

Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile

Antonella Bacigalupo B^{1a}, José A. Segura M^{2b},
Alejandro García C^{3c}, Javier Hidalgo C^{3d},
Stephania Galuppo G^{1a}, Pedro E. Cattán^{1e}.

First finding of Chagas disease vectors associated with wild bushes in the Metropolitan Region of Chile

Background: Insects of the subfamily triatominae are the biological vectors of *Trypanosoma cruzi*, the causal agent of Chagas disease. **Aim:** To search for wild colonies of triatomines in the Metropolitan Region of Chile. **Material and Methods:** Ad hoc traps were placed in two endemic zones of the Metropolitan Region of Chile, during 30 nights. The dejections of 16 *T infestans* and 43 *M spinolai* specimens were examined under the microscope, searching for live metacyclic trypomastigotes. A polymerase chain reaction (PCR) was performed in macerates of all insects looking for *T cruzi* DNA. **Results:** A total of 269 bugs were captured. Forty four were *Triatoma infestans* and 225 were *Mepraia spinolai*. They were not syntopic, since *T infestans* was restricted to a Southern zone (Calera de Tango) while *M spinolai* was only found in the Northern zone (Til-Til). Both species were found associated to terrestrial bromeliads (*Puya* sp) but *M spinolai* was also detected in stony grounds. Microscopic examination of dejections yielded a trypano-triatomine index of 56.3 and 32.6 for *T infestans* and *M spinolai*, respectively. PCR detected *T cruzi* DNA in 41 and 43% of *T infestans* and *M spinolai* specimens, respectively. **Conclusions:** The finding of *T infestans* in a wild habitat is noticeable. This is the first report of such phenomenon in Chile. The high infection rates with *T cruzi*, explains the maintenance of Chagas disease wild cycle in Chile (Rev Méd Chile 2006; 134: 1230- 6).

(Key words: Chagas disease; *Triatoma*; *Trypanosoma cruzi*)

Recibido el 17 de noviembre, 2005. Aceptado el 5 de abril, 2006.

Financiamiento: Secretaría Regional Ministerial de Salud Región Metropolitana; Unidad Docente de Parasitología, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile.

¹Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. ²Programa de Zoonosis y Vectores, Departamento de Salud Pública, Secretaría Regional Ministerial de Salud, Región Metropolitana. ³Unidad Docente de Parasitología, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

^aLicenciado en Ciencias Veterinarias y Pecuarias

^bMédico Veterinario

^cTecnólogo Médico, Magíster en Parasitología

^dLicenciado en Tecnología Médica

^eMédico Veterinario, Doctor en Ciencias

Correspondencia a: Pedro E. Cattán. Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Casilla 2, Correo 15, Santiago, Chile. Teléfono: 9785629. Fax: 9785526. E mail: pcattan@uchile.cl

Los insectos de la subfamilia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) se caracterizan por su hábito hematófago, y se destacan por su capacidad para actuar como vectores biológicos de *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas. Están muy difundidos en América¹.

En general, las especies de triatomos tienen tendencia a ocupar una zona geográfica discreta, y ordinariamente las discontinuidades en su distribución se pueden atribuir a la dispersión pasiva en asociación con un hospedero vertebrado migratorio. La dispersión activa de los triatomos ocurre por desplazamiento terrestre en todos los estados ninfales e imagos y también por el vuelo, en el caso de los adultos. La mayoría de las especies de triatomos ocupan hábitats principalmente selváticos, en asociación estrecha con sus hospederos vertebrados. Dichos hábitats incluyen diferentes tipos de nidos, madrigueras, pilas de rocas, árboles huecos, cuevas², troncos y hojas de árboles, especialmente palmeras, plantas, etcétera³. Algunas especies también invaden y colonizan los hábitats peridomésticos (gallineros, corrales) y otras, como *Triatoma infestans*, han realizado la transición para colonizar las viviendas humanas, especialmente habitaciones rurales típicas de las zonas más pobres de Latinoamérica².

Los triatomos *T. infestans* y *Mepraia spinolai*, vectores de la enfermedad de Chagas en Chile, se distribuyen de forma simpátrica⁴. *T. infestans* está asociada a viviendas rurales, particularmente aquellas con paredes de barro y paja, pero se ha encontrado eventualmente en condiciones silvestres, en intersticios de paredes de piedras, entre o bajo rocas, asociada a árboles, bajo la corteza; en guaridas, madrigueras o nidos de varios animales, como marsupiales, roedores o aves. Por su parte, *M. spinolai*, que es una especie caracterizada como silvestre, 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 domésticos⁵. Existen algunos antecedentes que sindicaron a esta especie como colonizadora de viviendas rurales⁶.

Para detectar a estos insectos en su hábitat natural se han utilizado numerosas técnicas. Recientemente, se han usado trampas provistas de elementos que les son atractivos, como por

ejemplo, cebos que emiten dióxido de carbono^{7,8}. Se ha demostrado que la presencia de este gas en el aire, cuando se presenta en concentraciones entre 300 y 400 ppm por sobre la ambiental, causa que estos insectos se orienten hacia su fuente de origen⁹.

Gracias al programa de vigilancia epidemiológica vigente, se detectó en viviendas de comunas rurales de la Región Metropolitana, la presencia reiterada de ejemplares adultos de *T. infestans*, lo que sugería la eventual existencia de focos externos a los domicilios, dada la ausencia completa de estados ninfales. Considerando estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue explorar los sectores silvestres aledaños en búsqueda del origen de estos vectores, y determinar su eventual infección con *T. cruzi*.

MATERIAL Y MÉTODOS

En sectores suburbanos de las comunas de Calera de Tango y Til-Til, de la Región Metropolitana, se realizó un muestreo para capturar triatomos silvestres entre noviembre de 2003 y marzo de 2004, durante 30 noches. Se dispusieron 30 trampas *ad hoc* por noche y por sector, cebadas con hielo seco o con levadura, agua y azúcar para producir emisión de CO₂. Cada trampa se adosó a un matorral o se introdujo en un pedregal, revisándose a la mañana siguiente. Los insectos obtenidos fueron transportados en frascos al laboratorio, donde se realizó la determinación definitiva de especie y estado de desarrollo, utilizando las claves pertinentes^{5,10,11}. Cada vinchuca se mantuvo en el laboratorio en un recipiente individual hasta su posterior revisión en búsqueda de *T. cruzi*.

Periódicamente se alimentó a los insectos con conejo (*Oryctolagus cuniculus*), para obtener sus deyecciones (espontáneas), las que fueron colocadas enseguida entre un porta y un cubreobjeto y observadas mediante microscopio (100 X) en busca de trypomastigotes metacíclicos vivos, previa dilución con 15 µl de suero fisiológico. Todo sospechoso positivo se corroboró bajo aumento 400 X. Se dio por negativa aquella muestra en la que, luego de observar por lo menos 10 campos, no presentó flagelados en movimiento.

Finalmente, cada ejemplar fue macerado en forma mecánica en 500 µl de Guanidina-HCl 6M y

EDTA 200 mM, con una bagueta de vidrio y 20 µl de proteinasa K. Todas las muestras se dejaron por 3 h a 56°C. Luego se procedió a la extracción del ADN por medio del Mini Kit QIAamp (Lab. QIAGEN, Miami-USA). Se utilizaron como controles positivos de extracción, muestras correspondientes a la cepa Tulahuén, CL-Brener y a muestras de pacientes chagásicos determinadas como positivas con anterioridad en el laboratorio. Como control negativo se utilizó agua bidestilada estéril.

La PCR se realizó con 20 µl del ADN extraído en una solución de buffer Tris-HCl 200 mM pH 8,4 y KCl 500 mM; dATP, dCTP, dGTP y dTTP 0,2 mM; MgCl₂ 1,5 mM; Taq ADN Polimerasa (2,5 U/µl); 0,5 µM de cada oligonucleótido: 121 (5'-AAA TAA TGT ACG GGG GAG ATG CAT GA-3') y 122 (5'-GGT TCG ATT GGG GTT GGT GTA ATA TA-3') y H₂O bidestilada c.s.p. 100 µl. Como control positivo de amplificación se utilizó ADN obtenido de muestras previamente amplificadas de la cepa Tulahuén y como control negativo agua bidestilada estéril. La amplificación fue realizada en un termociclador Minicicler (Lab. M.J. Research, USA), 2 ciclos de 98°C/1 min, 64°C/2 min, 33 ciclos de 94°C/1 min, 64°C/1 min y un ciclo final de 74°C/10 min. Finalmente, 15 µl de los productos amplificados fueron detectados en gel de agarosa al 1% con bromuro de etidio (10 mg/ml). Además, se utilizó un marcador de peso molecular de 1 kb (Invitrogen, Inc. USA). Al transiluminar el gel con luz ultravioleta, se determinó como positiva aquella muestra que evidenció la presencia de una banda de 330 pb, correspondiente al ADN del kinetoplasto de *T cruzi*.

Se revisó la relación entre estado ninfal y positividad a *T cruzi* utilizando la prueba de X² (Chi cuadrado) por medio de tablas de contingencia para cada especie, con el programa estadístico InfoStat.

Se comparó el vector etéreo estable para cada especie^{12,13} con las proporciones encontradas para cada estado de madurez por especie, sin incluir los huevos, con la prueba de X² usando el mismo programa estadístico.

RESULTADOS

Sólo en 12 noches (40%) hubo capturas de los insectos. Se capturó un total de 269 ejemplares, de los cuales 44 fueron de la especie *T infestans* y se encontraron asociados a bromeliáceas terrestres (*Puya sp*)¹⁴ en Calera de Tango y 225 fueron *M spinolai*, los que fueron encontrados tanto en chaguales¹⁴ como en pedregales de Til-Til¹⁵.

De los 44 ejemplares de *T infestans*, sólo uno era adulto (2,2%), mientras que la mayoría fueron estados I y II (57%). En el caso de *M spinolai* se encontraron 7 adultos (3%), teniendo también mayor representación los estados I y II dentro del total (50%) (Tabla 1).

Se revisaron las deyecciones de 16 ejemplares de *T infestans* y 43 de *M spinolai* bajo microscopio, con las que se construyó un índice trypanotriatomino. Los resultados mostraron que *T infestans* exhibían un mayor índice (56,3%) que *M spinolai* (32,56%). Se calculó el mismo índice sobre los resultados de la PCR aplicada a todos los insectos capturados, el que demostró que 41% y

Tabla 1. Distribución etérea de los ejemplares de *Triatoma infestans* y *Mepraia spinolai* capturados en sectores de Calera de Tango y Til-Til de la Región Metropolitana de Chile. 2004

Estado de madurez	<i>Triatoma infestans</i>		<i>Mepraia spinolai</i>	
	n	%	n	%
Adulto	1	2,3	7	3,1
V	7	15,9	27	12,0
IV	6	13,6	49	21,8
III	5	11,4	29	12,9
I y II	25	56,8	113	50,2
Total	44	100,0	225	100,0

Tabla 2. Índice trypano-triatomino medido por PCR, según el estado de madurez de los ejemplares de *Triatoma infestans* y *Mepraia spinolai*, capturados en sectores de Calera de Tango y Til-Til de la Región Metropolitana de Chile. 2004

Estado de madurez	<i>Triatoma infestans</i>			<i>Mepraia spinolai</i>		
	n	positivas	%	n	positivas	%
Adulto	1	1	100,0	7	5	71,4
V	7	5	71,4	27	10	37,0
IV	6	3	50,0	49	19	38,8
III	5	2	40,0	29	17	58,6
I y II	25	7	28,0	113	45	38,8
Total	44	18	40,9	225	96	42,7

43% de los ejemplares de *T infestans* y de *M spinolai*, respectivamente, eran positivos a *T cruzi*. El análisis mostró diversas proporciones de infección según estado de madurez (Tabla 2).

La relación entre estado de madurez y positividad a *T cruzi* para ambas especies no fue significativa. Los valores de X^2 fueron 5,78 ($p=0,1230$) para *T infestans* y 3,72 ($p=0,2929$) para *M spinolai*.

La diferencia entre la proporción de los estados de madurez encontrados para cada especie respecto a su vector etéreo estable fue altamente significativa. Para *T infestans* el resultado fue $X^2 = 1874,043$; gl 4, $p < 0,001$ y para *M spinolai* el resultado fue $X^2 = 42,713$; gl 4, $p < 0,001$.

DISCUSIÓN

En primer lugar debemos destacar el hallazgo de *T infestans* fuera de los ambientes domiciliario y peridomiciliario, constituyéndose éste en el primer reporte de esta situación en Chile, lo que hace necesario un replanteamiento de los planes de control de este vector. Al respecto, el método de postura de trampas con elementos que liberen CO_2 , ha probado ser efectivo en terreno, tanto para la captura de *T infestans* como de *M spinolai*. Por medio de esta metodología se debe intentar localizar la fuente de otras infestaciones domiciliarias dentro la región endémica de Chile.

Usando esta metodología, se reporta para ambas especies un nuevo hábitat, las bromeliáceas terrestres (*Puya sp*), las cuales han sido

descritas como hábitat para otras especies de triatomino; sin embargo, es interesante hacer notar que en esta ocasión se trata de plantas vivas y no secas, como en el caso reportado por el grupo de Vezzani et al, en Argentina¹⁶. En este sentido, se hace necesario investigar a las especies de mamíferos y aves que utilicen estas bromeliáceas como madrigueras o nidos, ya que serían la principal fuente de alimentación de estos triatomino¹⁷; además, esos mamíferos podrían constituir importantes reservorios de *T cruzi*. Al respecto, trabajos previos realizados en la zona de Illapel, han demostrado que *Chinchilla lanigera*, roedor que construye madrigueras frecuentemente bajo *Puya sp*, es un reservorio del parásito¹⁸.

Este estudio confirmaría los resultados de laboratorio obtenidos por Frías et al¹⁹ respecto a que la presencia de *T infestans* interfiere negativamente en la distribución de *M spinolai*, ya que nunca encontramos a ambas especies en un mismo lugar.

Con nuestros resultados se puede presumir que el origen de los ejemplares de *T infestans* que aparecen periódicamente en viviendas de Calera de Tango está en los matorrales donde encontramos a los insectos, y probablemente en otros no prospectados. Estos insectos, al alcanzar su estado adulto, se desplazarían hacia las casas por medio del vuelo, orientados por la luz²⁰. Estos resultados deberán ser confirmados por medio de técnicas moleculares para discriminar el origen de los triatomino domiciliarios. En Til-Til, en cambio, aún no se ha encontrado el foco que genera los ejemplares de *T infestans* que siguen arribando a las casas.

Respecto a los exámenes practicados a los insectos para determinar su positividad a *T cruzi*, se debe acotar que en la metodología de microscopía óptica directa no se forzó la evacuación de las deyecciones de los insectos, por lo que no fue posible obtener muestras de todos los especímenes, ya que muchos no se alimentaban, o no defecaban inmediatamente después de la ingesta de sangre. El alto valor calculado para los índices trypano-triatominos de cada especie podría atribuirse a la pequeña cantidad de muestras analizadas por este método; sin embargo, los resultados, en promedio, son similares a los que se obtuvo por medio de la PCR.

Apt y Reyes³ encontraron, para un período de 48 años previo a la instauración de los programas del INCOSUR, un índice trypano-triatomino de 32,5% en 64.448 *T infestans* analizados. Este valor no es muy lejano al 40,9% que se detectó en este estudio. La diferencia podría atribuirse a la técnica utilizada, ya que la PCR tiene mayor sensibilidad. En Bolivia, sin embargo, utilizando la técnica de microscopía óptica en capturas intradomiciliarias y peridomiciliarias, se han encontrado tasas de entre 30% y 58% de positividad según sitio de procedencia²¹, bastante similar al 56,3% obtenido con la misma técnica en este estudio. Al comparar nuestros resultados con los encontrados en los focos silvestres de *T infestans* en Bolivia, se puede apreciar el alto porcentaje de infección natural (>60%) que detectaron tanto en insectos como en reservorios²²; nuestros valores más bajos de infección podrían atribuirse a que, tal vez, los reservorios en Calera de Tango no presenten tasas tan altas de positividad, como también a que sean focos de reciente formación, y que su origen haya estado en las viviendas del sector, a las cuales se les realizó desinsectación periódica. No se comparó con los resultados de triatominos capturados en el intradomicilio de viviendas de la Región Metropolitana actualmente, ya que esa muestra está sesgada hacia los estados adultos.

Es interesante destacar la alta frecuencia de positivos entre los pocos individuos adultos analizados, lo que se ve sustentado por la similar frecuencia de positivos de los estados juveniles. Al igual que en el estudio de Botto-Mahan et al²³, se debe destacar esta alta positividad que presentan

los estados ninfales –entre 28% y 71% para *T infestans* y 37% y 58% para *M spinolai*– indicando que tienen un rol importante en la mantención de la parasitosis en el ciclo silvestre, dado que no se encontraron diferencias entre los distintos estados ninfales y adultos, respecto a su positividad.

Con respecto a los resultados de Órdenes et al²⁴, quienes obtuvieron un promedio de 26,02% en *M spinolai* en otro sector de la Región Metropolitana, se puede apreciar un gran aumento del promedio total, lo que se podría atribuir que utilizaron la técnica de microscopía óptica, aunque también podría deberse a la variabilidad en la positividad que ellos mismos encontraron entre sitios de captura distintos. Con respecto a las diferencias con los resultados de Frías et al¹⁹, que obtuvieron 61,5% de positividad de *M spinolai* en Til-Til, pudo deberse a que la composición de su muestra haya sido mayoritariamente más avanzada en madurez, a diferencia de la nuestra.

Al comparar nuestros resultados con los vectores etéreos estables para cada especie proporcionados por Canals et al¹² y Ehrenfeld et al¹³, se apreció que las presentes poblaciones no están estabilizadas aún, pero sí muestran un proceso de crecimiento que tiende a la estabilización, ya que cuentan con todos los estados de ninfales e imagos, lo que demuestra que existe reproducción en el sitio, a pesar de no haber sido hallados los huevos.

Dada la ubicación de los focos, estimamos que hay un mayor riesgo de contacto entre los triatominos infectados y los habitantes de Til-Til, ya que allí las viviendas tienden a ser más precarias. Además, se apreció un mayor nivel de incursión de personas en los hábitats que albergan a estos insectos, ya sea por su trabajo (p.e: cuidado de animales), por recreación o simplemente porque se han asentado en aquellos sectores.

En Calera de Tango, en tanto, la calidad de la infraestructura habitacional es mejor; sin embargo, existe la tendencia a ubicar las casas cada vez más cerca de los cerros que mantienen su vegetación y fauna autóctonas, y por lo tanto, se acercan hacia los focos de *T infestans*. Aquí el riesgo mayor se debe a la llegada de ejemplares adultos a las casas, por medio del vuelo, y a la realización de excursiones.

Estos resultados avalan la necesidad de intensificar la campaña de educación a las comunidades asentadas en estos lugares, de manera tal que

conozcan de su presencia, de su ubicación y de los procedimientos a tomar frente al hallazgo de estos insectos.

REFERENCIAS

1. SCHOFIELD C. Introducción. En: Schofield C. *Triatominae: biología y control*. West Sussex, United Kingdom: Eurocommunica Publications, 1994; 5-6.
- 2) SCHOFIELD C. Sistemática y distribución de los triatomíneos. En: Schofield C. *Triatominae: biología y control*. West Sussex, United Kingdom: Eurocommunica Publications, 1994; 17-32.
3. APT W, REYES H. Algunos aspectos de la enfermedad de Chagas en Latinoamérica. *Parasitol al Día* 1990; 14: 23-40.
4. CANALS M, SOLÍS R, VALDERAS J, EHRENFELD M, CATTAN PE. 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.
5. 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: 123-520.
6. SCHENONE H, VILLARROEL F, ROJAS A. Presencia de *Triatoma spinolai* en viviendas humanas. *Bol Chil Parasitol* 1995; 50: 76-9.
7. LORENZO M, REISENMAN C, LAZZARI C. *Triatoma infestans* can be captured under natural climatic conditions using yeast-baited traps. *Acta Trop* 1998; 70: 277-84.
8. BOTTO-MAHAN C, CATTAN PE, CANALS M. Field tests of carbon dioxide and conspecifics as baits for *Mepraia spinolai*, wild vector of Chagas disease. *Acta Trop* 2002; 28: 377-80.
9. BARROZO R, LAZZARI C. The response of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to carbon dioxide and other host odours. *Chem Senses* 2004; 29: 319-29.
10. LENT H, JURBERG J, GALVAO C. Revalidação do Gênero *Mepraia*, Mazza, Gajardo & Jörg, 1940 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1994; 89: 347-52.
11. FRIAS D, MARTÍNEZ H, WALLACE A. Algunos aspectos taxonómicos de *Triatoma spinolai* Porter (Hemiptera: Triatominae). *Acta Ent Chilena* 1987; 14: 155-70.
12. CANALS M, CATTAN, PE, EHRENFELD M, TORRES P. Poblaciones experimentales de *Triatoma infestans*: efectos de condiciones ambientales variables. *Parasitol al Día* 1992; 16: 72-7.
13. EHRENFELD M, CANALS M, CATTAN PE. Population parameters of *Triatoma spinolai* (Heteroptera: Reduviidae) under different environmental conditions and densities. *J Med Entomol* 1998; 35: 740-4.
14. NAVAS L. Flora de la cuenca de Santiago de Chile, Volumen 1. Biblioteca digital de la Universidad de Chile 2001. Disponible en: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmacenticas/navas101/index.html [Consultado el 6 de noviembre de 2005].
15. BACIGALUPO A, SEGURA JA, CATTAN PE. Triatomíneos en áreas sub-urbanas de la Región Metropolitana, Chile. *Parasitol Latinoam* 2005; 60 N° extraord, T° 2: 246, 206-7.
16. VEZZANI D, SCHWEIGMANN N, PIETROKOVSKY S, WISNIVESKY-COLLI C. Characterization of *Triatoma guayanae* biotopes in a hardwood forest of Santiago del Estero, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96: 459-66.
17. CANALS M, CRUZAT L, MOLINA MC, FERREIRA A, CATTAN PE. Blood host sources of *Mepraia spinolai* (Heteroptera: Reduviidae), wild vector of Chagas' disease in Chile. *J Med Entomol* 2001; 38: 303-7.
18. DURÁN J, VIDE LA M, APT W. Enfermedad de Chagas en una comunidad de pequeños mamíferos simpátricos de la Reserva Nacional de Las Chinchillas. *Parasitol al Día* 1989; 13: 15-20.
19. FRIAS D, SOLARI A, GONZÁLEZ C, HENRY A, ALVIÑA A. Índices de infección de *Mepraia spinolai* con *Trypanosoma cruzi*, su invasión a ambientes domésticos e interacción con *Triatoma infestans*. *Parasitol al Día* 1995; 19: 139-A, 195.

20. MINOLI S, LAZZARI C. Take-off activity and orientation of triatomines (Heteroptera: Reduviidae) in relation to the presence of artificial lights. *Acta Trop* 2006; 97: 324-30.
21. BRENIÈRE SF, TELLERIA J, BOSSENO MF. En Bolivia, los pacientes chagásicos son más infectados por el clon 39 de *Trypanosoma cruzi*. En: *La enfermedad de Chagas en Bolivia. Conocimientos científicos al inicio del programa de control (1998-2002)*. La Paz, Bolivia: Ediciones Gráficas «E.G.», 1999; 241-7.
22. NOIREAU F, ROJAS M, MONTEIRO F, JANSEN A M, TORRICO F. Can wild *Triatoma infestans* foci in Bolivia jeopardize Chagas disease control efforts? *Trends Parasitol* 2005; 21: 7-10.
23. BOTTO-MAHAN C, ORTIZ S, ROZAS M, CATTAN P E, SOLARI A. DNA evidence of *Trypanosoma cruzi* in the Chilean wild vector *Mepraia spinolai* (Hemiptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100: 237-9.
24. ÓRDENES H, EHRENFELD M, CATTAN PE, CANALS M. Infección tripano-triatomina de *Triatoma spinolai* en una zona de riesgo epidemiológico. *Rev Méd Chile* 1996; 124: 1053-7.

Agradecimientos

A María Pía Bacigalupo, por su aporte en la adquisición de materiales. Al proyecto Fondecyt 1040711, que contribuyó con financiamiento parcial. A Hugo Aguiló, por su ayuda desinteresada y apoyo durante los trampeos. A Patricia Quijada, por su colaboración en salidas a terreno. A Daniel García, por sus oportunas sugerencias. Dos revisores anónimos ayudaron a mejorar considerablemente el presente trabajo.