



UNIVERSIDAD DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE INFECCIÓN POR
Trypanosoma cruzi EN PERROS PROCEDENTES DE CASAS CON
ÍNDICE DE INFESTACIÓN POSITIVO A *Triatoma infestans* DURANTE
EL PERIODO 2005-2007 EN LAS PROVINCIAS DE SAN FELIPE, LOS
ANDES Y PETORCA.**

KARINA LEPE ARCOS

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina Preventiva Animal

NOTA FINAL:

| | NOTA | FIRMA |
|-------------------------------------|-------|-------|
| PROFESOR GUIA: MYRIAM LORCA | | |
| PROFESOR CONSEJERO: FERNANDO FREDES | | |
| PROFESOR CONSEJERO: PEDRO CATTAN | | |

**SANTIAGO, CHILE
2010**

AGRADECIMIENTOS

El camino es largo, y a la vez corto, lo importante es recorrerlo con el corazón abierto y la pasión en cada paso que se da. La verdadera victoria no esta en el resultado cuantificable a corto plazo sino en el aprendizaje obtenido. La meta es la recompensa al esfuerzo y a todos quienes me apoyaron cada vez que estuve a punto de rendirme les agradezco inmensamente, por hacerme creer y entender que cuando se quiere todo es posible.

A mi madre y mis hermanas por nunca presionarme y dejarme recorrer el camino que me hace más feliz, gracias por su infinito amor y su compañía siempre.

Al Dr Luis Alberto Raggi por toda su inagotable paciencia y la fe que puso en mí al darme las oportunidades y la fortaleza para continuar hasta el final.

A mis amigos que me impulsaron de una u otra forma a seguir y a creer en mis capacidades.

A mis profesores y consejeros, gracias por su apoyo, dedicación, tiempo y comprensión.

Gracias a ti fiel amigo y compañero por compartir tu irreemplazable existencia junto a mi, te dedico esta memoria porque me enseñaste a ser más fuerte que nunca, y a seguir hasta el final, gracias por tu infinito amor y por estar a mi lado a cada momento de tu vida.

¡Gracias en cada palabra, a cada gesto, a través de tu mirada, en cada momento, infinitamente gracias!...

INDICE

| | Páginas |
|-------------------------------------|----------------|
| ABSTRACT | 1 |
| RESUMEN | 2 |
| INTRODUCCIÓN | 3 |
| REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 5 |
| OBJETIVOS | 13 |
| MATERIAL Y METODOS | 14 |
| RESULTADOS | 18 |
| DISCUSIÓN | 21 |
| CONCLUSIÓN | 23 |
| BIBLIOGRAFÍA | 24 |

ABSTRACT

Chagas disease, zoonosis widely distributed in the Americas, is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* is transmitted primarily through blood-sucking insect droppings of the subfamily Reduviidae. In Chile there are three known vectors: *Triatoma infestans* (domestic cycle) *Mepraia spinolai* (wild cycle) and *Mepraia gajardoi* (wild cycle, but in coastal areas) commonly known as kissing bugs. The purpose of this study was to determine the frequency of infection with *T. cruzi* in dogs from the houses with infestation rates of positive *T. infestans* in the provinces of Petorca, San Felipe and Los Andes during the period 2005-2007. During May 2008 to January 2009 were sampled housing 175 dogs whose vectors were found positive for *T. cruzi* infection and were sampled in proportion of 81 dogs whose homes were negative vectors *T. cruzi*. To be diagnosed was used for the first time in Chile a serological technique by immunochromatography (Trypanosoma Detect Rapid Test for Canine, InBio. Inbio International, Inc.563 1st Ave South Suite 600 Seattle, WA 98104). We used 200 test strips. The results were negative. May conclude, there is no active transmission, although the population is exposed. It could be because dogs are not a preferred food source for kissing bugs, or kissing bugs that came from wild bulbs, fed and only come in a circumstantial manner to housing and do not in search of food.

RESUMEN

La enfermedad de Chagas, zoonosis ampliamente distribuida en América, es causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* que es transmitido principalmente a través de las deyecciones de insectos hematófagos de la subfamilia Reduviidae. En Chile existen tres vectores reconocidos: *Triatoma infestans* (ciclo doméstico), *Mepraia spinolai* (ciclo silvestre) y *Mepraia gajardoi* (ciclo silvestre, pero de zonas costeras) denominadas vulgarmente como vinchucas. El objetivo de esta memoria fue determinar la frecuencia de infección por *T. cruzi* en los perros procedentes de las viviendas con índice de infestación positivo a *T. infestans* en las provincias de Petorca, San Felipe y Los Andes durante el periodo 2005-2007. Durante mayo 2008 a enero 2009 se muestrearon 175 perros de viviendas cuyos vectores se encontraron positivos a la infección de *T. cruzi* y de manera proporcional se muestrearon 81 perros de las casas cuyos vectores estaban negativos a *T. cruzi*. Para realizar el diagnóstico se usó por primera vez en Chile una técnica serológica por inmunocromatografía (Trypanosoma Detect Rapid Test for Canine, InBios. Inbios International, Inc. 563 1st Ave. South Suite 600 Seattle, WA 98104). Se dispuso de 200 tiras reactivas. Los resultados obtenidos fueron negativos. Pudiendo concluir, que los perros al ser considerados animales centinelas para esta infección, no existe transmisión activa, a pesar de que la población está expuesta. Lo anterior se podría deber a que los perros no son una fuente de alimentación preferencial para las vinchucas, o, que las vinchucas provienen de focos silvestres, ya alimentadas, y que solo llegan de manera circunstancial a las viviendas y no lo hacen en búsqueda de alimento.

INTRODUCCION

La tripanosomiasis americana, también conocida como enfermedad de Chagas, es una zoonosis protozoaria causada por el hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (OPS, 1994).

La vía de transmisión más común y de mayor importancia epidemiológica son los insectos triatominos, en Chile denominados comúnmente como “vinchucas”, los que son hematófagos estrictos y oportunistas. Estos pertenecen al orden Hemiptera, familia Reduviidae y subfamilia Triatominae (Schofield, 1994).

En América existen más de un centenar de especies de vinchucas y la mayoría es vector del parásito *T. cruzi*. Solo tres especies se encuentran en nuestro país: *Triatoma infestans*, Klug, 1834, insecto de mayor importancia epidemiológica, ya que es el principal vector de *T. cruzi* en Chile. Obtiene su alimento principalmente del hombre y de animales en ambientes domésticos y coloniza el interior y el peridomicilio de las viviendas humanas: *Mepraia spinolai* Porter 1934, también es vector del parásito, pero principalmente a nivel de los vertebrados silvestres (Apt y Reyes, 1986); en tanto que, también existe *Mepraia gajardo* (Frías *et al.*, 1998) que fue recientemente descrita en el norte del país especialmente en las zonas costeras, esta especie de triatomino se asocia a nidos de aves marinas y cuevas de reptiles (Botto-Mahan *et al.*, 2006).

Una de las medidas más eficaces para controlar la infección por *T. cruzi* es la eliminación del vector a través de insecticidas. Es así como la Iniciativa del Cono Sur (INCOSUR) ha llevado a cabo sus actividades en Chile estableciendo como objetivo: (1) la interrupción de la transmisión vectorial del *T. cruzi* lograda en la década del 90 y (2) la certificación de la eliminación del vector para el año 2010. Debido a las acciones emprendidas en la década del 90, el año 1999 se certificó por una comisión internacional la interrupción de la transmisión vectorial del *T. cruzi* en Chile, quedando como tarea para el 2010 la vigilancia vectorial con el fin de alcanzar la eliminación del vector (OPS, 2003).

Los reservorios naturales de *T. cruzi* son principalmente mamíferos. Varios estudios han demostrado que uno de los factores de riesgo más importantes para la infección humana es la presencia y número de perros, y de gatos, en la vivienda; en particular cuando estos animales están infectados (Acha y Szyfres, 2003), ya que son una fuente primordial de

alimentación y de infección para los vectores (Gurtler *et al*, 1998). Los estudios que han utilizado perros han demostrado la eficacia de éstos como centinelas del riesgo de la infección domiciliar y peridomiciliar por *T. cruzi*. (Paho, 2006)

El objetivo de la presente memoria es determinar la positividad a *T. cruzi* en los perros domésticos de las casas que presentan un índice de infestación positiva a *T. infestans*. Estas viviendas han sido supervisadas y diagnosticadas a través de los programas de Vigilancia entomológica y de Eliminación de *T. infestans* instaurados en toda la zona de endemia chagásica bajo la iniciativa INCOSUR.

REVISION BIBLIOGRAFICA

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una zoonosis descrita en 1909 por el médico brasileño Carlos Chagas, quien identificó al agente etiológico (*T. cruzi*) y realizó la primera aproximación para explicar el ciclo de transmisión de esta patología (Schofield, 1994).

La infección por *T. cruzi* existe solo en el continente americano, en un área que comprende desde la latitud 42° N en los Estados Unidos de América, hasta alrededor del paralelo 34° S en Chile y el 42° S en la Argentina. También se han encontrado vectores y reservorios selváticos en la mayor parte de la región del Caribe, que antes se consideraba libre de la infección (Heymann, 2005).

En Chile el área endémica se extiende desde la Región de Arica y Parinacota a la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins, incluyendo la Región Metropolitana. Si bien el área chagásica se ubica en la zona más poblada del país, el hecho que las viviendas positivas se encuentren en el área rural determina que la población expuesta sea alrededor de 500.000 habitantes con un 18,7% de infectados por el *T. cruzi* (OPS, 2003).

Los vectores de esta enfermedad son insectos reduvídeos de la familia de los triatomíneos, comprobándose que alrededor de un centenar de especies son susceptibles a la infección. Se ha informado de que el vector *T. infestans* propaga al parásito *T. cruzi* en hábitat de ámbito doméstico y peridoméstico y el vector *M. spinolai*, lo hace en hábitat tanto selvático como peridoméstico. Actualmente, *T. infestans* ha sido reportado como controlado, sin embargo, *M. spinolai* se encuentra con frecuencia en corrales de los animales domésticos, colinas rocosas y grietas de rocas de zonas áridas y semiáridas de la zona norte de Santiago hasta la región de Arica y Parinacota de Chile (Botto-Mahan *et al.*, 2006).

M. gajardoi es una especie de triatomino descrito recientemente como una especie separada de *M. spinolai*, principalmente sobre la base de diferencias en el cariotipo. Se distribuye en la costa norte de Chile entre los paralelos 18 ° y 26° S. Esta especie costera se encuentra asociados a nidos de aves marinas y cuevas de reptiles, recientes estudios han mostrado las primeras evidencias de infección de *M. gajardoi*, cuyo porcentaje de infección es relativamente bajo debido a que su fuente de alimentación son vertebrados, tales como las aves que son resistentes a la infección o por el control del sistema inmunológico de estas

especies que impide la mantención y la reproducción de *T. cruzi* en el organismo del hospedero (Botto-Mahan *et al.*, 2008).

La subfamilia Triatominae está constituida por insectos hematófagos estrictos, hemimetábolos, cuyo ciclo vital consta de huevo, cinco estadios ninfales y el adulto (Cabello *et al.*, 1987). Su aparato bucal está diseñado para succionar la sangre que necesitan para sus funciones vitales.

La mayor parte de los triatominos se alimentan de noche cuando sus hospederos vertebrados están durmiendo. Pruebas de laboratorio han demostrado preferencia alimentaria por animales homeotermos y en reposo. Especies menos específicas de hospedero pueden alimentarse no solo de mamíferos, sino también de aves y reptiles (Zeledón, 1983).

La irritabilidad del hospedero a la picada es un factor que influye tanto en la alimentación de los triatominos como sus parámetros poblacionales. Generalmente existe una reacción inflamatoria local por la saliva del insecto, prurito y en algunos casos anafilaxia y necrosis de piel. Sin embargo, la introducción del estilete es generalmente indolora. Un creciente número de vinchucas alimentándose de un animal provocarían una creciente irritabilidad de éste, lo que disminuiría la cantidad de tiempo que el insecto se alimente y como consecuencia de esto disminuirá su tamaño poblacional, debido a que un estado nutricional deficiente de los insectos se traduce en una menor velocidad de desarrollo ninfal, una menor postura de huevos, y un mayor posibilidad de dispersión de los adultos (Zeledón, 1983). Por este motivo el ciclo vital de estos insectos está relacionado con la cantidad de sangre ingerida y con la fuente de alimentación y sus características (Cabello *et al.*, 1987). Así hospederos que presentan un menor hematocrito implican menor viscosidad de la sangre y por lo tanto una disminución en el tiempo necesario para alimentarse (Acuña, 2001).

La deyección (cantidad de heces y orina) de las vinchucas es de suma importancia en el ciclo y transmisión de *T. cruzi*. Las deyecciones excretadas depende mucho de la cantidad de sangre ingerida y del periodo de inanición (Pinto *et al.*, 2000). Por otro lado, el tiempo entre la ingesta de alimento y la deyección, será menor a mayor consumo de sangre por la vinchuca (Nattero *et al.*, 2002). En relación a lo anterior, existe un grupo de vinchucas que se considera de alto riesgo como vectores de *T. cruzi*, debido a que la deyección ocurre durante o inmediatamente después de la ingesta de sangre de su presa y muy cerca del lugar de

picada. Existe otro grupo de menor riesgo, ya que defecan más tardíamente (Noguera *et al.*, 2000).

Estudios en Chile han demostrado que ejemplares de IV y V estadio de *T. infestans* defecan sobre el hospedero, a diferencia de ejemplares de *M. spinolai* los cuales lo hacen después de retirarse del mismo. Además, el tiempo que demora *M. spinolai* en defecar después de la alimentación es más largo en relación con *T. infestans* (Canals *et al.*, 1999). Esto es indicativo de la baja eficiencia en la transmisión de *T. cruzi* por *M. spinolai*.

Los triatomíneos contraen la infección alimentándose de un mamífero infectado, después conservan la infección durante toda su vida, por este motivo es que la tasa de infección de los triatomíneos suele aumentar con la edad, y por consiguiente el estadio de desarrollo, de acuerdo al número de comidas tomadas. Los triatomíneos se reproducen lentamente, las especies domesticadas, además de ser las más importantes como vectores de la enfermedad de Chagas humana, también son muy sensibles a las intervenciones de control con insecticidas modernos y a través del mejoramiento de la vivienda (OPS, 2003)

A partir de 1980 se inició en el valle del Elqui, IV Región, un programa de desinsectación mediante la aplicación, en el domicilio y peridomicilio, de insecticidas destinados a controlar el *T. infestans*, el que se fue extendiendo paulatinamente a todas las regiones chagásicas del país. En el año 1996 con la Iniciativa del Cono Sur (INCOSUR) se da inicio en Chile a un programa de interrupción de la transmisión vectorial por *T. infestans* y al control de la transmisión transfusional del *T. cruzi* en toda la zona de endemia chagásica con el fin de alcanzar el control del vector para el 2000 (Valdés *et al.*, 1999).

Todo programa de control vectorial, por exitoso que resulte, debe ser objeto de vigilancia activa y pasiva del vector una vez concluida la fase de ataque y por el resto del tiempo, con el fin de evitar las reinfestaciones por éste. Los programas de control desarrollados por los Seremis de Salud del área endémica, han consistido en la aplicación, en fase de ataque, de dos ciclos de tratamientos con insecticidas a todas las viviendas de las áreas chagásicas. Estableciendo a continuación, programas de vigilancia entomológica con participación activa de la comunidad e involucrando a los distintos tipos de establecimientos de atención de salud y educacionales. Los datos son colectados y registrados de forma que permiten la construcción de indicadores que miden el riesgo de transmisión vectorial domiciliar de la enfermedad de Chagas, los indicadores que existen son los siguientes:

1. Operacionales: presencia de insectos asociada a localidades o lugares (dispersión), sirve para la determinación del área en que se va a actuar.

$$\text{Dispersión} = \frac{\text{N° de localidades infestadas}}{\text{N° de localidades investigadas}} \times 100$$

$$\text{Infestación domiciliaria} = \frac{\text{N° de unidades domiciliarias infestadas}}{\text{N° de unidades domiciliarias investigadas}} \times 100$$

2. De seguimiento y evaluación. Referida a la infestación intra y peridomiciliar y la tasa de infección de *T. infestans* por *T. cruzi* expresado como Índice triatoma triatomino (ITT).

$$\text{*Infestación intradomiciliaria} = \frac{\text{N° de domicilios infestados}}{\text{N° de domicilios investigados}} \times 100$$

$$\text{*Infestación peridomiciliaria} = \frac{\text{N° de peridomicilios infestados}}{\text{N° de peridomicilios investigados}} \times 100$$

$$\text{Índice triatoma triatomino (ITT)} = \frac{\text{N° de triatominos infectados}}{\text{N° de triatominos examinados}} \times 100$$

* Para cada vector y en este caso específicamente para *T. infestans*.

3. Para la validación del sistema de vigilancia (cobertura, producción, calidad de la producción y de respuesta) también se cuenta con índices que se elaboran a partir de la información entregada por los equipos técnicos de terreno y por las notificaciones de la comunidad.

Para la elaboración de los indicadores mencionados anteriormente se cuenta con sistemas de información y de base de datos computacionales y operativos. Los sistemas de información están conformados por núcleos de información de complejidad creciente, que en la práctica se traducen en los siguientes niveles que incluyen áreas geográficas, tales como;

- Localidad.
- Comuna
- Región

- Nacional
- Internacional (interacción monitoreada por la OPS)

De acuerdo a este programa se instauraron diversos procedimientos de vigilancia entomológica los que entregan información que se obtiene a través de:

1. Unidades de Notificación: Principal receptora de denuncias, debe estar inserta en el área chagásica y debe promover a los habitantes de comunicar la aparición de triatoma en sus viviendas.
2. Búsqueda activa del vector (control)
 - Evaluación de viviendas: Las viviendas se identifican como; viviendas infestadas (viviendas positivas a *T. infestans*), viviendas limítrofes y sublimítrofes, viviendas radio 200m, viviendas con denuncia. En estas viviendas se realiza una técnica de búsqueda junto con la utilización de un producto expulsivo, repelente o movilizante de insectos.
 - Calificación de viviendas evaluadas: La unidad domiciliar en la que se constata presencia de ejemplares de *T. infestans* dentro de un periodo anual será calificada como positiva.
 - Eliminación de lugares (anexos) de riesgo: especialmente gallineros u otro tipo de corral los que constituyen un grave riesgo de infestación para la vivienda misma, las viviendas vecinas e inclusive radiales.
 - Manejo de ejemplares capturados: Toda la información debe ser manejada con el mayor cuidado y grado de detalle. Se debe registrar el número de ejemplares visualizados, la cantidad que se envía a examen parasitológico por especie y los resultados del mismo. La rotulación debe indicar claramente la unidad domiciliar, localidad, y sector de procedencia, fecha de captura, lugar de captura. Esta información además sirve para elaborar el ITT.
 - Desinsectación de las viviendas: Con plaguicidas piretroides de efecto residual.
 - Vigilancia de áreas no chagásicas: Actividad que permite tener certeza objetiva de la ausencia natural de triatominos.

Este trabajo realizado por el programa de control del vector, permitió lograr un descenso de las viviendas infestadas por *T. infestans* desde un 35% en 1982 a sólo un 0,2% en 1999 a nivel nacional (Valdés *et al.*, 1999).

En diciembre de 1999 se declaró que en Chile se había logrado interrumpir la transmisión del *T. cruzi* por vía vectorial, lo que fue certificado por una comisión internacional, que consideró a Chile el segundo país en América Latina, libre de la transmisión de la enfermedad de Chagas por *T. infestans* (Silveira *et al.*, 2002).

En la naturaleza, la enfermedad de Chagas parece existir preferentemente en el ámbito silvestre y pasa al ambiente doméstico sólo cuando existen vectores domiciliarios y condiciones ecológicas que permiten su permanencia en la vivienda humana. Varias especies animales sirven de reservorios en diferentes situaciones ecológicas. Entre los animales domésticos, el gato y el perro son hospederos comunes e importantes del parásito. Varios estudios han demostrado que uno de los factores de riesgo más importantes para la infección humana es la presencia y número de perros, y en algunos estudios también de gatos, en la vivienda; en particular, cuando esos animales están infectados (Acha y Szyfres, 2003). Ello indica que los perros son una fuente primordial de alimentación y de infección para los vectores (Gürtler *et al.*, 1998). Los estudios que han utilizado perros han demostrado la eficacia de éstos como centinelas del riesgo de infección domiciliar y peridomiciliar por *T. cruzi*. A diferencia de los gatos, los perros domésticos satisfacen las características ideales como centinelas de la transmisión, ya que son susceptibles a la enfermedad y tienen una respuesta medible al agente infeccioso, además tienen un territorio definido, son accesibles, fáciles de enumerar y capturar; y su población permite muestreos representativos. Además, los perros se infectan por *T. cruzi* antes que los niños que cohabitan con ellos (Paho, 2006).

Estudios realizados en Argentina, han demostrado la importancia del perro como reservorio intradomiciliar en la transmisión del parásito por *T. infestans*. Se considera que excluir de las habitaciones los animales domésticos principalmente los perros, puede reducir de manera importante la transmisión a los humanos (Reyes *et al.*, 2002). En este estudio se demuestra un 2,5% de positividad en perros mascotas de zonas endémicas contra un 1,6% en mascotas de zonas no endémicas. Por el contrario el porcentaje de positividad de perros callejeros fue independiente de su procedencia. El hallazgo de perros mascotas infectados es de importancia epidemiológica por su cercanía al hombre y además por la posibilidad de que los triatominos se alimenten de estos hospedadores.

Otros estudios realizados en México señalan que existe una correlación directa ($r = 0,955$) de seropositividad entre los seres humanos y los perros, lo que sugiere que el análisis serológico de los perros puede ayudar a indicar la prevalencia de *T. cruzi* en el hombre

(Estrada-Franco *et al.*, 2006). El estudio se realizó en cinco aldeas del sur de Tejupilco, Estado de México, donde el Instituto de Salud del Estado de México informó una infestación mayor al 50% de los hogares. Se tomaron muestras de suero de los perros en las mismas aldeas, las muestras y los controles se analizaron por triplicado, con al menos dos métodos diagnósticos independientes; citometría de flujo inmunofluorescencia (CFI) e inmunoensayo enzimático (ELISA) directo e indirecto, los resultados de ambos métodos diagnósticos para la detección de anticuerpos específicos contra *T. cruzi* mostraron un 100% de correspondencia. Los resultados obtenidos demostraron que la seropositividad en perros aumentó con la edad, con la más alta prevalencia en perros de 3-6 años.

Varias observaciones apoyan la hipótesis de que para la mantención de la infección por *T. cruzi*, uno de los factores de riesgo primordiales es mantener los perros cerca de los hogares luego que éstos han sido infectados, ya que en esta fase existe una elevada parasitemia y la sangre de los perros es la fuente de alimentación preferida para *T. infestans*, de esta forma al alimentarse los insectos adquieren el parásito y lo pueden transmitir a los humanos. Segundo la tasa de prevalencia de infección por *T. infestans* en un hogar aumenta, de conformidad con el aumento de perros infectados, la frecuencia de insectos adultos infectados se duplicó en hogares con uno o dos perros adultos. En tercer lugar los anticuerpos específicos contra *T. cruzi* se han identificado en los seres humanos (4%) y en perros (10%) (Estrada-Franco *et al.*, 2006). Además, debido a estas características el perro ha sido ampliamente utilizado como modelo experimental ya que presenta aspectos propios de la infección en humanos (Machado *et al.*, 2001). De allí que el uso del diagnóstico serológico en ellos es recomendado.

Estudios realizados en Brasil utilizaron perros de aproximadamente cuatro meses de edad, los que se inocularon vía intraperitoneal con dos cepas de *T. cruzi* y se sometieron a reinfecciones, monitoreándolos durante 38 meses, con el objetivo de demostrar la importancia de la reinfección en la evolución de la enfermedad de Chagas. Para todos los perros las muestras de sangre fresca fueron positivas luego de la primera infección, caracterizando la fase aguda de la enfermedad, y se demostró que el nivel de la parasitemia disminuye drásticamente con las infecciones sucesivas. La primera reinfección tuvo niveles inferiores de parasitemia respecto a la primera infección, a la segunda reinfección las muestras fueron negativas al frotis fresco (Machado *et al.*, 2001). En los perros no reinfectados, se produjo una reducción gradual de los niveles de parasitemia hasta llegar a negativo. En tanto que en animales que fueron reinfectados se detectaron parasitemias de

larga duración. Los resultados de las pruebas serológicas tanto IFI como ELISA, detectaron altos niveles de IgG contra *T. cruzi*, y en perros re infectados los niveles de anticuerpos se mantuvieron elevados. La evaluación clínica demostró que ningún perro murió a causa de la enfermedad de Chagas durante el estudio. Según los resultados obtenidos en este estudio la transmisión de *T. cruzi* en zonas endémicas está relacionado íntimamente con la densidad y el índice de infección intradomiciliaria de triatominos y de las especies de vectores presentes. Por lo tanto las especies con una exposición prolongada a estas condiciones son altamente vulnerables a reinfecciones por *T. cruzi* (Machado *et al.*, 2001).

En estudios serológicos por hemoaglutinación realizados en 34 localidades rurales de la IV región de Chile, se encontraron anticuerpos para *T. cruzi* en 7,8% de 232 caprinos examinados, 11,7% de 145 especies de conejos y 4,8% de 42 ovinos, además se confirmaron tasas altas de infección en gatos y perros (Correa y Zúñiga, 1982).

Es importante indicar que la mayoría de los exámenes señalados son costosos, además que se requiere de toma de muestra de sangre entera del animal, lo cual para trabajo de campo no siempre es factible y útil, por ello es que se han diseñado una serie de tests rápidos que solucionan con igual sensibilidad y especificidad los problemas. Estos tests ampliamente estandarizados son en la actualidad los de elección para trabajo de campo.

Por tal motivo, y debido que en la zona de Aconcagua y Petorca se ha llevado a cabo un programa exitoso de control vectorial y con una vigilancia activa que ha demostrado algunos domicilios con *T. infestans* y además estos triatominos infectados, se consideró necesario establecer si los perros de esos domicilios estarían infectados con el fin de usarlos como centinelas del programa de control.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia de infección por *T.cruzi* en la población de perros de las casas positivas a *T. infestans* de las provincias de San Felipe, Los Andes y Petorca.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Establecer las casas índice *T. infestans* positivas de las provincias en el periodos 2005 – 2007.

Determinar la frecuencia de perros positivos dentro del total de casas *T. infestans* positivas.

Asociar la seropositividad de los perros de casas índices positivas (ITT) y viviendas negativas. De esta forma determinar si los perros pueden ser utilizados como centinelas de la infección por *T.cruzi*.

Comparar por comunas la presencia de casos positivos.

MATERIAL Y METODO

Se seleccionaron las casas con índice de infestación positiva a *T. infestans* de las provincias de Petorca, San Felipe y Los Andes durante el periodo 2005-2007, y un grupo control equivalente de casas negativas. Estos registros fueron obtenidos a partir de las base de datos de la Seremi de Salud de San Felipe a través del programa de eliminación del *T. infestans* y de vigilancia entomológica (Cuadro N° 1).

Cuadro N° 1 Resultados de las viviendas positivas a *T. infestans* obtenidas entre los años 2005-2006-2007 por el programa de Eliminación de *T. infestans* (Base de datos de la Seremi de Salud de Aconcagua).

| Provincias en programa regional | Comunas en programa | Casas en programa | Nº casas positivas a <i>T. infestans</i> | Nº casas ITT positivo | ITT positivo por vivienda |
|---------------------------------|---------------------|-------------------|--|-----------------------|---------------------------|
| PETORCA | CABILDO | 329 | 29 | 6 | 20,7 |
| | PETORCA | 619 | 73 | 37 | 50,7 |
| LOS ANDES | LOS ANDES | 813 | 3 | 0 | 0,0 |
| | CALLE LARGA | 1100 | 12 | 2 | 16,7 |
| | SAN ESTEBAN | 1010 | 7 | 0 | 0,0 |
| | RINCONADA | 236 | 0 | 0 | 0,0 |
| SAN FELIPE | PUTAENDO | 1159 | 20 | 1 | 5,0 |
| | SANTA MARIA | 272 | 1 | 0 | 0,0 |
| | CATEMU | 181 | 2 | 2 | 100 |
| | LLAY LLAY | 63 | 1 | 1 | 100 |
| TOTAL | 10 | 5782 | 148 | 49 | 33,1 |

El cuadro N° 1 muestra la información obtenida durante los años 2005-2006-2007, a través del programa de eliminación de *T. infestans* por la Seremi de Salud de Aconcagua. El total de casas vigiladas en las 3 provincias durante éste periodo fue de 5.782, de las cuales 148 casas fueron positivas a *T. infestans*, 49 correspondieron a casas positivas a *T. cruzi* (ITT positivo). Obteniéndose un 33% de casas ITT positivo respecto al total de casas positivas a *T. infestans*.

Para el diagnóstico por inmunocromatografía de las muestras de sangre se dispuso de 200 tiras reactivas (membranas de nitrocelulosa impregnadas con antígeno de *T. cruzi* recombinante), para el análisis de las muestras (Test de diagnóstico rápido para *Trypanosoma* en perros (Trypanosoma Detect Rapid Test for Canine, InBios. Inbios International, Inc.563 1st Ave. South Suite 600 Seattle, WA 98104).

El test está basado en la capacidad que tiene el antígeno (derivado de las proteínas presentes en la membrana) de unirse a los anticuerpos presentes en el suero y en la sangre entera formando un complejo. Una vez que la reacción antígeno – anticuerpo ocurrió, el complejo formado se desplazó formando, una línea horizontal, la que se visualizó de una coloración roja.

Como el número de tiras reactivas disponibles era limitado, se seleccionaron aquellos perros que estuvieron viviendo desde la fecha que la casa fue diagnosticada como positiva, de manera de aumentar la probabilidad de que éstos estuviesen infectados. Las muestras de sangre de los perros se obtuvieron a través de un corte con bisturí en la cara interior de la oreja, la gota de sangre, se dispuso sobre la parte inferior absorbente de la tira reactiva de manera que se incluya en ella, para facilitar la difusión a través de la tira reactiva ésta se colocó en un pocillo que contuvo 3 gotas de solución buffer. En un tiempo aproximado de entre 3 a 5 minutos la sangre difundió y se evidenció si la muestra era o no positiva. La presencia de dos marcas, como bandas horizontales paralelas de color rojo indicaron positividad. En tanto que una sola marca en el tercio superior, indicó negatividad (banda de control de reacción) (Figura 1).



Figura 1: Resultado de tiras reactivas del test de diagnostico rápido para *Trypanosoma* en perros (1= muestra blanco, no se observa ninguna banda; 2 = control negativo se observa solo la banda de control de reacción, en el extremo superior de la tira; 3= control positivo se observan dos bandas, la de control de reacción en la parte superior y la de positividad en la parte inferior que marca la reacción antígeno anticuerpo).

En la figura 2 se observa como se identificaron las tiras reactivas para cada muestra colocando en el borde superior el nombre del perro



Figura 2: Detalle de la identificación de dos tiras reactivas del test de diagnóstico rápido para *Trypanosoma* en perros.

Los datos de muestreo se registraron en una ficha del programa Microsoft Access, donde se anotaron los datos tanto del lugar de muestreo, de la fecha del diagnóstico de positividad o negatividad de la vivienda, como de los datos del dueño del perro, los datos del perro y el resultado del test realizado (Figura 3).

| | |
|-------------------|--|
| NOMBRE DUEÑO | |
| COMUNA | |
| LOCALIDAD | |
| SECTOR | |
| FECHA POSITIVIDAD | |
| FECHA POSITIVIDAD | |
| FECHA POSITIVIDAD | |
| NOMBRE CANINO | |
| EDAD AÑOS | |
| EDAD MESES | |
| SEXO | |
| TAMAÑO CANINO | |
| ESTADO SANITARIO | |
| ACTIVIDAD CANINO | |
| TEST CHAGAS | |
| FECHA MUESTREO | |
| TECNICA USADA | |
| NUMERO INTENTOS | |
| TIEMPO UTILIZADO: | |
| OBSERVACIONES | |

Figura 3: Ficha de muestreo utilizada en el estudio.

RESULTADOS

En el cuadro N° 2 se encuentran las cantidades de casas ITT positivas muestreadas y la cantidad de perros muestreados en estas mismas, Dentro de las 49 casas ITT positivo, se muestrearon 45 casas, es decir el 91,8 % del total (la idea era muestrear el 100% pero no todas las viviendas tenían perros). Dentro de estas 45 casas se muestrearon 94 perros. Por comuna se obtuvo lo siguiente; (a) En Cabildo de un total de 6 casas ITT positivo se muestrearon 5, de las que se obtuvieron muestras de 13 perros. (b) en Petorca de un total de 37 casas ITT positivo se muestrearon 35 con un total de 67 perros, (c) en Calle Larga encontramos solo 2 casas ITT positivo, se muestrearon ambas , solo existía un perro por casa y se muestrearon ambos (d) en Putaendo existe una casa con ITT positivo de la que se muestrearon 6 perros; (e) en la comuna de Catemu existen 2 casas positivas, se muestreo 1 la que tenia 3 perros, (f) en la comuna de Llay Llay hay una vivienda ITT positiva de la que se obtuvieron muestras de 3 perros.

Cuadro N° 2 Total de perros muestreados en las casas positivas a *T. cruzi* (ITT positivo).

| Comunas en programa | Casas ITT positivas | Casas ITT positivas muestreadas | Total perros muestreados |
|---------------------|---------------------|---------------------------------|--------------------------|
| CABILDO | 6 | 5 | 13 |
| PETORCA | 37 | 35 | 67 |
| LOS ANDES | 0 | 0 | 0 |
| CALLE LARGA | 2 | 2 | 2 |
| SAN ESTEBAN | 0 | 0 | 0 |
| RINCONADA | 0 | 0 | 0 |
| PUTAENDO | 1 | 1 | 6 |
| SANTA MARIA | 0 | 0 | 0 |
| CATEMU | 2 | 1 | 3 |
| LLAY LLAY | 1 | 1 | 3 |
| TOTAL | 49 | 45 | 94 |

El cuadro N° 3 muestra las cantidades de casas ITT negativas muestreadas y la cantidad de perros muestreados en estas mismas. Dentro de las 99 casas ITT negativo, se muestrearon 81 perros. Por comuna se obtuvo lo siguiente, (a) en Cabildo se muestrearon 4 casas y se obtuvieron muestras de 12 perros, (b) en Petorca se muestrearon 21 casas y un total de 52 perros, (c) en Calle Larga de un total de 2 casas ITT negativo se muestrearon ambas y se obtuvo muestras de un perro por cada casa, (d) en Putaendo se muestreo una casa de la que se muestrearon 9 perros, (e) en Llay Llay se muestreo una casa de la que se obtuvieron muestras de 7 perros.

Cuadro N° 3 Total de perros muestreados en las casas negativas a *T. cruzi* (ITT negativo).

| Comunas en programa | Casas ITT negativas | Casas ITT negativas muestreadas | Total perros muestreados |
|---------------------|---------------------|---------------------------------|--------------------------|
| CABILDO | 23 | 4 | 12 |
| PETORCA | 44 | 21 | 52 |
| LOS ANDES | 3 | 0 | 0 |
| CALLE LARGA | 10 | 2 | 2 |
| SAN ESTEBAN | 7 | 0 | 0 |
| RINCONADA | 0 | 0 | 0 |
| PUTAENDO | 19 | 1 | 8 |
| SANTA MARIA | 1 | 0 | 0 |
| CATEMU | 0 | 0 | 0 |
| LLAY LLAY | 1* | 1 | 7 |
| TOTAL | 99 | 29 | 81 |

En el cuadro N° 4 se observa que del total de 175 muestras de sangre analizadas de los perros provenientes de las casas con diagnóstico positivo a *T. infestans*, 94 muestras corresponden a perros de viviendas positivas *T. cruzi* es decir ITT positivo, 81 perros corresponden a casas con ITT negativo.

Cuadro N° 4 Resultados del diagnóstico rápido para *Trypanosoma* en perros en las viviendas positivas a *T. infestans*. (Mayo del 2008 a enero del 2009)

| Perros muestreados | Casas ITT positivas | Casas ITT negativas | Total |
|---------------------|---------------------|---------------------|-------|
| N° perros negativos | 94 | 81 | 175 |
| N° perros positivos | 0 | 0 | 0 |
| Total | 94 | 81 | 175 |

Por último en las figuras 4 y 5 se pueden observar algunos de los perros mascotas que fueron objeto de estudio, indicando su lugar de origen, su dueño y fecha de positividad.

Figura 4: Mascota: Lipiria de la comuna de Petorca, de la localidad de El Sobrante, cuya dueña era Celinda Aguilera, y la fecha de positividad fue Marzo del 2005



Figura 5: Mascota: Leonero de la comuna de Llay Llay , de la localidad Enrique Meiggs, cuyo dueño era Galvarino Maluenda y la fecha de positividad fue Noviembre del 2006



DISCUSIÓN

A partir de 1980 se inició en el Valle del Elqui, IV región, un programa destinado a controlar el *Triatoma infestans*, el que se fue extendiendo paulatinamente a todas las regiones chagásicas del país. En el año 1996 se inicia en Chile un programa destinado a lograr para el año 2000, la interrupción de la transmisión vectorial de dicha enfermedad en el país (Valdés *et al.*, 1999).

En el presente estudio se colectaron muestras de sangre de los perros provenientes de las casas positivas a *T. infestans*. 94 de las muestras correspondieron a perros de viviendas positivas a *T. cruzi* es decir ITT positivo y 81 a casas con ITT negativo. Los resultados fueron 100% negativos a la infección por *T. cruzi* a través del método diagnóstico por inmunocromatografía.

Este “kit” es utilizado por primera vez en Chile para el diagnóstico en perros. La sensibilidad y especificidad de la técnica fue evaluada a través de un estudio realizado en nuestro país en humanos seropositivos, en el que se obtuvo un 100% de especificidad y sensibilidad al comparar los resultados obtenidos por este método y las técnicas de IFA y ELISA, confirmándose de esta manera los resultados obtenidos.

En estudios realizados en Brasil se compararon los resultados de tres técnicas diagnósticas, PCR, y métodos parasitológicos y serológicos para detectar la infección en perros 5 a 12 años después de infectarlos experimentalmente con *T. cruzi*, obteniéndose que la habilidad del método parasitológico para detectar un animal positivo es de un 22% a través de hemocultivo y del 11% por xenodiagnóstico. Los test serológicos que incluyeron serología convencional (ELISA) y de anticuerpos contra antígeno trypomastigote (ALTA) dieron como positivo al 100% de los animales infectados. Para la técnica de PCR se requiere de dos muestras de sangre como mínimo, las que se someten a tres extracciones de DNA, por cada una de ellas se realizan tres PCR, por lo tanto se realizan 9 reacciones las que dan un 100% de exactitud en la detección de muestras positivas. Se pudo demostrar a través de este estudio que los perros infectados desde hace 10 años o más requieren un gran número de PCR y mas extracciones de DNA para detectar la positividad (Araújo, *et al.*, 2002).

Los resultados aquí obtenidos a través del método diagnóstico utilizado, podría indicar que (a) no hay transmisión activa de *T. cruzi* por vía vectorial a pesar que las casas se

encuentren positivas a *T. infestans*, (b) o los perros no serían una fuente de alimentación para los insectos, o que la picadura podría generar en los perros una irritabilidad tal que los insectos no alcanzan a saciarse y defecar sobre ellos (c) o que los insectos encontrados podrían provenir de focos silvestres, desde donde se alimentarían y aparecerían de manera circunstancial en las viviendas.

CONCLUSIÓN

Estos resultados indicarían que aunque la población, humana y animal, esté expuesta a la infección por *T. cruzi*, no existe transmisión activa a pesar de la presencia del agente patógeno. Lo anterior se infiere, dado a que los perros, considerados una especie centinela para la infección domiciliaria, no se encontraban infectados. Esto se podría deber a que los perros pueden no ser una fuente de alimentación preferencial para las vinchucas, o, que las vinchucas pueden provenir de focos silvestres, ya alimentadas y que solo llegarían de manera circunstancial a las viviendas y no lo harían en búsqueda de alimento.

Esto demuestra además que el programa instaurado el año 96 con la Iniciativa del Cono Sur (INCOSUR), logró la interrupción de la transmisión vectorial por *T. infestans* en esta zona de endemia Chagásica.

BIBLIOGRAFIA

ACHA P N., Y SZYFRES B. 2003. Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. Public. Cient. Téc 580 (3): 27-39.

ACUÑA, M. 2001. Efecto del hospedero sobre el crecimiento poblacional de *Mepraia spinolai* (Hemiptera: Reduviidae). Memoria para optar al título Profesional Médico Veterinario. Santiago, Chile, U. Chile, Fac Cs Veterinarias y Pecuarias. 67p.

APT, W y REYES, H.1986. Aspectos epidemiológicos de la enfermedad de Chagas en Chile. I; Distribución geográfica, índices de infección en vectores y en humanos. Parasitol. al Día 10: 94-101.

ARAUJO F.M.G., BAHIA N.T., MAGALHÃES N.M., MARTINS-FILHO O.A., VELOSO V.M., CARNEIRO C.M., TAFURI W.L., LANA M. 2002 Follow-up of experimental chronic Chagas' disease in dogs: use of polymerase chain reaction (PCR) compared with parasitological and serological methods. Acta Trop. 81: 21-31.

BOTTO-MAHAN C, SEPULVEDA M, VIDAL M, ACUÑA-RETAMAR M, ORTIZ S, & SOLARI A, 2008 *Trypanosoma cruzi* infection in the wild kissing bug *Mepraia gajardoii* from Chilean Southern Pacific Ocean coast. Acta Trop. 105: 166-169

BOTTO-MAHAN C, CATTAN PE, MEDEL R. 2006. Chagas disease parasite induces changes in behavior *Mepraia spinolai*. Acta Trop. 98: 219-223.

CABELLO, D.; LIZANO, E.; VALDERRAMA, A. 1987. Estadísticas vitales de *Rhodnius neivai* Lent, 1953 (Hemiptera: Reduviidae) en condiciones experimentales. Mem I Oswaldo Cruz. 57: 511-524.

CANALS, M.; SOLIS, R.; TAPIA, C.; EHRENFELD, M. Y CATTAN, P. 1999. Comparison of some behavioral and physiological feeding parameters of *Triatoma infestans* Klug, 1834, and *Mepraia spinolai* Porter, 1934, vectors of Chagas disease in Chile. Mem I Oswaldo Cruz. 94: 687-692.

CORREA, V., ZUÑIGA J. 1982. Infección por *Trypanosoma cruzi* en animales domésticos de sectores rurales de la IV región, Chile. Bol. Chil. Parasitol. 37: 27-78.

ESTRADA-FRANCO JG, BHATIA V, DIAZ-ALBITER H, OCHOA-GARCIA L, BARBABOSA A, VAZQUEZ-CHAGOYAN JC, MARTINEZ-PEREZ MA, GUZMAN-BRACHO C, GARG N. 2006. Human *Trypanosoma cruzi* infection and seropositivity in Dogs, Mexico. Emerg. Infec. Dis. 12 (4): 624-630.

FRIAS, D.; HENRY, A. y GONZALEZ, C. 1998. *Mepraia gajardo*: a new species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) from Chile and its comparison with *Mepraia spinolai*. Rev. Chil. Hist. Nat. 71: 177-188.

GÜRTLER, RE, M.C. CECERE, J.E. COHEN, M.A. LAURICELLA, R CHUIT Y SEGURA E L. 1998. Influence of humans and domestic animals on the household prevalence of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma infestans* populations in northwest Argentina. Am J Trop Med. Hyg. 58: 748 – 758.

HEYMANN D L, 2005. EL Control de las Enfermedades Transmisibles. Publicación Científica y Técnica N° 613, Informe oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública, Organización Mundial de la Salud Decimoctava edición. 666-670 pp.

MACHADO E., FERNADEZ A.J., SILVANE M.F. MURTA, VITOR W.A. R, CAMILOJUNIOR D.J., PINHEIRO SIMONE W., REIS LOPES E, ADAD SHEILA J, ROMANHA A.J., and PINTO DIAS JC. 2001. Estudio de la reinfección por *Trypanosona cruzi* en perros. Centro de Pesquisas Rene Rachou, Fiocruz, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil; Departamento de Parasitología, Universidad de Medicina Do Triangulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brasil. Am. J. Trop. Med. Hyg, 65(5): 958-965.

NATTERO, J.; CROCCO, L.; RODRIGUEZ, C. 2002. Feeding and Defaecation Behaviour of *Triatoma patagonica* (Del Ponte, 1929) (Hemiptera: Reduviidae). Mem. I. Oswaldo Cruz. 91: 1063-1065.

NOGUEDA, B.; ALEJANDRE, R.; ISITA, L.; CAMACHO, A. 2000. Defecation Pattern in Seven Species of Triatomines (Insecta, Reduviidae) Present in México. Rev. Latinoam. Microbiol. 42: 145-148.

OPS, 2003 .Informe XII Reunión de la Comisión Intergubernamental del Cono Sur para la eliminación de *Triatoma infestans* y la Interrupción de la Transmisión Transfucional de la Tripanosomiasis Americana (INCOSUR/ Chagas), Evaluación Programa Chagas. Ed. OPS/AD/DPC/CD/250. Santiago Chile, 2003

OPS, 1994. La Enfermedad de Chagas y el Sistema Nervioso. Publicación Científica N° 547. 3 -23 pp.

PAHO, 2006. Vigilancia de la infección de *Trypanosoma cruzi* en perros y gatos en una zona rural del noreste de Argentina, Rev. Panam. Salud Publ. 20(5):348.

PINTO, R.; GRACAS, L.; SOARES, L.; DIOUTAUTI, L. 2000. Population Dynamics and Feeding Behavior of *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata*, Main Vectors of Chagas Disease in Northeastern Brazil. Mem. I. Oswaldo Cruz. 95: 151-155

REYES L, SILESKY E, CERDAS C, CHINCHILLA M, GUERRERO O. 2002 Presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en perros de Costa Rica. Parasitol. Latinoam. 57 (1-2): 66-68.

SCHOFIELD, JC. 1994. Triatominae, biología y control. Eurocomunica Publications. Oeste, Inglaterra. 80 p.

SILVEIRA A C, ROJAS DE ARIAS A, SEGURA E, GUILLEN G, RUSSOMANDO G, SCHENONE H, PINTO DÍAS J C, VALDÉS PADILLA J, LORCA M, SALVATELLA R, 2002. El Control de la Enfermedad de Chagas en los países del cono sur de América, 2002 Historia de una iniciativa internacional 1991/2001. 251-265 pp.

VALDES J, CORREA V, MELENDEZ F, MEJIAS G, PARRA A, SEGURA J A, LORCA M, 1999. Criterios Técnicos para la Eliminación del *Triatoma infestans* en Chile, Ministerio de Salud, Gobierno de Chile. 5-23 pp.

ZELEDON, R. 1983.Vectores de la enfermedad de Chagas y sus características ecofisiológicas. Interciencia 8: 384- 393.