y/o crónica. La forma aguda es, en general, una enfermedad febril leve debida a la infección reciente por el microorganismo. Tras la resolución espontánea de la forma aguda del proceso, la mayor parte de los infectados permanecen durante el resto de sus vidas en una fase indeterminada de la enfermedad de Chagas crónica, caracterizada por parasitemia subclínica, anticuerpos contra *T. cruzi* fácilmente detectables y ausencia

de síntomas, esta fase indeterminada, es también denominada como fase latente por algunos autores y reconocida como tal por el Ministerio de Salud (Apt *et al.*, 2006). Una minoría de personas con infección crónica latente, desarrolla lesiones cardíacas y gastrointestinales que pueden provocar manifestaciones graves y la muerte (Kirchhoff, 2002).

T. cruzi se transmite a los mamíferos hospederos a través de insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae. Los insectos se infectan al alimentarse de la sangre de mamíferos que contienen parásitos circulantes. Los microorganismos ingeridos se multiplican en el intestino de los reducidos y las formas infecciosas se eliminan en las heces al defecar. La transmisión a un segundo vertebrado hospedador se produce cuando las erosiones cutáneas, mucosas o conjuntivas se contaminan con heces de triatomínios que contienen los parásitos infectantes. *T. cruzi* también puede transmitirse por la transfusión de sangre donada por personas infectadas, de la madre al feto y en accidentes de laboratorio (Kirchhoff, 2002).

Con frecuencia, aparece una lesión inflamatoria indurada, llamada *Chagoma*, en el lugar de entrada del parásito. Los cambios histológicos locales consisten en la presencia de parásitos intracelulares en los leucocitos y las células del tejido subcutáneo, edema intersticial, infiltración linfocitaria e hiperplasia reactiva de los linfonodos adyacentes. Con la diseminación del parásito a través de los linfocitos y de la corriente sanguínea, los músculos, incluido el miocardio, pueden resultar intensamente parasitados. Los pseudo-quistes característicos presentes en los cortes de los tejidos infectados son acumulaciones intracelulares de parásitos en fase de multiplicación (Kirchhoff, 2002).

***M. spinolai*.**

M. spinolai, es una especie silvestre cuya existencia ha sido comprobada solamente en Chile, en habitats pedregosos de cerros, grietas o rocas, canteras, guaneras, nidos de aves, pircas, corrales, viviendas rurales y en cuevas de diversos animales. La mayor adaptación de *M. spinolai* para alimentarse de diversas presas, comparativamente con *T. infestans*, sugiere que podría comportarse como un vector de gran importancia epidemiológica y aún más si consideramos la casi total desaparición de *T. infestans* gracias a los programas de control (Canals *et al.*, 2001). Esta vinchuca, presenta una distribución agrupada en parches y sus índices de infección varían según su distribución geográfica y época del año, debido a las poblaciones de mamíferos de las cuales dependen en su alimentación, en verano existe una mayor presencia de humanos, perros, gatos y animales en pastoreo, además de los habituales roedores y conejos presentes durante todo el año, por esto la dieta de *M. spinolai* es mas variada y heterogénea en verano que en invierno. En comparación a *T. infestans*, *M. spinolai* presenta un comportamiento más agresivo tomando menores

tiempos para iniciar su picadura y siendo la duración de ésta, de más corto tiempo que *T. infestans* (9.68 minutos para *M. spinolai* y 19.46 minutos para *T. infestans*), esta característica reviste especial importancia al analizar el hecho de que *M. spinolai*, debido a su corto tiempo de succión, rara vez defeca sobre el animal al que picó, acción que contrasta notablemente con lo ocurrido con *T. infestans* (Canals *et al.*, 2001).

Epidemiológicamente, *M. spinolai* representa el vector silvestre de la enfermedad y tiene la posibilidad de infectar animales sinantrópicos y silvestres, siendo aquí de gran importancia la presencia de mamíferos, ya sean autóctonos, como *O. degus*, roedor silvestre, o introducidos, como *Oryctolagus cuniculus*, conejo europeo. Ya que las preferencias alimenticias para *M. spinolai* varían según la disponibilidad en los diferentes sectores geográficos (Rengifo, 2000), reportándose así para este insecto una gama especialmente amplia de posibles fuentes de alimentación, donde además de los ya mencionados, es posible agregar otros roedores como *Chinchilla lanígera*, *Abrocoma benetti* y *Phyllotis darwini* e incluso animales tan diversos como aves, cánidos, caprinos y humanos (Cruzat, 1997).

O. degus.

La importancia de *O. degus* (Figura 4) como reservorio de la enfermedad de Chagas en Chile, es controversial, ya que los resultados obtenidos sobre su infección con *T. cruzi* son muy variables, lo que hace pensar en una asociación de tipo oportunista según las densidades relativas en los distintos lugares de su rango de cohabitación. Sin embargo, se ha observado que en condiciones de laboratorio, el degu puede mantener una población de *M. spinolai* por un tiempo prolongado (Acuña, 2001).



Figura 4: *Octodon degus*
(Foto: Cristóbal Cano)

O. degus pertenece a la Familia Octodontidae que se caracteriza por tener cabeza grande y cola larga terminada en pincel. Son roedores fuertes y ágiles, buenos cavadores de hábitos vegetarianos. En Chile se conocen nueve especies de esta familia, siendo *O. degus* el más abundante y ampliamente distribuido en nuestro país (Muñoz y Yañez, 2000).

En cuanto a su papel como reservorio o portador de enfermedades destaca el hallazgo de quistes hidatídicos y la detección de *T. cruzi* (Rengifo, 2000; Acuña, 2001). Es posible encontrarlo también con frecuencia en habitaciones humanas de sectores rurales, hecho por el cual debería calificar, por su importancia epidemiológica, como eventual reservorio de Chagas (Acuña, 2001).

Debido a la evidencia existente, que relaciona a *O. degus* con *M. spinolai* (Rengifo, 2000; Acuña, 2001), es posible pensar que éste, presente una mayor reactividad frente a la picada del insecto, si lo comparamos con animales introducidos en la fauna nacional, como *Oryctolagus cuniculus* (conejo europeo), el cual ha tenido un tiempo de interacción con *M. spinolai* mucho menor, que no va más allá de 150 años (Canals *et al.*, 2001). Siendo esperable encontrar entonces respuestas sistémicas diferentes frente a la picada del insecto por cada una de estas especies mamíferas.

Estrés.

El estrés es una respuesta inespecífica del organismo ante condiciones ambientales adversas, que produce ajustes fisiológicos y metabólicos para mantener la homeostasis (Morales, 2003). Esta respuesta, es el conjunto de procesos y efectos neuroendocrinos, inmunológicos, emocionales y conductuales, ante situaciones que significan una demanda de adaptación mayor que lo habitual para el organismo y son percibidas por el individuo como amenaza o peligro, ya sea para su integridad biológica o psicológica (Trucco, 2002). La respuesta neuroendocrina de estrés, provoca un incremento de hormonas catabólicas (catecolaminas y glucocorticoides) y esto es incompatible con el aumento de hormonas anabólicas (hormona de crecimiento y hormonas gonadales) (Morales, 2003).

Los ajustes neuroendocrinos y los cambios conductuales permiten la adaptación del organismo animal al presentarse algún agente inductor de estrés. Para evaluar la influencia de los factores inductores de estrés sobre el animal, se han utilizado parámetros de medición de diferentes hormonas, como la prolactina en animales de producción, la hormona de crecimiento y la tiroxina, así como las hormonas relacionadas directamente con el estrés, como catecolaminas y cortisol o en respuestas de los órganos blancos, reflejados en el incremento de la presión sanguínea, ritmo cardiaco, hiperglicemia y cambio en el conteo de Leucocitos entre los más usados (Morales, 2003).

La respuesta de los animales frente a un agente inductor de estrés se debe a tres componentes principales. El primero es el reconocimiento de la amenaza, que ocurre en el sistema nervioso central y que culmina en una organización de defensa biológica de tipo homeostático. El segundo es la respuesta al estrés que confiere, cambios conductuales, autonómicos y

neuroendocrinos que llevan al individuo a presentar cambios biológicos que afectan su economía corporal y es compensada por actividades biológicas como la gluconeogénesis (Morales, 2003). Si los estímulos inductores de estrés son prolongados, entonces se desarrollará el tercer componente que es un estado prepatológico en el cual se altera la capacidad individual para mantener las funciones normales y se desarrollan enfermedades, cesa la reproducción y se presentan alteraciones conductuales (Trucco, 2002).

Durante el estrés, la activación neuroendocrina se inicia al incrementar la concentración plasmática de norepinefrina y epinefrina, como resultado de la activación del sistema nervioso simpático y ésta es una característica de la respuesta aguda al estrés. Por otra parte, la consiguiente estimulación del sistema hipotálamo-hipófisis-adrenal (H-H-A) está relacionado con la respuesta crónica al estrés, del cual surge la producción de glucocorticoides y la biosíntesis de catecolaminas en la médula adrenal, que está determinada por la cantidad de glucocorticoides circulantes y son las concentraciones de catecolaminas sanguíneas las que estimulan la liberación de adrenocorticotropina por la hipófisis anterior.

Los glucocorticoides inducen una disminución en la resistencia del individuo ante diferentes enfermedades y también son causa de activación de infecciones latentes (Trucco, 2002). Tienen un potente efecto inmunosupresor, siendo linfo líticos y disminuyendo la producción de anticuerpos (inmunidad humoral). Los glucocorticoides participan en la supresión de la respuesta inflamatoria (por lo que existe una disminución en las concentraciones de fibrinógeno sanguíneo) y alérgica (disminución de eosinófilos), diapedesis leucocitaria y la formación de granulomas y a consecuencia de estos efectos, interfieren con la respuesta del individuo frente a infecciones bacterianas y suprimen las reacciones de sensibilidad retrasada. Existiendo también, una hipertrofia adrenal e involución tímica. Por otra parte, también ocasionan una disminución en la promoción de la excreción de ácido úrico y de agua libre para ser evacuados del organismo (Morales, 2003).

Para ser eliminados del organismo son inicialmente desactivados y posteriormente conjugados para formar derivados hidrosolubles que se excretan por la orina. El sitio principal de inactivación es el hígado y el proceso de desactivación es la reducción enzimática del anillo A (Morales, 2003).

Durante el estrés agudo y crónico, las catecolaminas circulantes presentan concentraciones altas en plasma. La medición del estrés se puede llevar a cabo mediante la cuantificación de las catecolaminas y es posible también, cuantificar las concentraciones de catecolaminas de manera indirecta midiendo las concentraciones de los metabolitos de éstas en la orina. El ácido

vanilmandelico es un metabolito de las catecolaminas de excreción urinaria factible de medir (Morales, 2003).

Los cambios conductuales atribuidos a la presencia de estrés pueden ser variables según la intensidad presentada; por ejemplo la conducta de miedo, el intento de escape, emitir vocalizaciones, tornarse agresivo e hiperactivo entre otras y son en general instancias relacionadas al estrés agudo. Sin embargo, cuando un animal se encuentra en un ambiente poco familiar y se ve frustrado para desarrollar conductas de escape puede bloquear completamente la actividad y desarrollar apatía o depresión (Morales, 2003).

Función del cortisol en el estrés y la inflamación.

En general el estrés, ya sea físico o neurógeno, produce un aumento inmediato y marcado de la secreción de ACTH por la hipófisis anterior, seguido en minutos por un gran aumento de la secreción corticosuprarrenal de cortisol, detectable y cuantificable en sangre por medio de métodos específicos (Guyton y Hall, 1996).

Por tanto una gran variedad de estímulos inespecíficos puede producir un aumento marcado de la secreción de cortisol por la corteza suprarrenal (Guyton y Hall, 1996).

Cuando los tejidos se lesionan, casi siempre sufren una inflamación. En algunas situaciones, la inflamación es más perjudicial que el propio traumatismo. Grandes cantidades de cortisol pueden bloquear esta inflamación o incluso anular muchos de sus efectos. Uno de los efectos antiinflamatorios más importantes del cortisol, es su capacidad para lograr la estabilización de las membranas lisosómicas. Por lo tanto, la mayor parte de las enzimas proteolíticas liberadas por las células lesionadas para producir la inflamación, almacenadas en los lisosomas, se liberan en mayor cantidad. Este efecto, reduce la permeabilidad de los capilares, lo que evita la pérdida de plasma hacia los tejidos. Esto por su parte, reduce tanto la migración de leucocitos a la zona inflamada como la fagocitosis de células lesionadas, por la menor formación de prostaglandinas y leucotrienos. Por lo tanto, el cortisol posee un efecto casi global en la reducción del proceso inflamatorio (Guyton y Hall, 2001).

Como manifestación sanguínea al cortisol, se establece el llamado leucograma del estrés, el cual se caracteriza por presentar una neutrofilia, al aumentar la liberación de neutrófilos desde médula ósea a circulación y disminuir la marginación de células al endotelio, lo que aumenta el pool circulante. Esta neutrofilia se acompaña de una eosinopenia, causada por la inhibición de la

histamina por parte de los corticoides y una linfopenia ya mencionada. Además es común esperar, en roedores, que se manifieste una monocitopenia por redistribución en el pool marginal (Rudolph y Villouta, 2002).

Hipótesis.

La exposición de *O. degus*, frente a la picada de *M. spinolai* origina variaciones bioquímicas, hematológicas y hormonales, asociables a una condición de estrés en el corto plazo.

Objetivo general.

Determinar la respuesta sistémica de *O. degus* frente a la picada de *M. spinolai*.

Objetivos específicos.

- 1.-** Determinar los niveles basales de cortisol y glicemia de *O. degus*.
- 2.-** Establecer las variaciones en los niveles de cortisol, glicemia y hematológico (Hemograma) posterior a la picadura.
- 3.-** Estudiar si existen variaciones a nivel de cortisol, glicemia y hemograma, frente a picaduras reiteradas en el tiempo.

Material y Método.

Animales.

Los animales utilizados en este estudio fueron donados, en parte por el Bioterio de la Universidad Católica de Chile y otra parte por Buinzoo. Éstos se alimentaron durante el estudio, en base a forraje natural, principalmente pasto fresco y fardos de alfalfa comercial de tercer corte, complementado además con semillas de avena y alimento comercial para roedores. Estuvieron sujetos a prácticas protocolizadas y estandarizadas, de igual forma para todos los animales del estudio, a fin de producir en ellos una constante de manejo que no generara diferencias perceptibles por los animales, en cuanto al manejo de un grupo u otro y crear en ellos un acostumbramiento al manejo diario. Todos los animales que participaron se encontraban sanos al examen clínico al momento de iniciarse el ensayo.

Vinchucas.

Los insectos utilizados durante esta memoria, fueron proporcionados por el laboratorio de Ecología, del Departamento de Ciencias Biológicas y Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. Dichos insectos, corresponden a vinchucas de estadio adulto, cultivadas en cámaras de temperatura y humedad controladas desde su nacimiento por el personal del laboratorio, siendo éstas, vinchucas libres de *T. cruzi*.

Muestreo.

Para este estudio los animales se separaron en siete grupos consistentes en un grupo control para establecer los valores basales para la especie, Grupo 0 (Figura 5), conformado por nueve individuos; otro grupo picado por tres vinchucas cada uno, al que se le realizaron las mediciones dentro de la primera hora desde la picadura, conformado por cuatro individuos, grupo 1 (Figura 5); un grupo que actuaba como control de este último, que correspondía a un conjunto de 4 animales puncionados con aguja de diámetro similar al estilete de una vinchuca, con las mediciones dentro de la primera hora, grupo 2 (Figura 5); otro grupo de cuatro animales, sometido a picaduras de tres vinchucas, cada uno y posterior medición dentro de las 3 primeras horas de finalizadas las picaduras, grupo 3 (Figura 6); el correspondiente grupo control a este grupo 3, formado de cuatro degus puncionados con aguja y cuya muestra se obtuvo dentro de las tres primeras horas de realizadas las punciones, grupo 4 (Figura 6); otro grupo también de cuatro animales, picados por tres vinchucas diariamente cada uno, durante cinco días y con mediciones dentro de la primera hora

de finalizada la última picadura del quinto día, grupo 5 (Figura 7) y por último el control de este grupo formado por cuatro roedores puncionados con agujas por cinco días consecutivos y medidos en la primera hora, grupo 6 (Figura 7).

Los animales se trasladaban al laboratorio de hematología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (FAVET), lugar de realización de los experimentos, desde el Bioterio de la misma Facultad, temprano en la mañana, 8:30 – 9:00 AM de cada día de picada y fueron sometidos a un procedimiento estandarizado de picadura aproximadamente al medio día, concordante con los ritmos circadianos del roedor y niveles normales de cortisol (Tate y Richardson, 2002) y posteriormente a una única toma de muestra de sangre por individuo, con motivo de reducir el factor estrés de las manipulaciones (Anon, 1984). Ésta medición se realizó pasada una hora aproximadamente desde la última picada o pasadas 3 horas desde el mismo momento, según el grupo que correspondía, al igual que ocurrió con los grupos pinchados con el estilete. Los lapsos se fijaron de acuerdo a los tiempos promedios estimados de presentación, de los distintos tipos de respuesta sistémica que los individuos pudiesen presentar (Quezada, 1998). Siendo siempre la toma de muestras de sangre bajo un estado de anestesia general del animal por medio de la administración de gas éter en un ambiente cerrado. Una vez llegado el animal al laboratorio, se procedía a introducirlo en la jaula oscura donde permanecería durante el resto del proceso, a fin de evitar estímulos visuales externos para el animal.

No es objetivo de este estudio, el caracterizar el tipo de respuesta inmune que el animal pueda presentar, sino las variaciones hematológicas que éste presente, a causa de la picadura. Es por ello que los tiempos de medición se ajustan a los de presentación de respuesta según las distintas tipos de hipersensibilidad que se puedan manifestar.

Protocolo de grupos y esquema de trabajo.

Los *O. degus* que se encontraban en el laboratorio de hematología desde la mañana y puestos en su jaula de picadura (ver anexos fotográficos), eran mantenidos en ayuno hasta la hora de picada, completando así alrededor de 5 horas sin alimento, tiempo suficiente para realizar las mediciones y acostumbrarse al lugar (Anon, 1984). A las 12:00 se introducían las vinchucas (el proceso de picado, comprendía la picadura de 3 vinchucas por animal), previo a cada muestra de sangre fueron anestesiados con éter al interior de su caja de picadura; sólo eran retirados de la caja una vez anestesiados y se realizaba la punción intracardiaca.

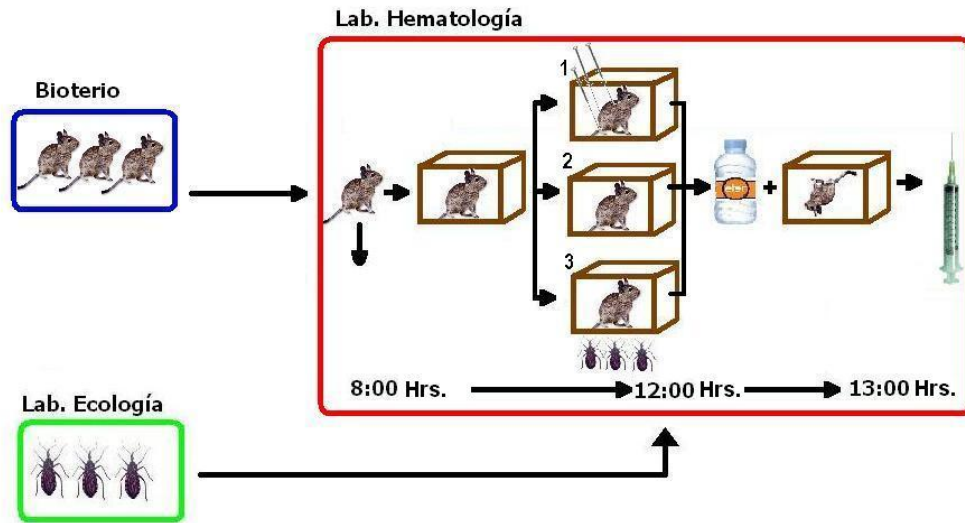


Figura 5: Se muestran los esquemas de trabajo del grupo 0 (número 2), grupo 1 (número 3) y del grupo 2 (número 1).

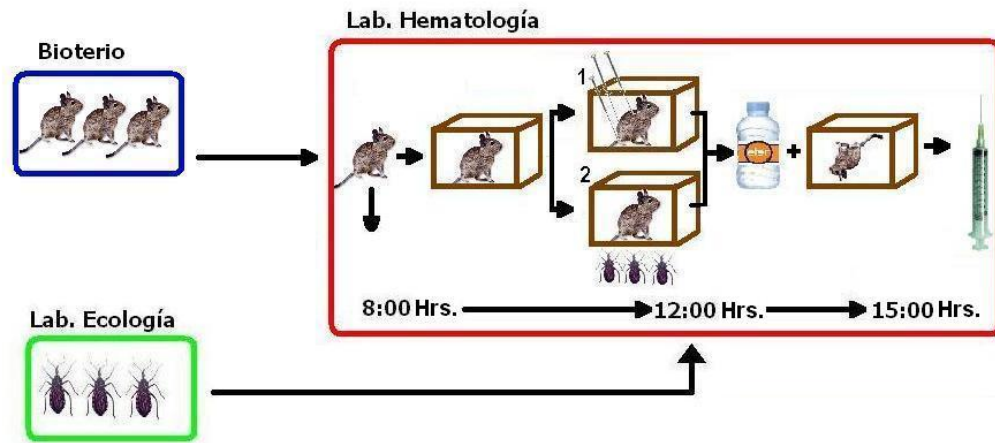


Figura 6: esquema de trabajo grupo 3 (número 2) y grupo 4 (número 1)

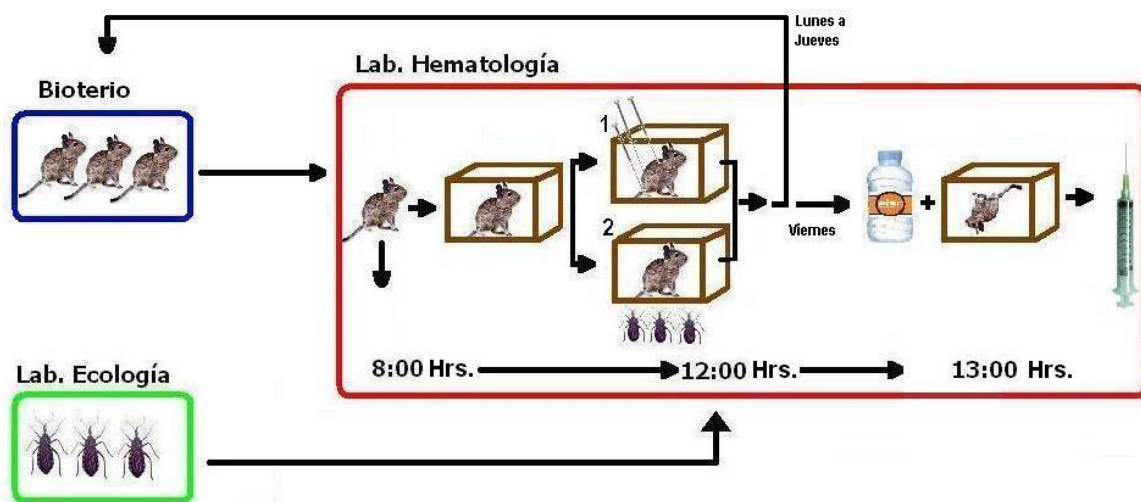


Figura 7: esquema de trabajo grupo 5 (número 2) y grupo 6 (número 1).

A cada animal se le extrajo entre 0,5 a 1 ml de sangre sólo en una oportunidad, vía punción cardiaca. Tanto las picaduras, como las punciones con aguja se realizaron en las extremidades de los animales. A aquellos que correspondió puncionar para emular el efecto de la picadura real (grupos 2, 4 y 6), se les realizó la punción, con una aguja fina de acupuntura (de un calibre 0,18 mm, similar al del estilete propio del insecto) en las extremidades del roedor, para comparar el efecto de la saliva del insecto en la picadura versus la aguja estéril.

La muestra de sangre fue obtenida con jeringas de 3 ml y agujas de 23 G, el anticoagulante usado, Edetato de calcio disódico (EDTA), agregado previamente en la jeringa. La sangre recolectada era utilizada para realizar un hemograma, determinación de glicemia y cortisol sanguíneo de cada animal.

Las determinaciones se realizaron de la siguiente manera.

Determinación de glucosa desde suero de sangre obtenida con EDTA, por método GOD-POD: Test color - enzimático. Glucosa - oxidasa - peroxidasa. La glucosa es transformada por la glucosa oxidasa (GOD), en ácido glucónico y en peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de peroxidasa (POD), oxida el cromógeno (4-aminofenazonal/fenol), convirtiéndolo en un compuesto de color rojo, el cual es cuantificado por el fotocolorímetro del equipo (Zapata y Fajardo, 2000).

Determinación de cortisol sanguíneo en muestra obtenida con EDTA por radioinmunoensayo (RIA). La concentración de cortisol plasmático fue obtenida desde muestras de sangre

centrifugadas y mantenidas a -70°C hasta la prueba, usando la técnica de RIA en fase soluble, que permite determinar la capacidad de unión de un anticuerpo por adición de un moderado exceso de antígeno marcado a un antisuero (Zapata y Fajardo, 2000).

Realización de hemograma en muestra obtenida con EDTA, para evaluar distintos parámetros como relación neutrófilo/linfocito (Zapata y Fajardo, 2000).

Los datos recopilados para determinar las variaciones fueron realizados, tanto para los animales picados por vinchucas, como para sus correspondientes grupos controles, es decir, los animales puncionados con aguja. Estos datos fueron graficados y analizados por medio de una prueba de T de muestras independientes para contrastar cada grupo experimental con su grupo control y un análisis ANOVA de un factor para determinar la significancia estadística entre sí de las variaciones entre los grupos controles y los grupos experimentales respectivamente.

Resultados y discusión.

Objetivo 1: Determinar los niveles basales hematológicos, de cortisol y glicemia de *O. degus*.

Los valores obtenidos como basales mostraron tener una alta variabilidad en los rangos. En particular el cortisol mostró un rango (mínimo – máximo) de 4070,8 nmol/l. Notablemente, el número de linfocitos fue siempre superior al de los neutrófilos (Tabla 1). El rango de valores basales para la especie se determinó usando los valores obtenidos por el grupo 0, tomando el promedio y una desviación estándar (Tabla 2).

Tabla 1.- Valores basales hematológicos, de glucosa y cortisol, descriptivos para *Octodon degus*.

	N	Mín	Máx	Media	Desv. típ.
VGA (%)	9	35	46	41,7	3,7
Leucocitos (Nº / μ l)	9	3450	10400	6016,7	2509,3
Linfocitos (Nº / μ l)	9	1760	6076	3300,8	1601,8
PMNN (Nº / μ l)	9	1106	3120	1828,1	635,2
Glucosa (mg/dl)	9	75	144	107,2	20,9
Cortisol (nmol/l)	9	2637,6	5036,8	3314,4	829,5

Tabla 2.- Rango de valores normales generados para *Octodon degus*.

	Valor máximo	Valor mínimo
VGA (%)	45	38
Leucocitos (Nº / μ l)	8526	3507
PMNN (Nº / μ l)	2463	1193
Linfocitos (Nº / μ l)	4903	1699
Glucosa (mg/dl)	128	86
Cortisol (nmol/l)	4144	2485

Una vez establecidos como rango basal los valores promedio y su desviación típica para establecer el margen de normalidad, los valores obtenidos para el resto de los grupos del estudio, no variaron sustentablemente a los obtenidos por este primer grupo (grupo 0), lo que induce a pensar en una pobre respuesta por parte del degu frente a la picada de *M. spinolai*, o bien, a una poca capacidad inmunogénica por parte de la vinchuca para generar una respuesta en este roedor. Pese a la mala respuesta sistémica, si la picadura es detectada por el roedor al momento de ocurrir, se quitan los insectos del lugar, moviéndose y emitiendo sonidos audibles fácilmente; sin embargo esta irritabilidad presentada por el degu, ya antes mencionada por Acuña, 2001, no se traduce en una mayor o exagerada respuesta sistémica que pueda ser notoriamente cuantificable. Este comportamiento, por extraño que parezca, podría deberse entonces a mecanismos coevolutivos generados por ambas especies, en el caso de una, para no generar daños notorios a su fuente de alimento (el degú) y en la otra para detectar fácilmente el minuto en que es picada para evitar que el proceso continúe.

Objetivos 2 y 3: Establecer las variaciones en los niveles de cortisol, glicemia y hematológico posterior a la picadura y reiterados en el tiempo.

Cortisol:

Al comparar los resultados entre todos los grupos experimentales, éstos mostraron que no hubo diferencias estadísticas significativas (valor de Sig. $\leq 0,05$). Al contrario de lo esperado, el grupo basal mostró los valores más altos. También mostró similares valores el grupo estilete 5 días, mientras que el grupo vinchuca 5 días mostró valores bajos (Tabla 3, Figura 8).

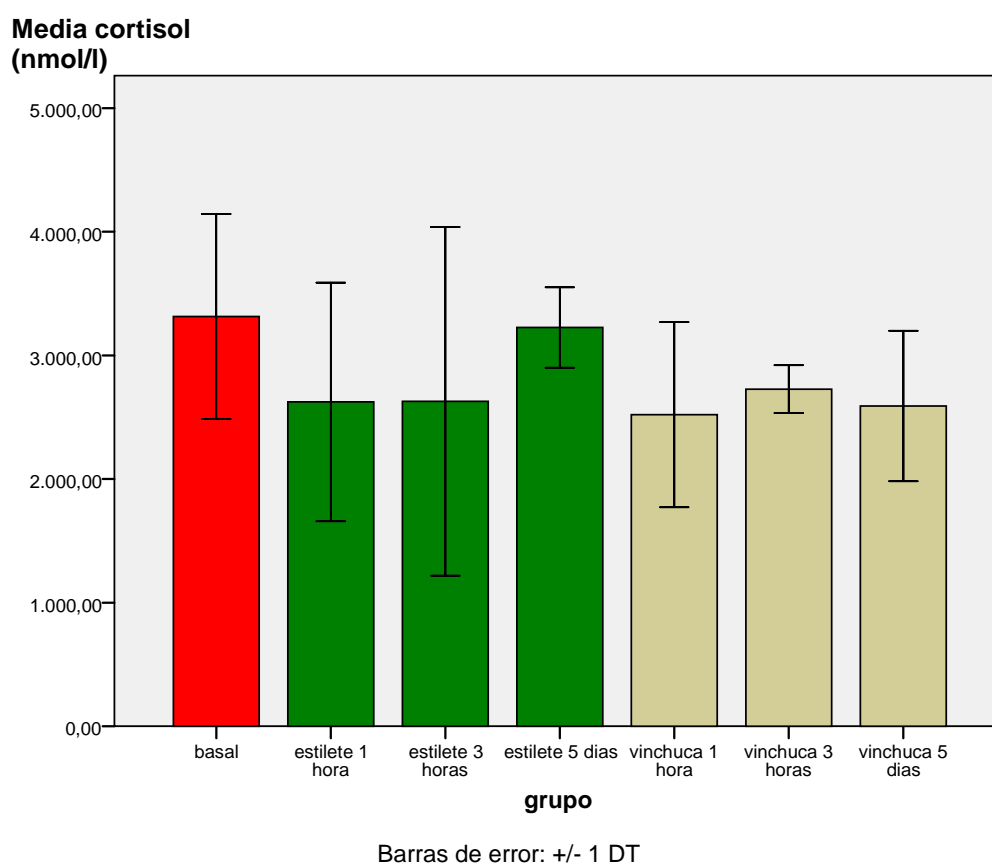


Figura 8.- Niveles promedio de cortisol sanguíneo con una desviación estándar, expresado en nmol/L, obtenidos para cada grupo experimental más el grupo basal.

Tabla 3.- ANOVA para cortisol entre todos los grupos participantes del experimento incluido el grupo basal.

Cortisol (nmol/l)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3639389,26	6	606564,87	0,902	0,509
Intra-grupos	17485594,78	26	672522,87		
Total	21124984,04	32			

Las diferencias apreciables en el gráfico de la figura 8 para cortisol, tanto entre los grupos con estilete entre sí como en los grupos picados por vinchucas, mostraron diferencias no estadísticamente significativas. (Tablas 4 y 5) A su vez, las comparativas entre las medias para cada grupo experimental contra su correspondiente grupo control, arrojaron resultados que indican nuevamente, que las aparentes diferencias entre uno y otro grupo observables a nivel gráfico (Figura 8) no son estadísticamente significativas (Tablas 6, 7 y 8).

Tabla 4 a.- Resumen descriptivo para cortisol en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6).

Cortisol (nmol/l)	N	Media	Desviación típica
pinchado medición 1 hora	4	2623,7	965,10252
pinchado medición 3 horas	4	2628,6	1410,07924
pinchado x 5 días medición 1 hora	4	3225,6	325,07115
Basal	9	3314,4	829,53634
Total	21	3035,3	915,60706

Tabla 4 b.- ANOVA para cortisol en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6).

Cortisol (nmol/l)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2185428,7	3	728476,3	0,849	0,486
Intra-grupos	14581297	17	857723,4		
Total	16766725,8	20			

Tabla 5 a.- Resumen descriptivo para cortisol en grupos basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

Cortisol (nmol/l)	N	Media	Desviación típica
Picado medición 1 hora	4	2520,1	748,52405
Picado medición 3 horas	4	2726,8	193,27162
Picado x 5 días medición 1 hora	4	2590,4	608,65184
Basal	9	3314,4	829,53634
Total	21	2913,3	742,70470

Tabla 5 b.- ANOVA para cortisol en grupos basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

Cortisol (nmol/l)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2622863,4	3	874287,8	1,77	0,191
Intra-grupos	8409342	17	494667,2		
Total	11032205,4	20			

Tabla 6.- Prueba de T para muestras independientes grupos estilete y vinchuca una hora.

Cortisol (nmol/l)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
Se han asumido varianzas iguales	0,35	0,58	0,17	6	0,871	103,6000	610,67813	-1390,67556	1597,87556
No se han asumido varianzas iguales			0,17	5,65	0,871	103,6000	610,67813	-1413,38590	1620,58590

Tabla 7.- Prueba de T para muestras independientes grupos estilete y vinchuca tres horas.

Cortisol (nmol/l)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias							
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Dif. De medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la diferencia		
Se han asumido varianzas iguales	2,34	0,18	-0,14	6	0,895	-98,20000	711,63147	-1839,49947	1643,09947	
No se han asumido varianzas iguales			-0,14	3,11	0,899	-98,20000	711,63147	-2317,24796	2120,84796	

Tabla 8.- Prueba de T para muestras independientes grupos estilete y vinchuca cinco días.

Cortisol (nmol/l)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias							
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Dif. De medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la diferencia		
Se han asumido varianzas iguales	1,23	0,31	1,84	6	0,115	635,20000	345,01026	-209,00970	1479,40970	
No se han asumido varianzas iguales			1,84	4,583	0,130	635,20000	345,01026	-276,52708	1546,92708	

Los promedios de cortisol mostrados en la Figura 8, indican una mayor concentración sanguínea de esta hormona por parte del grupo basal y del grupo de individuos pinchados con estilete por cinco días, lo cual, es por lejos muy diferente a lo esperado. De acuerdo a lo descrito, lo que normalmente debiera ocurrir en un organismo al presentarse un evento estresante, es la respuesta adrenal que debiera desencadenar una liberación de cortisol posterior al estresor, es decir encontrar niveles mayores de cortisol en los grupos sometidos a eventos estresantes reiterados en el tiempo (Guyton y Hall, 2001) y no en el grupo basal, al cual no se le sometió (al menos en forma intencional), a ningún evento estresante.

Por todo lo anterior y sumado a que los niveles promedio de cortisol mostrados por todos los roedores de este estudio, fueron considerablemente superiores a los más altos valores obtenidos por otros autores 828 nmol/l (Mohawk *et al.*, 2005) contra un promedio general que supera los 3000 nmol/l para este estudio, y aunque los análisis estadísticos no arrojaron diferencias significativas entre los grupos, es que se postula como tesis de respuesta a lo acontecido, que tan altos niveles de cortisol y por ende de estrés para estos animales, obedecen a factores ambientales externos a los que se manejaron durante el estudio, jugando probablemente un rol bastante más fundamental del que se pensó, los factores ambientales como las luces del recinto donde se encontraban o ruidos extraños para ellos. Estos factores podrían ser los que gatillaron en ellos un estrés muy superior al que pudiese eventualmente producir una picada de vinchuca.

Glucosa:

Los niveles promedio de glicemia para cada grupo no mostraron grandes diferencias, manteniéndose todos dentro de un nivel similar. El grupo que presentó los valores más altos fue el 6, de estilete por cinco días, mostrando una diferencia estadísticamente significativa respecto al resto de los grupos (Sig. 0,025 Tabla 9; Sig 0,007 Tabla 10b), como indica la Figura 9. Sin embargo al comparar los promedios obtenidos entre todos los grupos en forma conjunta (Tabla 9), sólo entre los controles (Tabla 10), los experimentales entre sí (Tabla 11) y cada grupo experimental con su control (Tablas 12, 13 y 14), no se encontraron diferencias de importancia o significancia estadística reales para el resto de los grupos, siendo solo el grupo 6 el que presentó diferencias. (Tablas 9, 10 y 14)

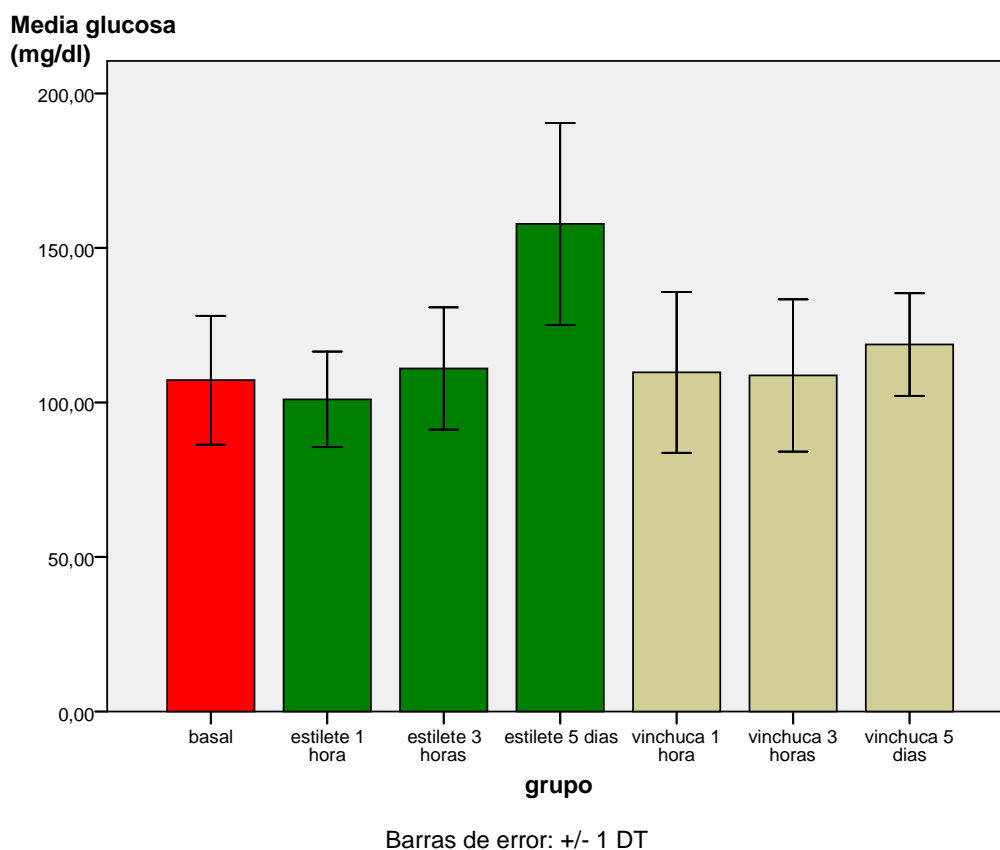


Figura 9.- Niveles promedio de Glicemia con una desviación estándar, expresado en mg/dl, obtenido para cada grupo experimental más el grupo basal.

Tabla 9.- ANOVA para glucosa entre todos los grupos participantes del experimento incluido el grupo basal.

Glucosa (mg/dl)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	9025,323	6	1504,221	2,95	0,03
Intra-grupos	13238,556	26	509,175		
Total	22263,879	32			

Tabla 10 a.- Resumen descriptivo para Glicemia en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6)

Glucosa (mg/dl)	N	Media	Desviación típica
pinchado medición 1 hora	4	101	15,47040
pinchado medición 3 horas	4	111	19,78215
pinchado x 5 días medición 1 hora	4	157,8	32,63306
Basal	9	107,2	20,83733
Total	21	116,4	29,34532

Tabla 10 b.- ANOVA para Glicemia en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6)

Glucosa (mg/dl)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	8662,65	3	2887,549	5,73	0,01
Intra-grupos	8560,31	17	503,547		
Total	17223	20			

Tabla 11 a.- Resumen descriptivo de glicemia en grupos basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

Glucosa (mg/dl)	N	Media	Desviación típica
picado medición 1 hora	4	109,75	26,03043
picado medición 3 horas	4	108,75	24,62214
picado x 5 días medición 1 hora	4	118,75	16,60070
Basal	9	107,22	20,83733
Total	21	110,19	20,65580

Tabla 11 b.- ANOVA de glicemia en grupos basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

Glucosa (mg/dl)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	381,433	3	127,144	0,265	0,850
Intra-grupos	8151,806	17	479,518		
Total	8533,238	20			

Tabla 12.- Prueba de T para muestras independientes grupos estilete y vinchuca una hora.

Glucosa (mg/dl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
Se han asumido varianzas iguales	0,44	0,53	-0,58	6	0,584	-8,75000	15,14032	-45,79702	28,29702
No se han asumido varianzas iguales			-0,58	4,884	0,589	-8,75000	15,14032	-47,94856	30,44856

Tabla 13.- Prueba de T para muestras independientes grupos estilete y vinchuca tres horas.

Glucosa (mg/dl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. De la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	1,636	0,248	0,142	6	0,891	2,25000	15,79227	-36,39230	40,89230
No se han asumido varianzas iguales			0,142	5,734	0,892	2,25000	15,79227	-36,83124	41,33124

Tabla 14.- Prueba de T para muestras independientes grupos estilete y vinchuca cinco días.

Glucosa (mg/dl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Dif de medias	Error típ. De la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	11,794	0,014	2,130	6	0,077	39,00000	18,30642	-5,79420	83,79420
No se han asumido varianzas iguales			2,130	4,455	0,093	39,00000	18,30642	-9,84260	87,84260

El nivel de glicemia se mantuvo en niveles similares en todos los grupos, menos en el de animales pinchados con estilete durante cinco días, en que se presentaron diferencias significativas, podría explicarse en cierta medida, porque este grupo fue uno de los dos que presentó los niveles más altos de cortisol, el cual desencadena los mecanismos de neoglucogénesis y la reducción de la utilización de glucosa por las células (Guyton y Hall, 2001). Por ser ésta una medición acumulativa en el tiempo, con respecto por ejemplo al grupo basal (el cual no presentó valores más altos, aunque sí lo hizo con el cortisol), induce a pensar que probablemente si la medición del grupo basal se hubiera repetido en días posteriores, los niveles de glicemia habrían sido mayores para esta supuesta medición. Sin embargo, dada la forma de toma de muestra mediante punción intracardiaca, se habrían generado sin duda alteraciones mayores que sólo la glicemia alta, ya que en dicho caso habríamos estado midiendo la respuesta inflamatoria del animal, lo cual está fuera de los objetivos de esta memoria.

Volumen Globular Aglomerado (VGA):

El porcentaje de VGA, como expresión del nivel sanguíneo de eritrocitos, fue constante y muy similar entre todos los animales analizados, dando como resultado valores promedio que bordearon el 40% en todos los grupos, y encontrándose los más altos valores en los grupos 2 y 4 (con estiletes y medición a 1 y 3 horas respectivamente) con un 43% (Figura 10).

Estos resultados no arrojaron diferencias estadísticas significativas entre uno y otro resultado al compararse todos entre sí (Tabla 15) o por separado (Tablas 16, 17, 18, 19 y 20).

Media VGA (%)

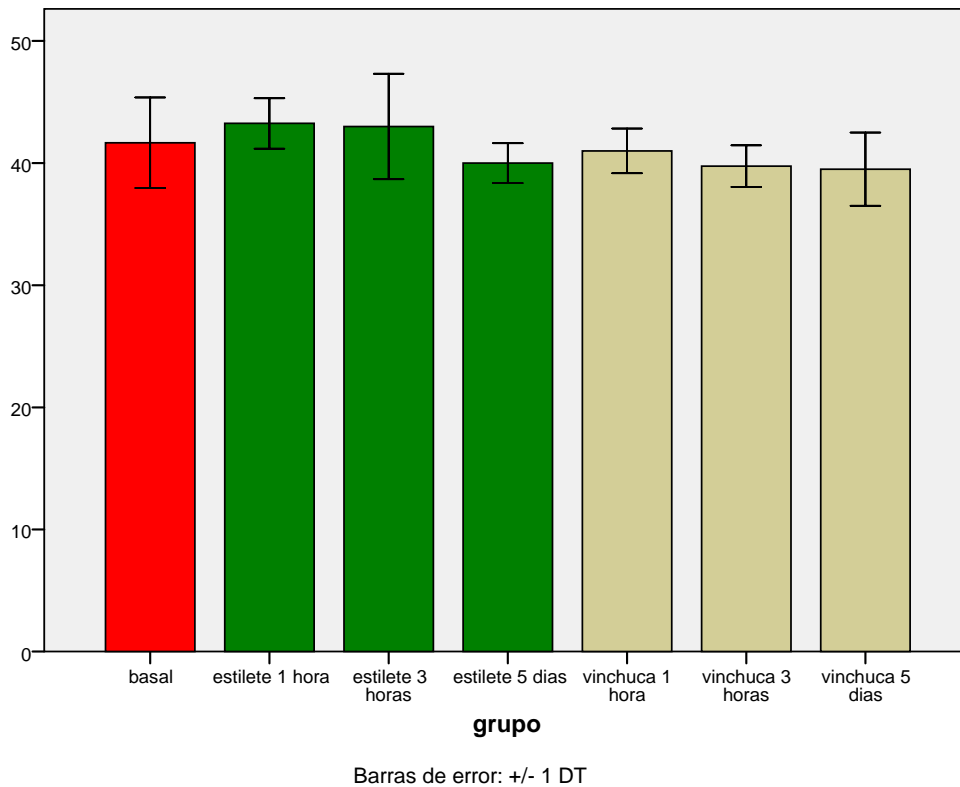


Figura 10.- Niveles promedio del porcentaje de eritrocitos en cada microlitro de sangre, con una desviación estándar, obtenidos para cada grupo experimental más el grupo basal.

Tabla 15.- ANOVA para VGA entre todos los grupos participantes del experimento, incluido el grupo basal.

VGA (%)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	57,561	6	9,593	1,07	0,404
Intra-grupos	232,500	26	8,942		
Total	290,061	32			

Tabla 16 a.- Resumen descriptivo para VGA en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6).

VGA (%)	N	Media	Desviación típica
pinchado medición 1 hora	4	43,25	2,062
pinchado medición 3 horas	4	43,00	4,320
pinchado x 5 días medición 1 hora	4	40,00	1,633
Basal	9	41,67	3,708
Total	21	41,90	3,270

Tabla 16 b.- ANOVA para VGA en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6).

VGA (%)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	27,060	3	9,020	0,821	0,500
Intra-grupos	186,750	17	10,985		
Total	213,810	20			

Tabla 17 a.- Resumen descriptivo de VGA en grupos basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

VGA (%)	N	Media	Desviación típica
picado medición 1 hora	4	41,00	1,826
picado medición 3 horas	4	39,75	1,708
picado x 5 días medición 1 hora	4	39,50	3,000
Basal	9	41,67	3,708
Total	21	40,76	2,948

Tabla 17 b.- ANOVA de VGA en grupos basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

VGA (%)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	18,060	3	6,020	0,657	0,590
Intra-grupos	155,750	17	9,162		
Total	173,810	20			

Tabla 18.- Prueba de T para muestras independientes grupos estilete y vinchuca una hora.

VGA (%)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	0,50	0,51	1,634	6	0,153	2,250	1,377	-1,119	5,619
No se han asumido varianzas iguales			1,634	5,914	0,154	2,250	1,377	-1,131	5,631

Tabla 19.- Prueba de T para muestras independientes grupos estilete y vinchuca tres horas.

VGA (%)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	1,633	0,25	1,399	6	0,211	3,250	2,323	-2,434	8,934
No se han asumido varianzas iguales			1,399	3,915	0,236	3,250	2,323	-3,255	9,755

Tabla 20.- Prueba de T para muestras independientes grupos estilete y vinchuca cinco días.

VGA (%)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	4,500	0,078	0,293	6	0,780	0,500	1,708	-3,679	4,679
No se han asumido varianzas iguales			0,293	4,634	0,782	0,500	1,708	-3,996	4,996

El volumen eritrocitario se mantuvo similar en todos los grupos del experimento, cercano al 40%. Resultado totalmente esperable, ya que si bien la respuesta a un estímulo externo mediado por catecolaminas se acompaña de una demarginación del "pool" de reserva eritrocitario, esto conlleva a un aumento del VGA (Rudolph y villouta, 2002). Esta situación no logró ser generada en los degus por la picadura del insecto, ni por las agujas de acupuntura. Por otra parte, si bien el efecto del cortisol en el aumento del VGA es conocido (Guyton y Hall, 2001), llegando en casos incluso a generar policitemia al existir aumentos bruscos de esta hormona, dicho suceso parece no ocurrir tan notablemente con grandes concentraciones de cortisol mantenidas en el tiempo como aconteció aquí.

Leucocitos:

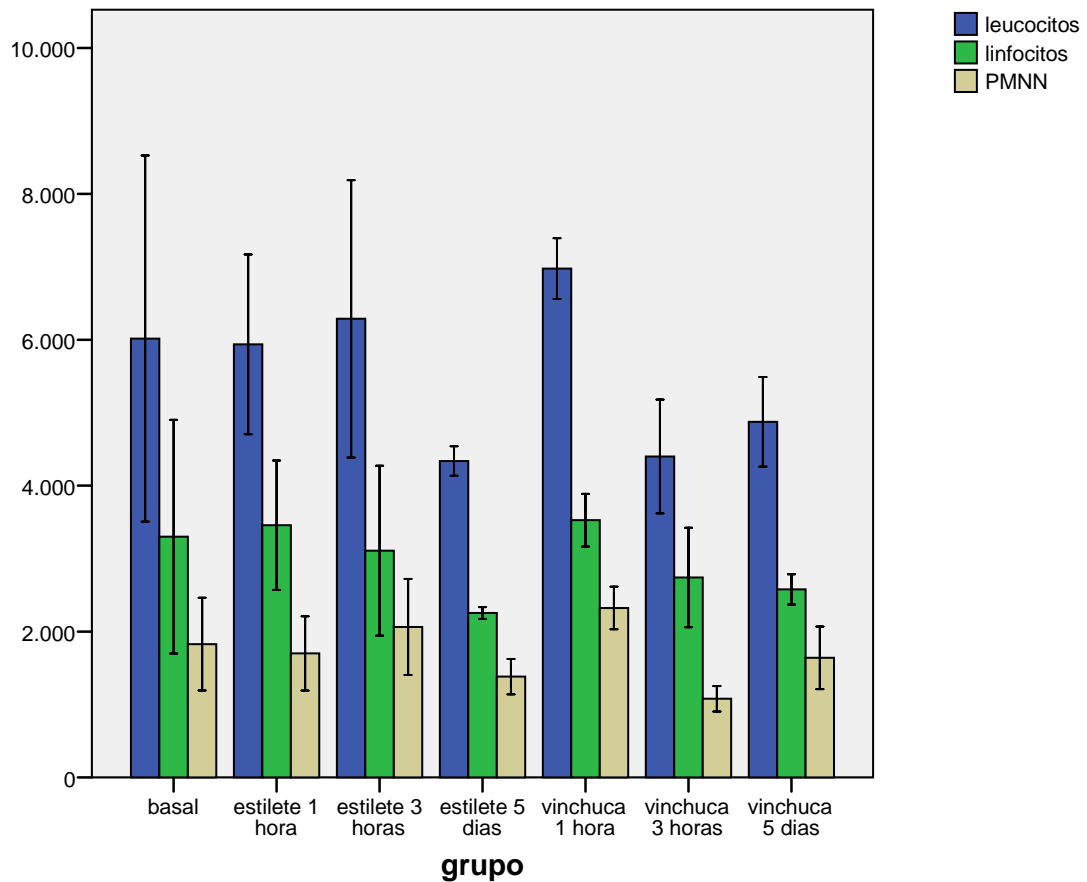
Al comparar los diversos grupos, éstos mostraron una gran variabilidad, encontrándose los valores más altos en el grupo 1, como era de esperar, al igual que los valores más bajos, obtenidos por los grupos 5 y 6. Sin embargo el grupo 3 obtuvo valores similares a los grupos 5 y 6, contrario a las expectativas, ya que se esperaba para éste un comportamiento similar al del grupo 1.

En estas mediciones no se encontraron promedios grupales fuera de los rangos normales (Tabla 2), pero sí diferencias estadísticamente significativas para esta característica (Figura 11) (Tabla 30) al comparar las medias del grupo 1 y 2. Lo mismo ocurre con los linfocitos, sin encontrar resultados estadísticamente significativos para establecer diferencias entre un grupo u otro en la mayoría de los casos, pero sí al comparar los grupos 5 y 6 (Tabla 32) (Figura 11).

En relación a los Polimorfos nucleares neutrófilos (PMNN), donde hubo un grupo (grupo 1, vinchuca 1 h.) con recuentos por sobre el rango máximo y otro (grupo 3, vinchuca 3 hrs.) con recuentos por bajo el rango mínimo (Figura 11) y al comparar estadísticamente estos resultados, se observan diferencias estadísticamente significativas al comparar todos los grupos entre sí (Tabla 27), Al cotejar los animales picados por vinchucas respecto al basal (grupos 1, 3 y 5 contra grupo 0) (Tabla 29) y al contrastar los promedios de los grupos 3 y 4 (Tabla 31).

Media Leucocitos

(células / μ l)



Barras de error: +/- 1 DT

Figura 11.- Niveles promedio, con una desviación estándar, del porcentaje de Leucocitos totales, linfocitos y polimorfos nucleares neutrófilos (PMNN) (incluye cuenta total de baciliformes - neutrófilos inmaduros-), expresados en N° de células / μ l de sangre, obtenidos para cada grupo experimental más el grupo basal.

Tabla 21.- ANOVA para Leucocitos entre todos los grupos participantes del experimento, incluido el grupo basal.

Leucocitos (Nº/ μ l)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	25698465,9	6	4283077,65	1,605	0,186
Intra-grupos	69385625	26	2668677,89		
Total	95084090,9	32			

Tabla 22 a.- Resumen descriptivo para Leucocitos totales en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6).

Leucocitos (Nº/ μ l)	N	Media	Desviación típica
pinchado medición 1 hora	4	5937,5	1233,136
pinchado medición 3 horas	4	6287,5	1901,480
pinchado x 5 días medición 1 hora	4	4337,5	201,556
Basal	9	6016,7	2509,357
Total	21	5733,3	1947,006

Tabla 22 b.- ANOVA para Leucocitos totales en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6).

Leucocitos (Nº/ μ l)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	9911041,7	3	3303680,6	0,852	0,485
Intra-grupos	65905625	17	3876801,5		
Total	75816666,7	20			

Tabla 23 a.- Resumen descriptivo de Leucocitos totales en grupo s basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

Leucocitos (Nº/ μ l)	N	Media	Desviación típica
picado medición 1 hora	4	6975	417,333
picado medición 3 horas	4	4400	779,957
picado x 5 días medición 1 hora	4	4875	614,410
Basal	9	6016,7	2509,357
Total	21	5673,8	1880,533

Tabla 23 b.- ANOVA de Leucocitos totales en grupo s basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

Leucocitos (Nº/ μ l)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	16873095,2	3	5624365,1	1,775	0,190
Intra-grupos	53855000	17	3167941,2		
Total	70728095,2	20			

Tabla 24.- ANOVA para Linfocitos entre todos los grupos participantes del experimento incluido el grupo basal.

Linfocitos (Nº/ μ l)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	5961967,76	6	993661,3	0,894	0,514
Intra-grupos	28887666,3	26	1111064,1		
Total	34849634,1	32			

Tabla 25 a.- Resumen descriptivo para Linfocitos en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6).

Linfocitos (Nº/ μ l)	N	Media	Desviación típica
pinchado medición 1 hora	4	3458	886,915
pinchado medición 3 horas	4	3109	1163,776
pinchado x 5 días medición 1 hora	4	2254,3	81,541
Basal	9	3300,8	1601,876
Total	21	3094,9	1239,100

Tabla 25 b.- ANOVA para Linfocitos en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6).

Linfocitos (Nº/ μ l)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3736402,3	3	1245467,4	0,785	0,519
Intra-grupos	26970982,3	17	1586528,4		
Total	30707384,6	20			

Tabla 26 a.- Resumen descriptivo de Linfocitos en grupos basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

Linfocitos (Nº/µl)	N	Media	Desviación típica
picado medición 1 hora	4	3527	360,979
picado medición 3 horas	4	2740	682,220
picado x 5 días medición 1 hora	4	2578	207,761
Basal	9	3300,8	1601,876
Total	21	3099,4	1121,276

Tabla 26 b.- ANOVA de Linfocitos en grupos basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

Linfocitos (Nº/µl)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2700449,4	3	900149,8	0,682	0,575
Intra-grupos	22444743,6	17	1320279		
Total	25145193	20			

Tabla 27.- ANOVA para Neutrófilos entre todos los grupos participantes del experimento incluido el grupo basal.

PMNN (Nº/µl)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	6461230,41	6	1076871,73	4,075	0,005
Intra-grupos	6871008,14	26	264269,544		
Total	13332238,5	32			

Tabla 28 a.- Resumen descriptivo para PMNN en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6).

PMNN (Nº/µl)	N	Media	Desviación típica
pinchado medición 1 hora	4	2075,5	486,000
pinchado medición 3 horas	4	2440,5	495,308
pinchado x 5 días medición 1 hora	4	1519,8	119,664
Basal	9	2182,9	732,417
Total	21	2085,2	618,432

Tabla 28 b.- ANOVA para PMNN en grupos basal (0) y con estilete (2, 4 y 6).

PMNN (Nº/ μ l)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1870151,6	3	623383,9	1,834	0,179
Intra-grupos	5779007,6	17	339941,6		
Total	7649159,2	20			

Tabla 29 a.- Resumen descriptivo de PMNN en grupos basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

PMNN (Nº/ μ l)	N	Media	Desviación típica
picado medición 1 hora	4	2830,5	291,649
picado medición 3 horas	4	1330,8	218,768
picado x 5 días medición 1 hora	4	1921,8	480,709
Basal	9	2182,9	732,417
Total	21	2094,2	709,690

Tabla 29 b.- ANOVA de PMNN en grupos basal (0) y con picadura de vinchuca (1, 3 y 5).

PMNN (Nº/µl)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4689721,9	3	1563240,6	4,936	0,012
Intra-grupos	5383473,4	17	316674,91		
Total	10073195,2	20			

Tabla 30 a.- Prueba de T para muestras independientes conteo de Leucocitos, de grupos estilete y vinchuca una hora.

Leucoci (Nº/µl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
Se han asumido varianzas iguales	15,587	0,01	-1,594	6	0,162	-1037,500	650,921	-2630,246	555,246
No se han asumido varianzas iguales			-1,594	3,68	0,192	-1037,500	650,921	-2908,817	833,817

Tabla 30 b.- Prueba de T para muestras independientes conteo de Linfocitos, de grupos estilete y vinchuca una hora.

Linfocitos (Nº/µl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	1,808	0,23	-0,14	6	0,890	-69,000	478,781	-1240,534	1102,534
No se han asumido varianzas iguales			-0,14	3,967	0,892	-69,000	478,781	-1402,631	1264,631

Tabla 30 c.- Prueba de T para muestras independientes conteo de PMNN, de grupos estilete y vinchuca una hora.

PMNN (Nº/µl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	1,094	,336	-2,664	6	0,037	-755,000	283,397	-1448,447	-61,553
No se han asumido varianzas iguales			-2,664	4,913	0,045	-755,000	283,397	-1487,406	-22,594

Tabla 31 a.- Prueba de T para muestras independientes conteo de Leucocitos, de grupos estilete y vinchuca tres horas.

Leucocit (N°/μl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilat)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	1,675	0,24	1,837	6	0,116	1887,500	1027,614	-626,980	4401,98
No se han asumido varianzas iguales			1,837	3,982	0,140	1887,500	1027,614	-970,787	4745,79

Tabla 31 b.- Prueba de T para muestras independientes conteo de Linfocitos, de grupos estilete y vinchuca tres horas.

Linfocitos (N°/μl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	0,50	0,51	0,55	6	0,604	369,000	674,499	-1281,441	2019,441
No se han asumido varianzas iguales			0,55	4,844	0,609	369,000	674,499	-1381,775	2119,775

Tabla 31 b.- Prueba de T para muestras independientes conteo de PMNN, de grupos estilete y vinchuca tres horas.

PMNN (N°/μl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	15,12	0,01	4,099	6	0,006	1109,750	270,735	447,286	1772,214
No se han asumido varianzas iguales			4,099	4,128	0,014	1109,750	270,735	367,145	1852,355

Tabla 32 a.- Prueba de T para muestras independientes conteo de Leucocitos, de grupos estilete y vinchuca cinco días.

Leucocit (N°/μl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	2,369	0,18	-1,662	6	0,147	-537,500	323,313	-1328,618	253,62
No se han asumido varianzas iguales			-1,662	3,638	0,179	-537,500	323,313	-1471,474	396,47

Tabla 32 b.- Prueba de T para muestras independientes conteo de Linfocitos, de grupos estilete y vinchuca cinco días.

Linfocitos (Nº/µl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	9,551	0,02	-2,901	6	0,027	-323,750	111,595	-596,813	-50,687
No se han asumido varianzas iguales			-2,901	3,903	0,045	-323,750	111,595	-636,654	-10,846

Tabla 32 c.- Prueba de T para muestras independientes conteo de PMNN, de grupos estilete y vinchuca cinco días.

PMNN (Nº/µl)	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Error típ. de la dif.	95% Intervalo de confianza para la dif.	
Se han asumido varianzas iguales	2,581	0,16	-1,623	6	0,156	-402,000	247,690	-1008,075	204,08
No se han asumido varianzas iguales			-1,623	3,370	0,193	-402,000	247,690	-1143,450	339,45

Si bien las variaciones leucocitarias parecen grandes e importantes en el gráfico (Figura 11), podemos observar que la mayoría de los grupos entran dentro de este margen (8526-3507), al contrastar estos resultados con los márgenes de normalidad establecidos por el promedio basal y su desviación estándar, quedando fuera de ellos sólo dos grupos en sus recuentos de PMNN, pero con valores muy bordeantes a los establecidos por el margen y que no presentan diferencias estadísticas significativas respecto al resto de los grupos. A pesar de esto, podemos constatar que los grupos de más bajo recuento leucocitario, son el grupo de picadura de vinchuca con medición a las tres horas (Grupo 3) y ambos grupos de experimentación durante cinco días (Grupos 5 y 6), en los cuales es posible observar que dicha disminución obedece principalmente a una baja en el número de linfocitos, principal grupo celular leucocitario en los degus. Esta variación es atribuible al efecto linfólítico e inmunodepresor que genera el cortisol en los organismos animales.

Conclusiones.

- La picadura de vinchuca no genera variaciones de glicemia, hematológicas (en VGA y serie blanca), notoriamente cuantificables y/o diferenciables para el animal, por lo que no se traducen en una alteración a la normal homeostasis del individuo. Incluso en aquellos animales con picaduras reiteradas en el tiempo.

- El principal factor estresante para los individuos durante el experimento, fue el ambiental, por sobre las picaduras de los insectos, siendo éstas imperceptibles a la medición de cortisol

- Los linfocitos son el principal grupo leucocitario del degu, siendo en todos los casos muy superior al nivel de polimorfos nucleares neutrófilos encontrados.

Bibliografía.

- Anón.** 1984. Guide to the care and use of experimental animals. Canadian Council on Animal Care, Ottawa, Canada. vol 1 120 Pp.
- Acuña, M.** 2001. Efecto del hospedero sobre la dinámica poblacional de *Mepraia spinolai* (Hemiptera: Reduviidae). Memoria Título de Médico Veterinario. Santiago, Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. 67 Pp.
- Bacigalupo, A.; Segura, J.; Garcia, A.; Hidalgo, J.; Galuppo, S.; Cattán P.;** 2006. Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile. *Rev. méd. Chile*, vol.134, no.10, p.1230-1236. ISSN 0034-9887.
- Botto, C.; Sepúlveda, M.; Vidal, M.; Acuña, M.; Ortiz, S.; Solari, A.,** 2008. Preliminary report on *Tripanosoma cruzi* infection in the sylvatic kissing bug *Mepraia gajardoi* from the Southern Pacific Ocean coast. *Acta Tropica*. 105: 166 – 169. ISI.
- Canals, M.; Solis, R.; Tapia, C.; Ehrenfeld, M.; Cattán, P.** 1999. Comparison of some behavioural and physiological feeding parameters of *Triatoma infestans* klug, 1834 and *Mepraia spinolai* Porter, 1934, Vectors of Chagas disease in Chile. *Mem inst. Oswaldo Cruz*, Rio Janeiro, 94: 687-692.
- Canals, M. Cruzat, L.; Molina, M.; Ferreira, A.; Cattán, P.** 2001. Blood Host Sources of *Mepraia spinolai* (Heteroptera: Reduviidae), Wild Vector of Chagas Disease in Chile. *J. Med. Entomol.* 38(2):303-307.
- Cruzat, M.L.** 1997. Perfil alimentario de *T. spinolai* en el peridomicilio de una zona de riesgo epidemiológico perteneciente a la Región Metropolitana. Memoria de título de Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. 65 Pp.
- Frias, D.; Henry, A.A. ; Gonzalez, C. R.** 1998. *Mepraia gajardoi*: a new species of triatominae (Hemiptera: Reduviidae) from Chile and its comparison with *Mepraia spinolai*. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 71: 177- 188.

- Guajardo, D.** 2002. Una epidemia silenciosa: la enfermedad de Chagas en Chile. (en línea) <http://www.zoonico.cl/chagas> . Consultada: 17-08-2004.
- Guyton, A.; Hall, J.** 1996. Tratado de Fisiología Médica. 9ª edición, Editorial McGraw-Hill-Interamericana, Madrid, España, Pp. 1052-1057.
- Kirchhoff, L;** 2002. Infecciones por protozoos, capítulo 216. **In:** Braunwald E.; Fauci A.; Kasper D.; Hauser S.; Longo D.; Jameson L. Harrison. Principios de medicina interna. 15ª edición, Editorial Mc Graw Hill Interamericana, Madrid, España, Pp. 1435, 1436.
- Mohawk, J. ; Cashen, C. ; Lee, T.M.** 2005. Inhibiting cortisol response accelerates recovery from a photic phase shift. *AJP Reg. Int. Comp. Physiol.* 288: 221-228.
- Morales, K.** 2003 Indicadores de estrés. (en línea) http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/etologia/65-indicadores_estres.htm. Consultada: 22-09-2004.
- Mujica, L.; Haydee, G.** 2003. La enfermedad de Chagas (en línea) <http://monografias.com>. Consultada: 28-09-2004.
- Muñoz, A.; Yañez, J.** 2000. Mamíferos de Chile. CEA ediciones. Valdivia. Chile. 463 Pp.
- Olea, A.** 2003. Situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Chile (en línea). www.minsal.cl. Consultada el 03-09-2004.
- Quezada, A.** 1998. Hipersensibilidad, cap. 22. **In:** Palomo, I; Ferreira, A; Sepúlveda, C; Roseblatt, M; Vergara, U. Fundamentos de Inmunología. Ed. Universidad de Talca. Pp. 455-466.
- Rengifo, A.** 2000. Preferencias alimentarias específicas de *Mepraia spinolai* por vertebrados frecuentes en su hábitat. Memoria Título de Médico Veterinario. Santiago, Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. 69 Pp.
- Rudolph, W.; Villouta, G.** 2002. Manual de hematología clínica veterinaria. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Departamento de Patología Animal. Pp. 38-44.

- Salazar, J.; Olguin, F.; Olivera, E.** 2006 Enfermedad de Chagas crónica en Chile. Experiencia de intervención educativa. *Parasitol. latinoam.*, vol.61, no.1-2, Pp.94-97. ISSN 0717-7712.
- Tate, B.; Richardson, G.** 2002 A Longitudinal Studies Of The Circadian Rhythm Of A Juvenile Diurnal Mammal. (en línea) <http://www.websciences.org/adolescentsleep/tate.htm> consultada: 26-08-2004.
- Trucco, M.** 2002. Estrés y trastornos mentales: aspectos neurobiológicos y psicosociales. *Rev chil. neuro-psiquiatr.* 40 (2):8-19.
- Zapata, W.; Fajardo, H.** 2000. Manual de química sanguínea veterinaria. (en línea) <http://www.monografias.com/trabajos/quimsangvet/quimsangvet.shtml> consultada: 22-08-2004.

Anexos

Anexo 1.- Valores individuales para cada variable del estudio

Nº degu	VGA	Erit	leuc	basof	eos	bacilic	PMNN	linf	monoc	Rel. neut/linf	glucosa	cort
control												
G 0.1	40	1894000	5650	57	113	396	1921	3051	113	0,63	88	2659
G 0.2	35	1024000	9800	98	196	588	2450	6076	392	0,40	119	4341
G 0.3	46	1686000	4350	0	131	305	1610	2306	0	0,70	75	2874
G 0.5	42	1512000	3950	79	40	237	1106	2133	356	0,52	128	3111
G 0.6	45	1348000	10400	416	312	520	3120	5408	624	0,58	144	2942
G 0.7	42	1400000	5050	51	51	152	1919	2475	404	0,78	100	5037
G 0.8	38	1628000	3450	0	35	345	1139	1760	173	0,65	108	2638
G 0.9	41	1450000	6750	68	135	270	1620	4455	203	0,36	98	2846
G 0.10	46	1906000	4750	143	190	380	1568	2043	428	0,77	105	3382
Prom. grupo	42	1538667	6017	101	133	355	1828	3301	299	0,60	107	3314,4
pinchados con estilete medición 1 hora												
G 1.1	42	1500000	5250	0	0	263	1155	3623	210	0,32	123	1396
G 1.2	45	1674000	4550	0	182	546	1456	2184	182	0,67	93	3198
G 1.3	41	1486000	6900	138	138	621	1863	3795	345	0,49	88	2340
G 1.4	45	1576000	7050	0	141	71	2327	4230	282	0,55	100	3561
Prom. grupo	43	1559000	5938	35	115	375	1700	3458	255	0,51	101	2624
pinchados con estilete medición 3 horas												
G 2.1	37	1722000	6150	62	185	185	2768	2829	123	0,98	107	4413
G 2.2	43	1912000	8950	179	716	448	2327	4654	627	0,50	85	2638
G 2.3	47	1494000	4500	180	360	765	1215	1845	135	0,66	130	966
G 2.4	45	1804000	5550	56	222	111	1943	3108	111	0,63	122	2497
Prom. grupo	43	1733000	6288	119	371	377	2063	3109	249	0,69	111	2629
picadura vinchuca medición 1 hora												
G 3.1	43	1724000	7200	144	144	432	2592	3672	216	0,71	144	3012
G 3.2	40	1488000	7350	147	221	735	2058	3969	221	0,52	81	2166
G 3.3	39	1430000	6950	209	348	348	2085	3267	695	0,64	104	1644
G 3.4	42	1680000	6400	0	64	512	2560	3200	64	0,80	110	3259
Prom. grupo	41	1580500	6975	125	194	507	2324	3527	299	0,62	110	2520
picadura vinchuca medición 3 horas												
G 4.1	38	1378000	3300	66	165	198	858	1914	99	0,45	89	2858
G 4.2	42	1676000	4450	134	178	178	1246	2626	89	0,47	86	2925

G 4.3	40	1512000	4750	0	48	380	1188	2850	285	0,42	128	2589
G 4.4	39	1422000	5100	51	102	255	1020	3570	102	0,29	132	2535
Prom. grupo	40	1497000	4400	63	123	253	1078	2740	144	0,41	109	2727
pinchado con estilete por 5 días medición 1 hora												
G 5.1	38	1344000	4450	134	267	89	1558	2225	178	0,70	185	3666
G 5.2	42	1668000	4250	213	170	0	1445	2253	170	0,64	129	2982
G 5.3	40	1532000	4550	91	91	91	1502	2366	410	0,63	187	3275
G 5.4	40	1486000	4100	82	205	369	1025	2173	246	0,47	130	2979
Prom. grupo	40	1507500	4338	130	183	137	1382	2254	251	0,61	158	3226
picadura vinchuca por 5 días medición 1 hora												
G 6.1	42	1860000	4850	49	291	340	1552	2425	194	0,64	123	3432
G 6.2	42	1784000	4400	44	132	220	1232	2684	88	0,46	116	2641
G 6.3	36	1320000	4500	45	180	225	1530	2385	135	0,64	138	2108
G 6.4	38	1476000	5750	58	173	345	2243	2818	115	0,80	98	2181
Prom. grupo	40	1610000	4875	49	194	282	1639	2578	133	0,63	119	2590

VGA= Porcentaje de Volumen Globular Aglomerado de los eritrocitos.

Erit= Cuenta de eritrocitos totales.

Leuc= cuenta de leucocitos totales.

Basof= Cuenta de basófilos totales.

Eos= Cuenta de eosinófilos totales.

Basilic= Cuenta de Baciliformes totales.

PMNN= Cuenta de polimorfos nucleares neutrófilos totales.

Linf= Cuenta de linfocitos totales.

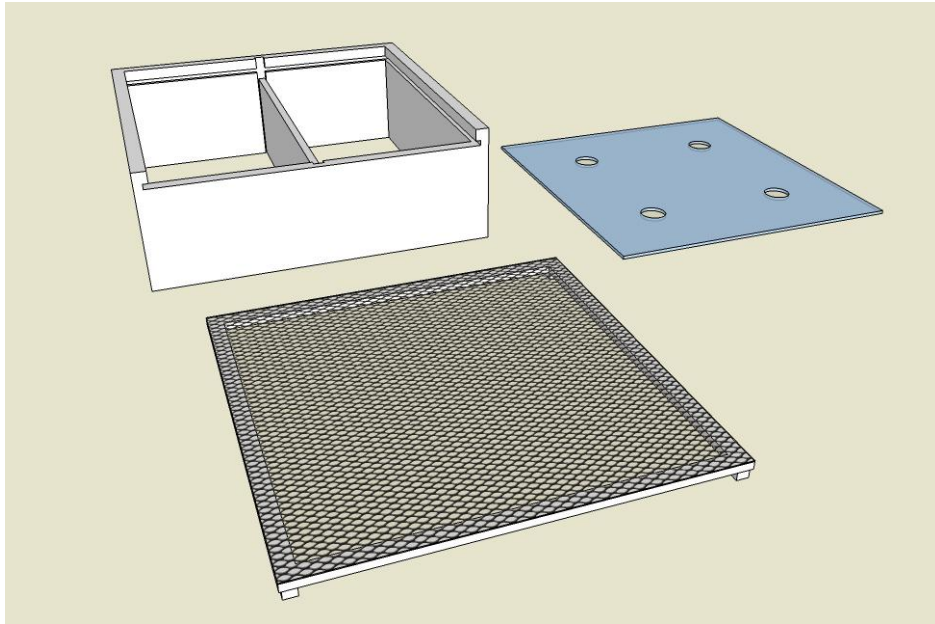
Monoc= Cuenta de monocitos totales.

Rel neut/linf= relación neutrófilo-linfocito

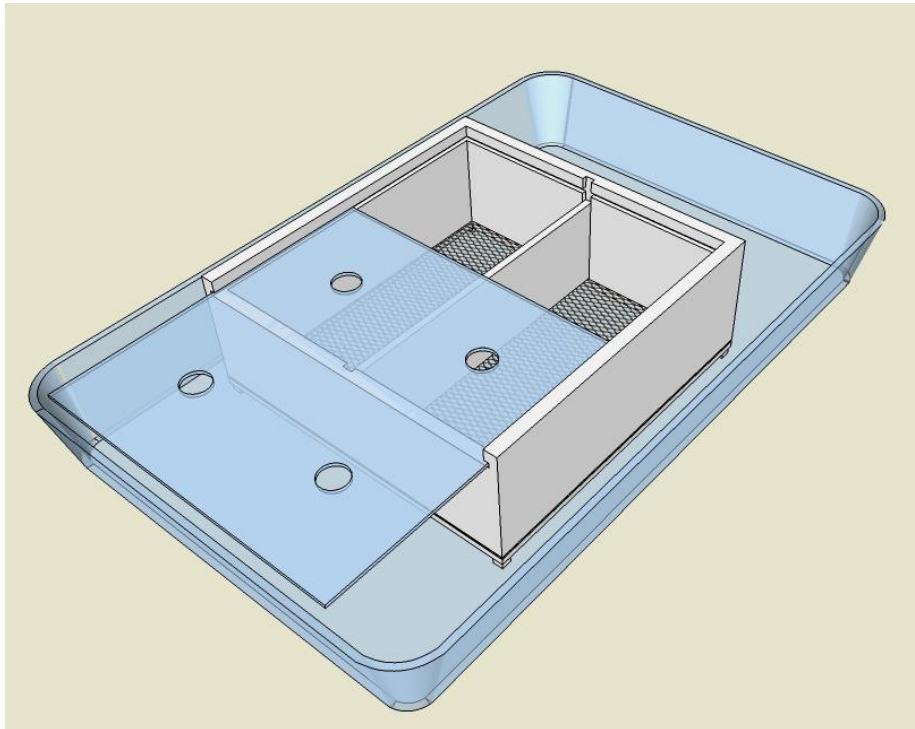
Glucosa= glucosa sanguínea expresada en mg/dl

Cort= cortisol sanguíneo expresado en nmol/L

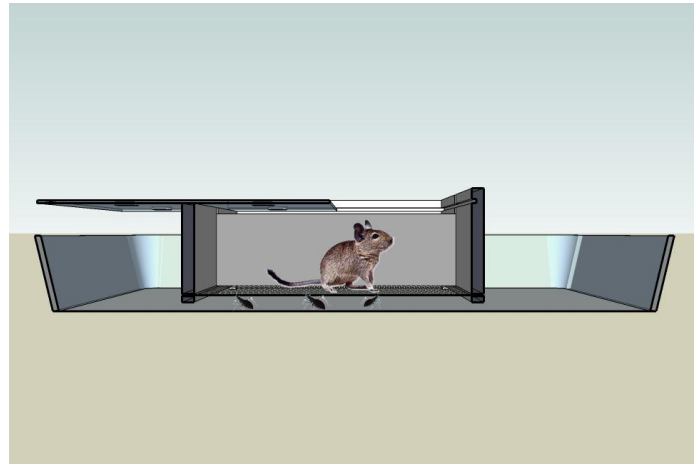
Anexo 2.- Esquema de la caja de picadura desarmada, en la imagen se aprecia el suelo de malla para las picaduras de vinchuca.



Anexo 3.- Esquema de la caja de picadura sobre la bandeja para vinchucas.



Anexo 4.- Esquema del proceso de picadura, con un ejemplar de *O. degus* en el interior de la caja y tres vinchucas intentando picar desde debajo de la caja, en la bandeja de vidrio.



Anexo 5.- La imagen muestra el sistema de aire para anestesiarse a los roedores al interior de la caja de picadura sin sacarlo de esta.

