



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



SELECCIÓN DE HOSPEDERO POR *Mepraia spinolai*
(HEMIPTERA: REDUVIDAE), BAJO CONDICIONES
DE LABORATORIO

Juana Paola Correa Galaz

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

Profesor Guía: Dr. Pedro Cattán A.

Financiamiento: FONDECYT N° 1040711

SANTIAGO, CHILE
2006



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



SELECCIÓN DE HOSPEDERO POR *Mepraia spinolai*
(HEMIPTERA: REDUVIDAE), BAJO CONDICIONES
DE LABORATORIO

Juana Paola Correa Galaz

| | | Calificación | Firma |
|----------------------------|----------------------------|---------------------|--------------|
| Profesor Guía: | Dr. Pedro Cattán | | |
| Profesor Consejero: | Dr. Fernando Fredes | | |
| Profesor Consejero: | Dr. Rigoberto Solís | | |

SANTIAGO, CHILE
2006

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia y amigos que, con su compañía y apoyo, me han ayudado en este camino para convertirme en profesional.

Agradezco asimismo a las personas que trabajan en el laboratorio de Ecología de la facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, las que me apoyaron de distintas e impensadas maneras mientras desarrollé mi memoria en esas dependencias.

Los esfuerzos durante los dos años de realización de esta memoria, habrían sido titánicos sin la ayuda y compañerismo de Alejandra, Mariana y Antonella. Gracias por estar siempre en el momento preciso.

Agradezco sobremanera al Dr. Pedro Cattán, quien primero me permitió trabajar en su proyecto, y luego que nos enfrascamos en el desafío, me aconsejó y apoyó en todo momento. Sin su ayuda me habría costado terminar con tanta motivación este proceso, así como continuar con ánimos nuevos mi desarrollo profesional y personal.

Gracias Juan por recordarme que puedo soñar, y que el final es menos relevante que el camino andado.

Agradezco al proyecto FONDECYT n° 1040711, por financiar la realización de esta memoria.

INDICE

| | Página |
|---|--------|
| RESUMEN..... | 1 |
| SUMMARY..... | 3 |
| INTRODUCCION..... | 5 |
| REVISION BIBLIOGRAFICA..... | 7 |
| Enfermedad de Chagas..... | 7 |
| <i>Trypanosoma cruzi</i> | 12 |
| Vectores de la enfermedad de Chagas..... | 14 |
| Alimentación en Triatominos..... | 18 |
| 1. Temperatura..... | 20 |
| 2. CO ₂ y olor..... | 21 |
| 3. Vapor de agua..... | 22 |
| Conducta de alimentación en <i>Mepraia spinolai</i> | 23 |
| OBJETIVOS..... | 24 |
| MATERIAL Y METODOS..... | 25 |
| RESULTADOS..... | 32 |
| Objetivo específico 1..... | 32 |
| Objetivo específico 2..... | 37 |
| Objetivo específico 3..... | 41 |
| DISCUSION..... | 51 |
| CONCLUSIONES..... | 55 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 56 |

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 dos vectores reconocidos de la enfermedad de Chagas: *Triatoma infestans* (ciclo doméstico) y *Mepraia spinolai* (ciclo silvestre), denominadas vulgarmente como vinchucas. Estos artrópodos al adaptarse a una alimentación exclusiva de sangre han desarrollado modificaciones anatómicas, fisiológicas y conductuales. Existen diversos factores claves de sus potenciales hospederos que le permiten al insecto realizar con éxito la detección y selección de éstos. Entre los más relevantes se pueden citar la temperatura superficial, CO₂, estímulos visuales, olfativos y factores nutricionales de la sangre.

El objetivo de esta memoria fue determinar la selección de hospedero por *M. spinolai* bajo condiciones de laboratorio, ocupando como modelos a dos hospederos habituales de este insecto: *Oryctolagus cuniculus* (conejo europeo) y *Octodon degus* (degu). Se estableció la capacidad de *M. spinolai* de seleccionar entre estos dos hospederos en función de la diferencia de temperatura superficial radiante, del CO₂ y olor emitido por estos hospederos, como factores de atracción efectivos para el insecto.

En el laboratorio se confrontaron insectos de terreno y laboratorio, frente a conejos (adultos y juveniles) y degus (adultos). Se construyeron tres tipos de dispositivos con el fin de que el insecto, estando expuesto según fuera el caso sólo a la temperatura, sólo al olor (con o sin supresión del CO₂) o a todos los factores de atracción emitidos por hospederos, pudiera seleccionar a uno de los mamíferos. Se monitoreó la temperatura ambiental y superficial de los hospederos, el CO₂ emitido y la humedad ambiental, además se midió la frecuencia de elección de hospedero y la latencia de elección.

Se observó que vinchucas de terreno, enfrentadas a gabinetes con o sin hospedero, seleccionaron significativamente más los que alojaron a un animal adulto ($p < 0,02$). Cuando los insectos fueron confrontados al par degu adulto/conejo juvenil, demoraron menos tiempo en elegir al degu ($p = 0,025$). Cuando los insectos estuvieron expuestos sólo a la temperatura superficial, prefirieron al conejo adulto ($p < 0,05$), excepto los insectos de terreno que prefirieron al roedor cuando

este fue confrontado al conejo juvenil ($p < 0,05$). En el experimento en que a las vinchucas sólo se les permitió percibir el olor de los mamíferos, los insectos prefirieron conejos a los que no se les suprimió su emisión de CO_2 ($p < 0,001$) demorándose menor tiempo las vinchucas de terreno en seleccionar a sus hospederos ($p = 0,01$). Los resultados de los otros experimentos que evaluaron la importancia del olor y CO_2 emitido por los hospederos, no permiten realizar afirmaciones concluyentes respecto a preferencia e importancia de claves olfativas.

Con los datos obtenidos se puede concluir que *M. spinolai* prefiere y selecciona hospederos adultos, sin que pareciese importar el efecto especie. Además el insecto es más atraído por fuentes térmicas cuya magnitud sobrepase la temperatura ambiental, cuando ésta se encuentra dentro de su rango óptimo de preferencia. Cuando a las vinchucas se les permitió estar en contacto sólo con el olor emitido por los potenciales hospederos, hubo una clara preferencia sólo por el conejo al que no se le suprimió su emisión de CO_2 . Estos resultados nos indican que bajo condiciones de laboratorio, la temperatura superficial y el olor son los estímulos más relevantes en la decisión de selección de hospedero por parte de *M. spinolai*. Además, se puede suponer que las claves emitidas por los hospederos deben sobrepasar un umbral sobre el cual *M. spinolai* va a elegir oportunísticamente.

SUMMARY

The Chagas disease is a zoonosis extensively distributed in America, and is caused by the protozoon *Trypanosoma cruzi*. It is transmitted mainly through the dejections of bloodsuckers insects of the subfamily Reduviidae. Two vectors of the Chagas disease are recognized in Chile: *Triatoma infestans* (domestic cycle) and *Mepraia spinolai* (wild cycle). These arthropods have developed physiological, anatomical and behavioral modifications to adapt to an exclusive diet of blood. There are diverse key factors of their potential hosts that permit the insect to reach successfully the process of detection and selection of the prey. Among the most prominent, are the superficial temperature, CO₂, smell, visual stimuli and nutritious factors of the blood.

The aim of this memory was to determine the host selection by *M. spinolai* under laboratory conditions, occupying as models two habitual hosts of this insect: *Oryctolagus cuniculus* (european rabbit) and *Octodon degus* (degu). It was established the capacity of *M. spinolai* to select between these two hosts, and also the importance of the radiant superficial temperature differences, the smell and the CO₂ emitted from these hosts like factors of effective attractiveness for the insect.

In the laboratory, we confronted wild insects and laboratory reared insects, against rabbits (adult and juvenil) and degus (adult). Three types of devices were built to expose the insect only to the temperature, only to the smell or to both factors of attraction emitted by the two hosts. The environmental and the surface temperature of the hosts were monitored as well as the CO₂ emission and the environmental humidity.

It was observed that wild vinchucas, faced to cabinets with or without host, selected significantly the ones that lodged to an adult animal ($p < 0,02$). When the insects were confronted to juvenil degu/adult rabbit, they delayed less time in electing to the degu ($p = 0,025$). When the insects were exposed only to the superficial temperature, they preferred to adult rabbit ($p < 0,05$), except the wild insects that preferred to degu when this was confronted to juvenil rabbit ($p < 0,05$). In the experiment that permitted to perceive only the smell of the mammals, the insects preferred to rabbits that were not suppressed them its emission of CO₂ ($p < 0,001$) and the wild vinchucas delayed less time in selecting its hosts ($p < 0,01$). The results of the other experiments that evaluated the importance of

the smell and CO₂ emitted by the hosts do not permit to carry out conclusive affirmations with respect to preference and importance of olfactory keys.

We can conclude that *M. spinolai* prefers and selects adult hosts, without seeming to import the species effect. Also the insect is more attracted for thermal sources whose magnitudes surpass the environmental temperature, when this is found inside its optimum rank of preference. Our results indicate that under laboratory conditions, the superficial temperature and the smell are the most important elements in the decision of selection of *M. spinolai*. Also it can be supposed that the keys emitted by the hosts should surpass a threshold on which *M. spinolai* is going to elect conveniently.

INTRODUCCION

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, es una zoonosis parasitaria que afecta al hombre y a otras especies de mamíferos silvestres y domésticos, y se encuentra ampliamente distribuida en América. Fue descrita a principios del siglo pasado por el médico brasileño Carlos Chagas, de quien tomó su nombre (**Schofield, 1994**). Esta enfermedad es causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, cuyo ciclo vital implica como vectores a insectos hematófagos de la subfamilia Triatiominae. Estos insectos transmiten al protozoo mediante sus deyecciones en las cuales se encuentran las formas infectantes del parásito, el que penetra a través de mucosas o piel erosionada. Existen dos ciclos de transmisión vectorial: doméstico y silvestre, dependiendo de los insectos y de los mamíferos que actúen como reservorios

Existen más de sesenta especies de triatominos en América infectados con *T. cruzi*. Estos artrópodos son hematófagos estrictos, y en su camino evolutivo han desarrollado modificaciones morfológicas, fisiológicas y conductuales para adaptarse a una alimentación basada en sangre (**Schofield, 1994**). En el proceso de alimentación del insecto, existen factores claves que ayudan al insecto a realizar con éxito la búsqueda y posterior alimentación de un hospedero. En la detección de una potencial fuente de alimentación, son factores relevantes:

- Estímulos térmicos: actúa a cortas distancias, la detección está mediada por receptores que se encuentran en las antenas. Los triatominos son capaces de detectar variaciones en la temperatura ambiental y detectar una fuente de calor a distancia (**Lazzari y Núñez, 1989; Schofield, 1994; Flores y Lazzari, 1996**).
- Estímulos odoríferos (CO₂ y otros compuestos): han sido descritas varias sustancias aromáticas capaces de provocar un movimiento positivo de triatominos hacia la fuente de emisión (**Núñez, 1982; Rose y Boeckh, 1996 y 1998; Taneja y Guerin, 1997; Guerenstein y Guerin, 2001**); El CO₂ ha sido señalado como fuente de atracción efectivo para triatominos en condiciones de laboratorio y terreno (**Botto-Mahan et al, 2002; Barrozo et al, 2004; Barrozo y Lazzari, 2004**). Sus receptores también se encuentran en las antenas.

- Vapor de agua: actúa a cortas distancias (**Barrozo et al, 2003**).

En Chile se describen dos vectores de la enfermedad de Chagas: *Triatoma infestans* (vector doméstico) y *Mepraia spinolai* (vector silvestre). La transmisión doméstica de la enfermedad ha sido virtualmente eliminada mediante la erradicación del vector doméstico (**WHO, 2000**). Se han descrito numerosas especies de mamíferos domésticos y silvestres que participan en la dieta de estos insectos, actuando como reservorios de la enfermedad. Dentro de estos se incluyen cánidos, félidos, roedores, lagomorfos y ungulados (**Ríos et al, 1986; Apt y Reyes, 1994; Schofield, 1994**).

Uno de los riesgos en el control de la tripanosomiasis americana, es la domiciliación de vectores silvestres en zonas en que se ha erradicado al vector doméstico. En este contexto, es relevante el hallazgo de abundantes poblaciones de *M. spinolai* en las cercanías de localidades humanas (**Cattan et al, 2002**), e incluso un reporte de una población del insecto habitando dentro de una vivienda (**Schenone et al, 1995**). Por otra parte, debido a que no se ha encontrado la enfermedad en hospederos silvestres habituales de triatomíneos vectores de la enfermedad de Chagas, se ha propuesto que existiría un proceso coevolutivo, en el que las cepas del protozoo asociadas a mamíferos de antigua data en Sudamérica, serían menos virulentas (**Schofield, 2000 b**). El conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*), especie recientemente introducida a Chile (**Jaksic, 1998**), es parte de la dieta de *M. spinolai* (**Canals et al, 1998 y 2001; Rengifo, 2000**). Este mamífero posee abundantes poblaciones silvestres en la zona endémica de la enfermedad de Chagas, acercándose a las áreas periurbanas y siendo utilizado con fines cinegéticos y de crianza. Por tal su reciente data en el país y su cercanía a poblaciones humanas, podría constituir un ente relevante en el potencial acercamiento a viviendas humanas y domiciliación del vector.

El objetivo de la presente memoria es determinar la capacidad de *M. spinolai* de seleccionar entre hospederos, ocupando como modelos a dos mamíferos altamente representados en la dieta del insecto: conejo doméstico (*O. cuniculus*) y degu (*Octodon degus*). Se evaluará la importancia de estímulos térmicos y odoríferos emitidos por estos animales en el proceso de detección y selección del insecto.

REVISION BIBLIOGRAFICA

Enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una zoonosis descrita en 1909 por el médico brasileño Carlos Chagas, quien identificó al agente etiológico (*Trypanosoma cruzi*) y realizó la primera aproximación para explicar el ciclo de transmisión de esta patología (Schofield, 1994). La enfermedad está distribuida desde el paralelo 35° de latitud norte (LN) (EE.UU.), al paralelo 34,5° de latitud sur (LS) (Chile) y 45° de LS (Argentina) (Apt y Reyes, 1990) (Figura 1). Mundialmente se estima una población infectada de más de 16 millones de personas, con 100 millones más en riesgo (WHO, 1991). Las tasas de infección en el cono sur de Sudamérica fluctúan entre 1,2% (Uruguay) y 18,2% (Bolivia) (OPS, 2003), y existe una incidencia de 500 mil nuevos casos al año. Esta enfermedad constituye un grave problema para la salud pública por sus costos médicos, económicos y sociales; según Schofield (1994) los costos indirectos de la enfermedad ascenderían a una cifra superior a US \$2000 millones/año para el continente americano y la pérdida anual por incapacidad equivaldría a US\$ 6,5 billones por año (Schofield, 1994; Dias y Schofield, 1999). Como la enfermedad suele afectar principalmente a comunidades rurales pobres, se transforma en un problema social en el que las medidas de control también impactan en un mejoramiento de la calidad de vida de la población humana (Dias y Schofield, 1999).

La enfermedad de Chagas posee dos ciclos de transmisión (doméstico y silvestre), ambos involucran insectos vectores hematófagos oportunistas, y hospederos mamíferos domésticos y/o silvestres que constituyen el reservorio de la enfermedad. La principal forma de adquirir la tripanosomiasis es la vectorial (más del 80% de las transmisiones), sin embargo existen otras formas porcentualmente menos relevantes de contraer la enfermedad tales como: transfusiones de sangre (16%), transmisión congénita (2%), transplante de órganos, accidentes de laboratorio, transmisión oral, etc. (Schofield, 1994).

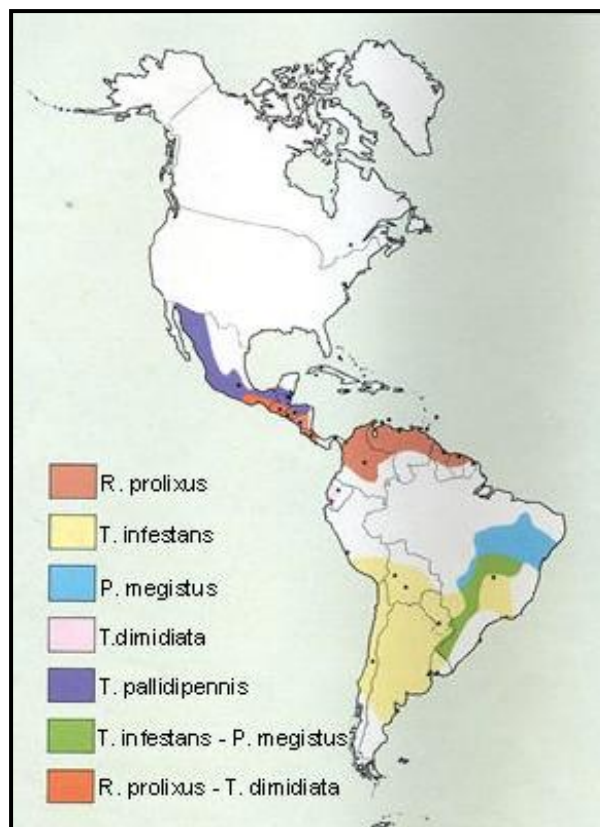


FIGURA 1. Distribución de la enfermedad de Chagas y de sus principales vectores (www.ciencia-hoy.retina.ar).

La transmisión vectorial implica el contagio de un mamífero susceptible a través de las deyecciones de insectos triatomínicos, en las cuales se encuentra el protozoo infectante. El insecto durante o después de alimentarse defeca y el protozoo puede penetrar al organismo a través de la piel erosionada o por las mucosas. En el mamífero existe una replicación local del parásito, posterior parasitemia y migración a distintos órganos donde prolifera nuevamente. Un triatómino no infectado puede adquirir al protozoo cuando se alimenta de un hospedero con parasitemia. En el intestino medio del insecto existe replicación del parásito y posterior migración al recto donde se liberan formas infectantes del protozoo con la deyección (Schofield, 1994). El ciclo doméstico de la enfermedad relaciona como vectores a triatóminos de hábitos domésticos y peridomésticos, y como hospederos al hombre y a mamíferos antrópicos y sinantrópicos. El ciclo silvestre de la enfermedad en tanto, implica

a triatomos silvestres y a sus hospederos relacionados (roedores, carnívoros, ungulados, etc.) (Figura 2) (Canals *et al*, 1998).

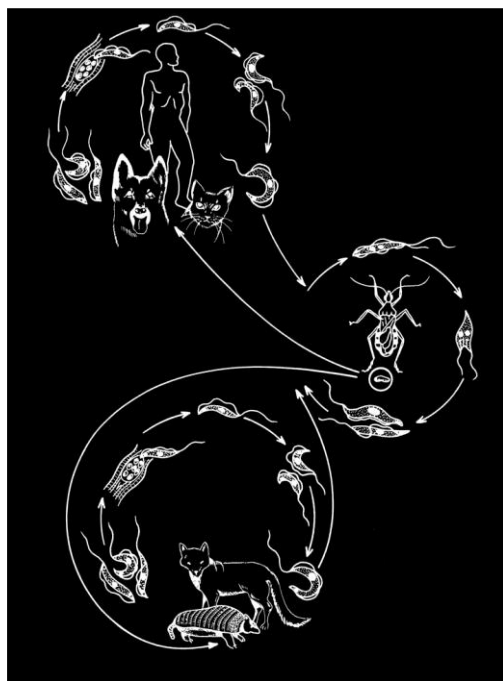


FIGURA 2. Ciclos doméstico y silvestre de la enfermedad de Chagas (Atias, 1991).

En América, más de la mitad de las cien especies de triatomos descritas, se han hallado natural o artificialmente infectadas con *T. cruzi* (Schofield, 1994). Así también se ha descrito infección natural por *T. cruzi* en más de 100 especies de mamíferos silvestres en América, incluyendo marsupiales, edentados, quirópteros, carnívoros, roedores, lagomorfos y primates. Dentro de las especies domésticas, las más relevantes son el perro, gato, ratones sinantrópicos y ungulados (cabra, caballo, burro, etc.). A pesar que algunas especies de triatomos se alimentan de aves, éstas son resistentes a la infección debido a que existe lisis del parásito mediada por complemento en la sangre aviar (Apt y Reyes, 1986; Schofield, 1994). Los principales reservorios naturales son el hombre, el perro y el armadillo (Anon., 2000). En Chile los principales reservorios domésticos de la enfermedad de Chagas son: perros con una prevalencia de 19,8%, seguido de los bovinos (13,4%), los equinos (15,8%) y las mulas (17,8%) (Ríos *et al*, 1986).

En el hombre la enfermedad de Chagas luego de un periodo de incubación de 4 a 10 días, puede presentarse de forma aguda y/o crónica. En la tripanosomiasis aguda ocurre inflamación local de

la zona de la picada pudiendo producirse una llaga (chagoma), y el signo de Romaña si la picada es cerca del ojo (conjuntivitis, edema palpebral unilateral y adenopatía preauricular, Figura 3). Esta manifestación se da principalmente en niños, dura entre 2-4 meses y su mortalidad sin tratamiento es de 5-10% (Schofield, 1994; Prata, 2001). Un tercio de los casos agudos evoluciona a enfermedad crónica luego de un periodo de latencia de entre 10 a 30 años, y los signos son expresiones del compromiso de ciertos órganos (corazón, esófago, colón y sistema nervioso periférico) principalmente por daño de músculos no estriados y desordenes de la conducción nerviosa (WHO, s. f.). La cardiopatía crónica chagásica es la más grave manifestación y causa la mayoría de los decesos por falla cardiaca, los mega síndromes digestivos afectan a menos del 10% de los enfermos (Schofield, 1994; Dias y Schofield, 1999; Prata, 2001).

En la fase aguda se utilizan dos medicamentos, niturfimox y benznidazol, con altas probabilidades de cura si es utilizado al inicio de la enfermedad. No existe tratamiento farmacológico efectivo de la enfermedad crónica, solo tratamiento sintomático para las patologías cardiacas y digestivas (Schofield, 1994).



FIGURA 3. Signo de Romaña, causada por la picada del triatomino cerca del ojo (www.jyi.org).

Desde el descubrimiento de la enfermedad de Chagas se ha intentado conocer detalladamente su epidemiología, diagnóstico y tratamiento. Cuando Carlos Chagas describió el ciclo epidemiológico de la patología, dio las primeras recomendaciones para el control de la enfermedad, las que se basan

principalmente en prevenir la infección, pues no existen vacunas efectivas y tratamientos eficientes para la enfermedad crónica. Las medidas contra la enfermedad se basan en **(Dias y Schofield, 1999)**:

- El control químico y físico de los vectores domésticos a través de insecticidas, mejoramiento de las viviendas infestadas y educación en salud de la población;
- El control de la transmisión transfusional por métodos farmacológicos, testeo de donantes de sangre y encuestas;
- El control de la transmisión congénita, con el diagnóstico de los recién nacidos de madres seropositivas y posterior tratamiento;
- El control de la transmisión por transplante de órganos, con la serología prequirúrgica en las áreas endémicas y
- El control de la transmisión accidental, con medidas de bioseguridad y educación de los trabajadores de laboratorio.

En Argentina y Brasil desde el siglo pasado existen esfuerzos de control. En 1991 en Brasilia, a partir de la “Iniciativa en Salud de los Países del Cono Sur” (INCOSUR) que agrupa a los gobiernos de Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay, se creó una comisión intergubernamental para controlar la transmisión vectorial de la enfermedad, erradicando al vector doméstico *Triatoma infestans* y a cualquier triatomino secundario, y la interrupción de la transmisión transfusional a través del mejoramiento de los bancos de sangre y mejor selección de donantes **(OPS, 2003)**. Actualmente la incidencia de la infección ha disminuido entre un 60% a 99% **(WHO, s. f.)**, la transmisión vectorial ha sido interrumpida en varias zonas de Argentina, Brasil y Paraguay, y en todo Chile y Uruguay, y existe la obligatoriedad de realizar pruebas serológicas en los donantes de sangre de la mayoría de los países. Los desafíos actuales son en relación al control y vigilancia de los triatominos secundarios, los que podrían eventualmente invadir los hogares en los que se eliminó *T. infestans* **(Dias y Schofield, 1999)**.

En Chile desde inicios de los ‘80 han habido esfuerzos para erradicar a *T. infestans* de los hogares infestados, y en 1995 se comenzó a trabajar bajo los lineamientos de Brasilia 1991. Actualmente, se estiman unas 142.000 personas infectadas, tasa de mortalidad de 0,4 por 100.000 habitantes (1997) **(OPS, 2003)**. La incidencia ha disminuido en un 99% entre 1983-1999 **(WHO, s. f.)**, la infestación de casas ha disminuido del 20 al 0,1% entre 1983-1996, y la infección en niños bajó del 7,2 al 0,1% en el mismo periodo **(Dias et al, 2002)**. En diciembre de 1999 se declaró a Chile libre de la transmisión vectorial **(WHO, 2000)**.

Trypanosoma cruzi

El protozoo flagelado *T. cruzi* (orden Kinetoplastida, familia Trypanosomatidae) (Figura 4), es el agente causal de la enfermedad y es transmitido principalmente por insectos vectores hematófagos de la subfamilia Triatominae (Barrett *et al*, 2003).

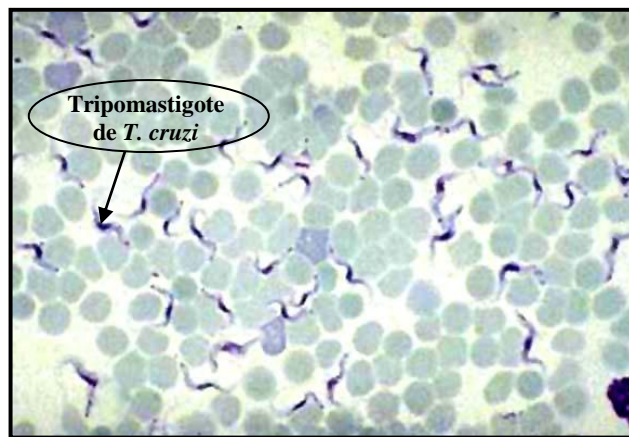


FIGURA 4. Frotis de sangre de perro, en el que se observa a *T. cruzi* en su fase de tripomastigote (<www.med-chem.com>).

Existen diversas clasificaciones de este parásito. De acuerdo a su polimorfismo enzimático existen 3 zimodemos; Z1 asociado a mamíferos del género *Didelphis* (zarigüeyas) y a sus triatominos relacionados; Z2 asociado al género *Cavia* (cuyes) y a *T. infestans*, encontrado solo al sur del Amazonas; y Z3 relacionado con *Dasytus* spp (armadillos) y a triatominos del género *Panstrongylus* (Schofield, 1994). Z1 y Z2 son los grupos principalmente aislados en humanos enfermos.

De acuerdo a marcadores moleculares (RAPDs) se dividió al protozoo en linaje 1 (el antiguo Z2) y linaje 2 (Z1). Actualmente se considera que existen dos divisiones principales para este parásito denominadas *T. cruzi* I (TCI, ex linaje 2) y *T. cruzi* II (TCII, ex linaje 1). TCI es común al norte de la cuenca del Amazonas y es aislada frecuentemente en las zarigüeyas, mientras que en los países del cono sur de Sudamérica (Argentina, Brasil, Bolivia, Chile, Paraguay y Uruguay) predomina TCII la

que está asociada a armadillos (**Schofield, 2000 b; Yeo et al, 2005**). Esta fuerte relación entre el parásito y sus hospederos mamíferos indicaría una historia evolutiva común en la que TCI evolucionó en torno a *Didelphis*, los triatomínicos de la tribu Rhodnini y al ecotopo de árboles de palma (**Gaunt y Miles, 2000**) ingresando al ámbito doméstico a través de *Rhodnius prolixus*. El descubrimiento de *T. cruzi* infeccioso en las glándulas anales de las zarigüeyas, podría indicar transmisión directa del parásito por intermedio de las secreciones de estas glándulas (**Schofield, 1994**). TCII se desarrolló inicialmente en armadillos y posteriormente en roedores terrestres y semifosoriales, sin embargo el proceso mediante el cual este linaje de *T. cruzi* pasó del ciclo silvestre al doméstico, transformándose en el principal responsable de la enfermedad de Chagas, aun no está claro (**Yeo et al, 2005**). Actualmente se postula que las zarigüeyas serían el hospedero y vector original de *T. cruzi* y que inicialmente el protozoo se habría transmitido a través de las secreciones anales y la orina de estos mamíferos. Posteriormente, cuando los triatomínicos comenzaron a adaptarse a una alimentación basada en mamíferos constructores de nidos (como las zarigüeyas), se habría producido la relación entre el protozoo y los triatomínicos, los que comenzaron a difundir al parásito luego de alimentarse de animales infectados (**Schofield, 2000 b**).

Se han encontrado evidencias genéticas de *T. cruzi* y de lesiones atribuibles a la enfermedad de Chagas en momias chilenas con una data de 4000 años AC (**Guhl et al, 1999**). Se cree que en Bolivia se habría producido el acercamiento del vector *T. infestans* al humano, a través de la crianza para alimentación por parte de pueblos precolombinos, del cobayo o conejillo de indias (*Cavia porcellus*) el que es un alimento habitual de este insecto. Luego de este proceso de domesticación, el vector se habría difundido por medio de migraciones de tribus preincaicas y posteriormente de trabajadores hacia el norte de Chile, Argentina, Brasil y Paraguay (**Schofield, 1988**). También es relevante en el acercamiento de los triatomínicos al ámbito doméstico, la modificación de los ciclos de transmisión silvestres mediante la alteración antrópica de los ecosistemas y la utilización por parte de los triatomínicos de casas rurales como lugares adecuados para alimentarse del hombre y de sus animales domésticos (**Maekelt, 1983; Schofield, 1994**).

La enfermedad de Chagas se ha descrito en el hombre, algunos animales domésticos (ej. perro, gato, bóvidos y équidos) y roedores múridos, sin embargo, no se ha notificado la enfermedad en hospederos silvestres habituales de las vinchucas (zarigüeyas, armadillos y roedores cricétidos). Esto podría indicar que la relación existente entre mamíferos de antigua data en América y *T. cruzi* podría haber conducido a una menor virulencia condicionada por coevolución (**Schofield, 2000 b**).

Vectores de la enfermedad de Chagas

Los insectos de la subfamilia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vulgarmente conocidos de variadas formas (chupos, chirimachas, pitos, chinches aladas, barbeiros, conenose-bus, kissing bugs y vinchucas) (**Atias, 1991**), están constituidos por cerca de 130 especies, divididos en cinco tribus (Alberproseniini, Bolboderini, Cavernicolini, Rodniini y Triatomini) y 14 géneros distribuidos en América, Africa, Asia y Australia. Todos poseen cinco estadios ninfales (Figura 5) y hematofagia obligada y han desarrollado modificaciones morfológicas y fisiológicas que los diferencian de los otros integrantes de familia Reduviidae y que les permiten adaptarse al consumo de sangre, como por ejemplo una conexión membranosa entre el segundo y el tercer segmento rostral que les permite la flexión del tercer segmento al picar (**Lent y Wygodzinsky, 1979; Schofield, 1994**).

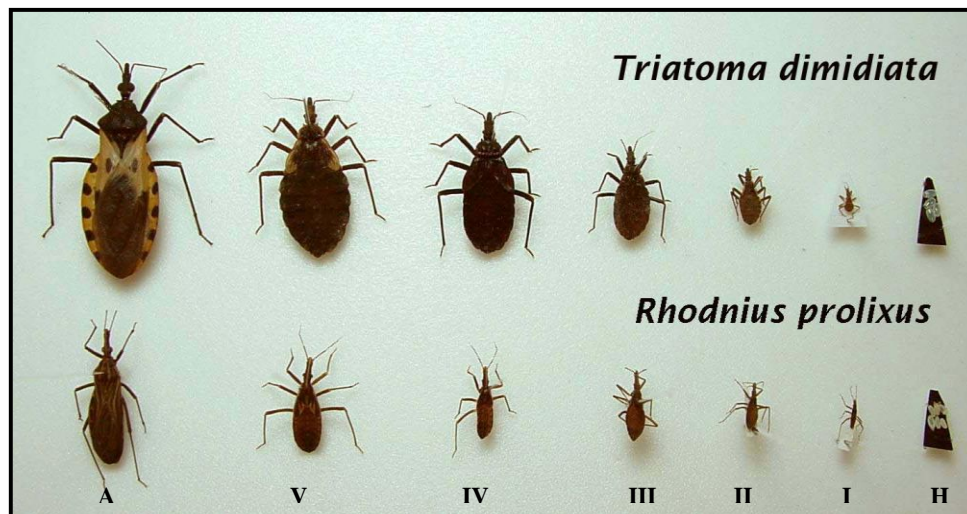


FIGURA 5. Estadio adulto (A), ninfas (I al V) y huevo (H) de *T. dimidiata* y *R. prolixus* (<www.paho.org>).

Se cree que estos insectos pasaron de tener hábitos predatorios sobre invertebrados que habitaban en nidos, a alimentarse de vertebrados habitantes de nidos, en un proceso que terminó con una dependencia hacia el hospedero para la dispersión del insecto. La tendencia evolutiva llevaría a

estos artrópodos a ocupar hábitats particulares, alimentándose de cualquier fuente vertebrada de alimentación que habite estos ambientes (**Schofield, 1994; Schofield, 2000 a**). La mayoría de las especies de triatomíneos ocupan hábitats silvestres y están estrechamente asociadas a los hospederos vertebrados que ocupan esos lugares. Existen especies silvestres especialistas en su alimentación (ej. *Cavernicola pilosa* que se alimenta exclusivamente de murciélagos; o especies del género *Psammolestes* que se alimentan solo de aves furnáridas); y otras que tienen hábitos más generalistas y se distribuyen en un amplio rango de hábitats (*T. sordida* y *M. spinolai*) (**Schofield, 2000 a**).

Se ha descrito infección natural con *T. cruzi* en cerca de 60 especies de triatomíneos, sin embargo, todas son potenciales vectores de la enfermedad y cobran particular importancia aquellas especies silvestres o secundarias con potencial riesgo de colonizar la vivienda humana (**Canals et al, 1994; Schofield, 1994**). En los últimos años, luego de los exitosos resultados de los planes de erradicación de los vectores domésticos de la enfermedad de Chagas, se ha notificado invasión y posible colonización de peridomicilio y viviendas humanas, de algunas especies que habían sido consideradas estrictamente silvestres. En Uruguay *T. rubrovaria*, especie silvestre habitante de pedregales, puede colonizar el domicilio y peridomicilio y alimentarse de sangre humana, en una zona en que el principal vector doméstico es o era *T. infestans* (**Salvatella et al, 1991**). En Brasil en tanto, la especie silvestre *T. tibiomaculata* en la cual se ha aislado *T. cruzi*, ha sido encontrada en viviendas humanas en una zona en que se había controlado a las especies vectores domésticas (**Dias-Lima y Sherlock, 2000**). Similar proceso ha ocurrido en Colombia con *P. rufotuberculatus* (**Wolff y Castillo, 2002**). Así también en Bolivia existe un proceso temprano de colonización del vector silvestre *R. stali*, en un sector con alta alteración de los hábitats silvestres, en que *T. infestans* ha sido erradicada de las casas. Hoy se considera el más probable responsable de los casos de seropositividad de enfermedad de Chagas en la población de la zona (**Matias et al, 2003**).

El proceso de domesticación de vectores silvestres, podría estar mediado por: transporte pasivo a través de sus hospederos vertebrados, dispersión activa a través del vuelo, atracción a las casas por radiación UV, olores de posibles hospederos o fuentes de calor radiante (**Schofield et al, 1999**). Según el grado de adaptación a la vivienda humana los triatomíneos se pueden clasificar en (**Maekelt, 1983**):

- Bien adaptados a la vivienda humana, con algunos focos silvestres y diseminación pasiva por el hombre (ej. *T. infestans*)
- Triatomíneos de focos silvestres adaptados en menor o mayor grado a las viviendas humanas (ej. *T. sordida*).

En América los géneros más importantes en la transmisión de la enfermedad de Chagas son: *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus*, los que son fácilmente diferenciables por la forma de su cabeza y la distancia entre sus ojos y la inserción de las antenas (**Schofield, 1994**). Los principales vectores del ciclo doméstico son: *T. infestans* (cono sur de Sudamérica), *T. brasiliensis* (Brasil), *R. prolixus* (Venezuela, Colombia y Centroamérica) y *P. megistus* (Brasil). En tanto que los principales vectores del ciclo silvestre son: *T. dimidiata* (Centroamérica y norte de Sudamérica), *T. sordida* (Brasil, Paraguay y Norte de Argentina) (**Schofield, 1994**) y en Chile *M. spinolai* (**Canals et al, 1994**).

En Chile existen tres especies de triatominos: *T. infestans* (ciclo domiciliario), *M. spinolai* (vector silvestre), y *M. gajardoi* recientemente descrita por **Frías et al (1998)** en la zona costera del norte de Chile (18° a 26° LS) y cuya importancia en la enfermedad está en estudio. En Chile los ciclos doméstico y silvestre de la enfermedad no estarían separados, existiendo genotipos de *T. cruzi* comunes a los vectores domésticos y silvestres (**Solari, 1998**).

Triatoma infestans Klug, 1834 (Figura 6) es el principal vector de la enfermedad de Chagas en Chile y en los países del cono sur de Sudamérica (**Apt y Reyes, 1986**). Se distribuye desde Bolivia por el norte, hasta la Patagonia Argentina y la zona central de Chile por el sur. Es un insecto de hábitos nocturnos y casi exclusivamente doméstico, existiendo algunas poblaciones silvestres en Bolivia (**Noireau et al, 2005**). En Chile se encuentra distribuido entre los 18° y 34,5° de LS (**Apt y Reyes, 1986**). En nuestro país se han reportado tasas de infección de *T. cruzi* en el vector de 32,5% (**Ordenes et al, 1996**). Se alimenta preferentemente de sangre humana (68%) y también de gatos, perros, aves, cabras y algunos roedores (**Maekelt, 1983**).



FIGURA 6. *T. infestans* adulto (icb.usp.br).

Mepraia spinolai Porter, 1834 (revalidada por **Lent et al, 1994**), es el único vector silvestre de la enfermedad de Chagas en Chile (**Canals et al, 1994**). Es una especie endémica de Chile y se distribuye entre los paralelos 18° y 34° de latitud sur, desde el nivel de mar hasta los 3000 m. de altura. Su hábitat corresponde a zonas pedregosas, madrigueras de animales y aves, corrales y pircas periantrópicas y ocasionalmente en viviendas humanas y sus cercanías (**Apt y Reyes, 1986; Schenone et al, 1995**). Es una especie diurna y oportunista (**Schofield, 1994**) con mayor actividad en la fotofase (08:00 a 20:00 hrs.) (**Canals et al, 1997**), que se alimenta tanto de animales de hábitos diurnos como nocturnos (**Jiménez y Lorca, 1990**). Es la única especie de triatomino que presenta polimorfismo alar en los machos adultos, existiendo individuos macrópteros, braquípteros o micrópteros, en tanto que las hembras son siempre micrópteras (**Frias et al, 1998**).

Se ha propuesto que *M. spinolai* sería un vector de poca importancia por su bajo impacto en la enfermedad (0,64 a 5,83% de impacto) (**Canals et al, 1993**), por su hábitat principalmente silvestre, baja participación de sangre humana en su dieta, tasas de infección por *T. cruzi* bajos y baja coincidencia de zimodemos de *T. cruzi* de *M. spinolai* (Z1) y pacientes con enfermedad de Chagas (Z2) (**Canals et al, 1994**). Sin embargo, en los últimos años y mediante técnicas moleculares (PCR) se ha encontrado una tasa de infección de 46%, con niveles de infección similares entre las ninfas (**Botto-Mahan et al, 2005**). Este valor es mayor a los reportes previos de infección (26%), en los que se utilizó como método diagnóstico la observación microscópica de las deyecciones, y en los que además se encontró un porcentaje de infección creciente a medida que aumentaba la edad del insecto (**Ordenes et al, 1996**). Por lo tanto, es posible que se haya subestimado su importancia como transmisor de la enfermedad (**Canals et al, 1994; Botto-Mahan et al, 2005**). El que *M. spinolai* tenga el potencial de colonizar viviendas humanas se basa en el hecho de que se le ha encontrado habitando en viviendas humanas (**Schenone et al, 1995; Canals et al, 1998**); dada sus altas densidades poblacionales en sectores cercanos al peridomicilio (**Cattan et al, 2002**) y dada la posibilidad de alimentarse de animales domésticos y sinantrópicos (**Canals et al, 2000**).

La dieta de *M. spinolai* ha sido estudiada en áreas silvestres, antrópicas y periantrópicas de la zona endémica de la tripanosomiasis (**Canals et al., 1998**). La participación de sangre humana en la dieta de la vinchuca varía entre 3 y 100%; la cabra es la especie doméstica de más frecuente aparición (12,3 - 72,7 %) y entre los animales silvestres son de importancia los roedores (6,1 - 42,9 %) y los

lagomorfos (53,1 %) (**Canals et al, 1998 y 2001; Rengifo, 2000**). En un estudio que comparó las fuentes de alimentación de los distintos vectores de la enfermedad de Chagas en Chile, se determinó que, pese a que *M. spinolai* es una especie preponderantemente silvestre, aprovecha las construcciones humanas y obtiene alimento de animales domésticos y eventualmente del hombre, por lo que sería una especie potencialmente peligrosa en especial en zonas en que se contacta con el hombre y en las que estaría en proceso de adaptación a la vivienda humana (domiciliación) encontrándose ya en el peridomicilio (**Canals et al., 2000**). Estudios posteriores han demostrado que *O. cuniculus* mejora los indicadores peso individual, sobrevivencia y fecundidad de colonias de vinchucas alimentadas con su sangre en comparación con otras colonias alimentadas con una especie de roedor silvestre (*O. degus*) (**Acuña, 2001**).

Alimentación en Triatominos

La mayor parte de los triatominos se alimentan de noche cuando sus hospederos vertebrados están durmiendo. Los triatominos son insectos generalmente eurifágicos, salvo algunas excepciones (*C. pilosa*, *Psammolestes* spp). Pruebas en laboratorio de tres especies de triatominos domésticos (*T. infestans*, *T. dimidiata* y *R. prolixus*), han demostrado preferencia alimentaria por animales homeotermos y en reposo. Especies menos específicas de hospedero pueden alimentarse no sólo 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 en sus parámetros poblacionales. Generalmente, existe una reacción inflamatoria local por la saliva del insecto, prurito y en algunos casos anafilaxia y necrosis de la piel, sin embargo, la introducción del estilete es generalmente indolora. Las especies silvestres como *T. protacta* y *T. rubrofasciata*, provocan reacciones más intensas a diferencia de las especies domésticas como *T. infestans*. Un creciente número de vinchucas alimentándose de un animal provocarán una creciente irritabilidad de éste, lo que disminuirá 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 una mayor posibilidad de dispersión de los adultos. Este mecanismo de regulación del tamaño poblacional, es el más relevante en las especies domésticas; en tanto que en las especies silvestres factores como la destrucción del hábitat o la migración de sus hospederos son claves en la dispersión de los individuos y por ende en la dinámica poblacional. Otros factores reguladores del tamaño

poblacional y de la actividad de las vinchucas son la temperatura y la humedad ambiental existiendo rangos óptimos de éstos dependiendo de la especie de vinchuca (**Zeledón, 1983**), mientras que los depredadores y el parasitismo serían poco relevantes. Los triatominos, a diferencia de otros insectos hematófagos como los mosquitos, se caracterizan por tener una estrategia demográfica de tipo K, esto es, especies “nidíferas” que se han adaptado a un ambiente que les ofrece una fuente de alimentación más estable, con periodos de vida más largos, desarrollo más lento y mayor tamaño (**Schofield, 1994**).

La dispersión de los triatominos es clave en la propagación de la enfermedad de Chagas, porque interfiere en los planes de control químico de las poblaciones de vectores domésticos al producirse recolonización de casas ya tratadas. En este aspecto son claves las especies vectores secundarias que pueden colonizar viviendas rurales al ser alterado su hábitat silvestre original (**Schofield, 1994**).

En los triatominos existe una respuesta integrada en la búsqueda de hospederos, que está mediada por diferentes claves sensoriales, principalmente visuales, olfativas y térmicas (**Lehane, 1991**). Estos artrópodos poseen en sus antenas sensilas que reaccionan a estímulos químicos y térmicos, y además puede percibir vibraciones y estímulos visuales. En su epifaringe existen sensilas receptoras del gusto capaces de diferenciar entre diversas sustancias presentes en el alimento (**Zeledón, 1983**).

Existen algunos factores que afectan la alimentación de los triatominos, entre estos están (**Friend y Smith, 1977**):

- Gradientes de temperatura, dióxido de carbono, olores y estímulos visuales, que determinarían la rapidez con que comiencen a probar un probable hospedero.
- Composición de la dieta (nucleótidos fagoestimulantes), presiones osmóticas, pH, tipo y concentración de iones, que determinarían si ocurrirá o no el evento de alimentación.
- Periodo de tiempo desde la última alimentación y
- Grado de estiramiento abdominal.

Para la orientación a cortas distancias sería relevante el CO₂ y el calor emitido por el hospedero, para la orientación a mayores distancias serían relevantes algunas claves olfativas y visuales. En el estilete de los insectos existen quimiorreceptores de contacto, los que serían importantes en el reconocimiento final del hospedero, así también, factores de la sangre (ej. nucleótidos como ATP) lo serían para la decisión de alimentarse (**Zeledón, 1983; Lehane, 1991; Schofield, 1994**).

En la conducta de los insectos que se alimentan de sangre hay una serie de pasos comunes (**Friend y Smith, 1977**):

- Detección del hospedero.
- Posarse en el hospedero.
- Probar (movimiento activo de las partes de la boca a través de la superficie).
- Perforación o penetración (inserción de partes de la boca en la superficie).
- Localización de la sangre (en un vaso sanguíneo o por hemorragia).
- Succión de la sangre.
- Cese de la alimentación.

En *R. prolixus* se ha estudiado con detalle la conducta de alimentación y se ha observado que es atraído al hospedero por corrientes de aire o calor detectados por receptores en sus antenas. Cuando llega a la fuente de estímulo, prueba aplicando el extremo de su labios y perforando la superficie con sus mandíbulas varias veces, si en las muestras de fluidos que ingresan en estas pruebas hay factores fagoestimulantes, el insecto comenzará a ingerir la sangre hasta que su capacidad abdominal lo determine (**Friend y Smith, 1977**).

1. Temperatura

La temperatura actúa como un estimulante para la orientación a cortas distancias, siendo el calor emitido por un animal de sangre caliente (calor radiante) la principal clave usada para localizar a un hospedero. Es el único estímulo capaz de producir la respuesta de picada y alimentación, aunque existen otros factores que pueden producir orientación hacia el hospedero en ausencia de la temperatura (**Schofield, 1994; Flores y Lazzari, 1996**).

Los receptores de temperatura están ubicados principalmente en las antenas, las que están involucradas en la adquisición de información térmica de un posible hospedero y en la localización de éste (**Lazzari y Núñez, 1989; Flores y Lazzari, 1996**). Wigglesworth y Gillet en 1934 (citado por **Lazzari y Núñez, 1989**) describieron una secuencia conductual típica frente a un estímulo térmico, que consta de un movimiento antenal característico, seguido de actividad locomotora y extensión de la probóscide cuando el insecto está cerca de la fuente de estímulo.

En un experimento con *T. infestans* confrontada a fuentes de calor artificiales, se comprobó que existe una mayor frecuencia de movimientos antenales y mayor velocidad de caminata frente a una fuente de calor a 34° C, que frente a la temperatura ambiental (24° C), y que estos movimientos fueron similares a los que presenta frente a un hospedero vivo. Insectos antenectomizados unilateralmente tuvieron una desviación de su trayectoria hacia la fuente de calor y su extensión de la probóscide fue tangencial y fuera de la fuente de origen del calor. A diferencia de éstos, los insectos con sus antenas intactas tuvieron una trayectoria recta hacia la fuente y la extensión de la probóscide fue adecuada (Flores y Lazzari, 1996). Esta orientación a una fuente de calor también fue demostrada por Lazzari y Núñez (1989), quienes observaron que *T. infestans* fue capaz de percibir la temperatura de un cuerpo y discriminar su variación de temperatura, prefiriendo valores cercanos a los que tendría un hospedero vivo. Sin embargo, esta situación no excluye que en la naturaleza las corrientes convectivas o los gradientes de aire tibio pudiesen tener también importancia en la búsqueda del hospedero en adición a la fuente de calor radiante (estos factores fueron excluidos en su diseño experimental) (Lazzari y Núñez, 1989). Además no se observó una diferencia en la detección de la fuente térmica a distintas distancias. Durante el acercamiento a la fuente de calor, el insecto se detiene momentáneamente modificando en ese instante su movimiento antenal, esta situación se debería a que el insecto es capaz de monitorear una porción amplia de su ambiente para detectar más precisamente el posible hospedero (Flores y Lazzari, 1996).

2. CO₂ y olor

Las claves olfativas son suficientes para que los triatominos puedan hallar a un hospedero, dentro de estas claves el CO₂ es un factor clave para el reconocimiento de su hospedero. En condiciones de laboratorio se ha demostrado la acción del CO₂ y otros componentes del olor, como atrectores olfativos efectivos para *R. prolixus* y *T. infestans* (Núñez, 1982). También se ha demostrado la capacidad de atracción del dióxido de carbono en terreno mediante trampas de levadura (Botto-Mahan *et al*, 2002; Lorenzo *et al*, 1998).

Los receptores olfativos de estos insectos se encuentran ubicados en las antenas, donde existen sensilas olfativas que reaccionan al CO₂ y al CO, así como a algunos químicos asociados al olor de la respiración humana (metanol, metano, furanos y piridinas) y de otros hospederos (ácido láctico, ácido butírico y amonio) (Bernard, 1974 y Mayer, 1968 citados por Taneja y Guerin, 1997). Además

existiría un control circadiano de la receptividad de *T. infestans* al CO₂, siendo ésta mayor al inicio de la noche (**Barrozo et al, 2004**).

Núñez (1982) observó que bajo condiciones de laboratorio, fuentes naturales de alimentación (hámster o antebrazo humano) serían los más efectivos atractores para ninfas de *R. prolixus*; así también el CO₂ y la humedad también serían capaces de atraer al insecto a diferencia del ácido láctico. Distintos experimentos ha mostrado que *T. infestans* reacciona fuertemente a ciertos compuestos odoríferos como: CO₂, amonio (componente de la orina) (**Taneja y Guerin, 1997**); al etanol, ratón de laboratorio y mano humana (**Rose y Boeckh, 1996**); a la respiración humana (**Rose y Boeckh, 1998**) y a compuestos odoríferos de la lana de oveja, plumas de pollo y orina de conejo (**Guerenstein y Guerin, 2001**).

En un experimento en que ejemplares de *T. infestans* fueron mantenidos en una habitación que simulaba su ambiente natural, se observó que cuando se les daba acceso a una persona dormida, los insectos se activaron y caminaron en dirección al humano, principalmente al área de la cabeza. Estos hallazgos muestran que la respiración humana es de gran importancia en la búsqueda de hospedero, siendo el CO₂ el principal responsable de su atraktividad, aunque no el único factor involucrado, ya que el amonio y mezclas de CO₂ y aire fueron más efectivos en atraer al insecto que el CO₂ sólo (**Rose y Boeckh, 1998**).

Barrozo y Lazzari (2004) mostraron que ninfas de *T. infestans* tienen un umbral de respuesta al CO₂, que se encuentra a concentraciones de 300 a 400 p.p.m. por sobre las concentraciones de CO₂ ambiental; este umbral disminuye cuando el CO₂ se usa en combinación con L-ácido láctico (75-150 p.p.m.).

3. Vapor de agua

Una fuente de humedad es una clave suficiente para la orientación de *T. infestans* a cortas distancias, además aumenta su respuesta al calor a mayores distancias. Sin embargo corrientes de aire que transportan vapor de agua no causaron reacción en el insecto a diferencia de corrientes de aire limpias que provocaron una conducta anemotáctica (**Barrozo et al, 2003**).

Conducta de alimentación en *Mepraia spinolai*

Mepraia spinolai exhibe el comportamiento hacia una fuente térmica descrito por Wigglesworth y Gillet en 1934 (citado por **Lazzari y Núñez, 1989**) y en condiciones naturales es capaz de percibir y responder al dióxido de carbono (**Botto-Mahan et al, 2002**). En un estudio que comparó algunos parámetros conductuales y fisiológicos de alimentación entre *T. infestans* y *M. spinolai*, se observó que esta última tendría una menor distancia crítica para la percepción del calor, pues no disminuyó sus movimientos antenales al acercarse a una fuente de temperatura a diferencia de *T. infestans*, presentando ambas todas las conductas típicas descritas para la orientación hacia una fuente térmica, esto es: movimiento de las antenas, actividad locomotora y extensión de la proboscis. Además, se vio que ambos insectos consumen similares volúmenes de sangre, siendo el insecto silvestre más agresivo al alimentarse (picada más rápida y menor tiempo de alimentación) y demorándose mayor tiempo en defecar, por lo que se concluyó que *M. spinolai* sería menos eficiente en transmitir *T. cruzi* (**Canals et al, 1998 y 1999**).

Su dieta ha sido estudiada en la zona endémica de la enfermedad de Chagas, describiéndose algunos roedores silvestres y el conejo europeo como hospederos de importancia. El conejo europeo (*O. cuniculus*) fue introducido a Chile central aproximadamente en 1884 y desde esa fecha ha extendido su rango de distribución, encontrándose actualmente desde la IV a la XII regiones (**Jaksic, 1998**). En sectores rurales y periurbanos se utiliza a esta especie con fines cinegéticos y como fuente de proteína, por esta última causa existen crianzas domésticas ubicadas en las cercanías de los domicilios.

Se ha sugerido que existiría un proceso coevolutivo entre *T. cruzi* y los vertebrados reservorios de la enfermedad, que habría llevado a que exista una menor virulencia de los genotipos del protozoo asociados a micromamíferos de antigua data en América (**Schofield, 2000b**). En este contexto, cobra relevancia el conejo europeo por su alta participación en la dieta de la vinchuca silvestre, por su reciente llegada a América y por su crianza por parte de las comunidades rurales, lo que podría favorecer el acercamiento de *M. spinolai* y la introducción de genotipos de mayor patogenicidad a la población humana. La presente memoria pretende determinar la selección de hospedero por *M. spinolai*, estableciendo la efectividad en la atracción de las claves emitidas por el conejo doméstico y

una especie de roedor silvestre. De esta forma se pretende ampliar el conocimiento de la importancia de estos hospederos en la epidemiología de la enfermedad de Chagas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la selección de hospedero por *M. spinolai* bajo condiciones de laboratorio, ocupando como modelos al conejo europeo (*O. cuniculus*) y una especie de roedor silvestre, conocido como degu (*O. degus*).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer la capacidad de *M. spinolai* para seleccionar entre hospederos.
2. Determinar la importancia de la diferencia de temperatura superficial radiante de dos hospederos, como factor de atracción efectivo para *M. spinolai*.
3. Determinar la importancia del CO₂ y del olor emitido por los hospederos, como factores de atracción efectivos para *M. spinolai*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 240 ejemplares de *M. spinolai* (vinchuca, figuras 7 y 8) capturados entre Mayo y Septiembre del año 2004, desde poblaciones silvestres de los alrededores de la Región Metropolitana (Colina, Til Til) y de la Reserva Nacional “Las Chinchillas” (IV Región), y una población nacida en el Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile. Estos grupos fueron utilizados por separado en los experimentos. Los insectos fueron alojados en recipientes plásticos *ad hoc*, con un trozo de papel absorbente en su interior como refugio, y se mantuvieron en cámaras a temperatura constante (27° C) y humedad relativa entre 70 - 75%. Los artrópodos fueron alimentados cada cuatro a seis semanas ocupando alternadamente lagomorfos y roedores de laboratorio. Para los experimentos se utilizaron insectos de estado III, IV y V, luego de un periodo de 6 semanas de ayuno.



FIGURA 7. *M. spinolai*, ninfa V



FIGURA 8. *M. spinolai*, macho adulto

Los mamíferos utilizados para los experimentos fueron: *O. cuniculus* (conejo europeo, figura 9) adultos y juveniles (3-4 semanas), y *O. degus* (degu, figura 10) adultos. Los conejos fueron obtenidos de Mundo Granja (Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile) y mantenidos en estas dependencias. Los degus fueron especímenes nacidos en cautiverio y mantenidos en el laboratorio de Ecología (Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile).



FIGURA 9. *Oryctolagus cuniculus*
(library.thinkquest.org).



FIGURA 10. *Octodon degus*
(www.naturfotografen-forum.de)

Para determinar la selección de hospedero por *M. spinolai* y la importancia del CO₂, el olor y la temperatura, se realizaron tres tipos de experimentos:

1. Determinación de preferencia de hospedero (objetivo específico 1): para este efecto se construyó un dispositivo consistente en un recipiente circular central al que se conectaron equidistantemente tres tubos de 10 cm. de largo y 4 cm. de diámetro. Dos de estos tubos terminaron en un receptáculo de 22x34x21 cm.; el tercer tubo no se conectó a un recipiente y su porción final fue aislada del medio externo mediante una malla plástica, de tal forma que el insecto no pudiera salir del dispositivo. En uno de los recipientes se ubicó un conejo, en otro un degu y el tercero se mantuvo vacío. Los receptáculos, tubos y recipiente central fueron de un material plástico transparente y lavable. Los receptáculos fueron aislados de los tubos por una malla plástica fina para impedir el paso de las vinchucas, las que se colocaron en el recipiente central (Figura 11). Se realizaron pruebas confrontando al insecto al par conejo adulto/degu adulto y al par conejo juvenil/degu adulto. La posición de los animales se determinó aleatoriamente.



FIGURA 11. Dispositivo construido para el objetivo específico 1. Consistió de un recipiente central al que se conectaron tres tubos equidistantes entre sí, dos de ellos terminaron en un recipiente y el tercero se aisló del exterior mediante una malla. En el recipiente central se ubicó al insecto y en los recipientes externos los mamíferos.

2. Determinación de atracción por temperatura (objetivo específico 2): para este efecto se construyó un dispositivo consistente en un recipiente circular central al que se conectaron equidistantemente dos tubos de 10 cm. de largo y 4 cm. de diámetro, que terminaban cada uno en un recipiente de aislapol (aislante térmico). El recipiente que ocupó el conejo tuvo medidas de 17x25x26 cm. y el que ocupó el degu fue un cilindro de 18 cm. de largo por 8 cm. de diámetro. En el extremo que unió el tubo con el recipiente lateral, se colocó una lámina de cobre que actuó como conductor de calor y barrera física entre ambas estructuras. A una distancia de 1 cm. de las láminas de cobre, y en el lumen del tubo, se midió la temperatura por medio de una termocupla unida a un datalogger (Electronic Controls Design Inc.®, modelo 50, figura 12). En uno de los cubículos se colocó un degu y en el otro un conejo por el tiempo necesario para que la ventana de cobre adquiriera la temperatura superficial característica de cada una de estas especies. La posición de los animales en los recipientes laterales se determinó aleatoriamente; en el receptáculo central se colocaron los insectos (Figura 13). La temperatura rectal promedio del conejo varía entre 39,5° a 40,6° C (Finzi *et al*, 1994) y la temperatura corporal de los degus varía entre 36,0° a 38,8° C (Enagy *et al*, 2004), por lo que se esperaba que existiera una diferencia en la temperatura de las láminas de cobre. Se realizaron dos modalidades de este experimento: una comparando conejo juvenil–degu adulto, y otra comparando conejo adulto–degu adulto.



FIGURA 12. Datalogger. Instrumento que registra datos de temperatura mediante termocuplas (alambres de cobre que detectan temperatura)

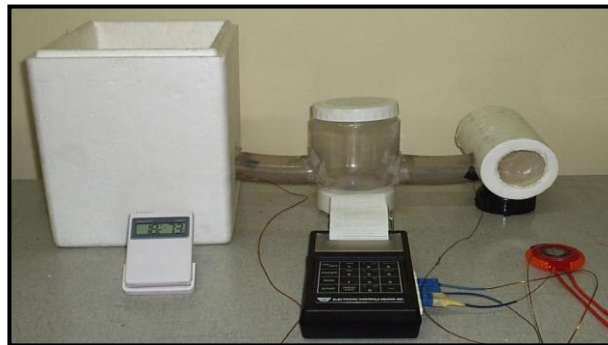


FIGURA 13. Dispositivo construido para el objetivo específico 2. Consistió de un recipiente central al que se conectaron dos tubos equidistantes entre si, cada uno de ellos terminó en un recipiente de aislapol. En el recipiente central se ubicó al insecto y en los recipientes externos los mamíferos.

3. Determinación de atracción por CO₂ y olor (objetivo específico 3): para este efecto se construyeron 3 tipos de dispositivos que consistieron en:

3.1 Se conectaron equidistantemente a un recipiente circular central dos tubos de 10 cm. de largo y 4 cm. de diámetro, que terminaron cada uno en un recipiente plástico de 16x33x14 cm. aislados del exterior y que en sus conexiones con los tubos se colocó una red fina de plástico que permitió el paso libre del olor y el CO₂ liberado por el animal que se encontraba en su interior (conejo o degu). A dos centímetros del piso de cada cubículo y en forma paralela a éste, se instaló una rejilla metálica bajo la cual se colocó cloruro de calcio como absorbente de humedad, para evitar que una alta concentración de vapor de agua perturbaran a los insectos del experimento (**Barrozo et al, 2003**). Se instaló un detector de CO₂ (Bacharach®, modelo 2815, 0-10000 p.p.m., figura 14) en cada uno de los recipientes. En un cubículo se colocó a un degu adulto y en el otro un conejo juvenil cuyas posiciones se determinaron aleatoriamente, en el receptáculo central se colocaron los insectos (Figura 15).



FIGURA 14. Analizador de CO₂. Este instrumento detecta la presencia de CO₂ mediante el principio de radiación infrarroja. Mide concentraciones desde 0 a 10.000 partes por millón.



FIGURA 15. Dispositivo construido para el objetivo específico 3. Consistió de un recipiente central al que se conectaron dos tubos equidistantes entre si, cada uno de ellos terminó en un recipiente de plástico. Cada receptáculo lateral estuvo provisto de sales de cloruro de calcio (absorbente de humedad).

3.2 Se utilizó un modelo similar al del punto 3.1 con las siguientes modificaciones: uno de los cubículos contuvo cartuchos con Baralyme® (absorbente de CO₂, compuesto de hidróxido de calcio, agua y calor) y se colocó un ejemplar de conejo juvenil o degu adulto; en el otro cubículo (sin absorbente de CO₂) se colocó un animal conespecífico de similar talla. Con lo anterior se esperó que la emisión de CO₂ de la caja con Baralyme® fuese menor que la de la caja sin este compuesto (similar a la concentración ambiental), de esta forma se mantuvo la emisión de olor, pero existió un diferencial de concentración de CO₂.

3.3 Se utilizó el mismo modelo del punto 3.2 con la diferencia que en ambos cubículos se colocaron cartuchos con Baralyme®. En uno de los recipientes se ubicó un conejo juvenil y en el otro un degu adulto. Se esperó que al disminuir la emisión de CO₂, las vinchucas eligieran sólo por la diferencia de olor entre estos dos hospederos.

3.4 Se utilizó el modelo de los experimentos anteriores, pero sin adicionar Baralyme®. En uno de los recipientes se ubicó un conejo juvenil y en el otro un ratón adulto.

Las vinchucas tuvieron un periodo de aclimatación de 5 minutos en el recipiente central, posterior a lo cual se permitió a los insectos el libre acceso a los tubos que conducían a alguno de los recipientes adyacentes. Los mamíferos tuvieron un periodo previo de aclimatación con el fin de elevar la concentración de CO₂ y olor en los casos en que se estuviera probando estas cualidades, o para que las láminas de cobre adquirieran la temperatura superficial de los mamíferos, en el caso en que se estuviera probando la importancia de la temperatura. Se realizaron 30 repeticiones para cada prueba (15 con vinchucas de terreno, 15 con vinchucas de laboratorio) utilizando una vinchuca cada vez. Cada repetición duró hasta que la vinchuca realizó la selección por alguna de los hospederos o hasta completar 30 minutos de experimentación. Durante el transcurso de cada prueba se midieron las siguientes condiciones ambientales: temperatura y humedad relativa. Además y con el fin de confirmar la búsqueda de hospedero por parte del insecto, se anotaron algunas conductas de la vinchuca que denotan este comportamiento (movimiento de antenas, elevación del estilete, etc.). Estos parámetros fueron sólo descriptivos y no se analizaron en las pruebas estadísticas posteriores.

Las variables respuestas que se midieron fueron:

1) La opción por la primera aproximación, entendiéndose que la vinchuca realizó la selección cuando se dirigió a uno de los tubos que conducen a uno de los hospederos y traspasó la unión de éste con el recipiente central.

2) El tiempo que demoró en ello (latencia de selección). Se midió el tiempo en que traspasó la unión tubo-recipiente central (Tiempo 1, tiempo de selección) y el tiempo que demoró en llegar a la unión tubo-recipiente que contenía al mamífero (Tiempo 2, tiempo de aproximación).

Se probó la independencia (H_0) o asociación de las primeras aproximaciones con una prueba de χ^2 ; las comparaciones de los tiempos de respuesta se analizaron con una prueba de t.

RESULTADOS

La temperatura ambiental promedio durante el periodo de experimentación fue de $21,32^{\circ} \pm 2,99^{\circ}$ C, la humedad relativa promedio fue de $52,75\% \pm 7,97\%$. La concentración de CO₂ ambiental promedio fue de 407 ± 70 p.p.m.

Objetivo Específico 1: Establecer la capacidad de *M. spinolai* para seleccionar entre hospederos (Experimento 1).

1a. Conejo adulto - degu adulto:

Se observó que las vinchucas seleccionaron inicialmente en mayor frecuencia aquellos gabinetes que tuvieron un hospedero mamífero en su interior (40% conejo, 36,7% degu y 23,3% control). Sin embargo, solo en las vinchucas de terreno estas diferencias fueron significativas ($X^2 = 8,0$; $p < 0,02$). En relación a los tiempos de aproximación, en promedio las vinchucas demoraron 154 segundos en seleccionar un gabinete (tiempo 1) y 250 segundos en aproximarse (tiempo 2). Las frecuencias de selección se muestran en la figura 16, se exponen sin considerar el origen de los insectos (selección general), y considerando esta variable (laboratorio y terreno). Los valores de las latencias de selección se muestran en el cuadro 1, los valores de las latencias de aproximación se muestran en el cuadro 2.

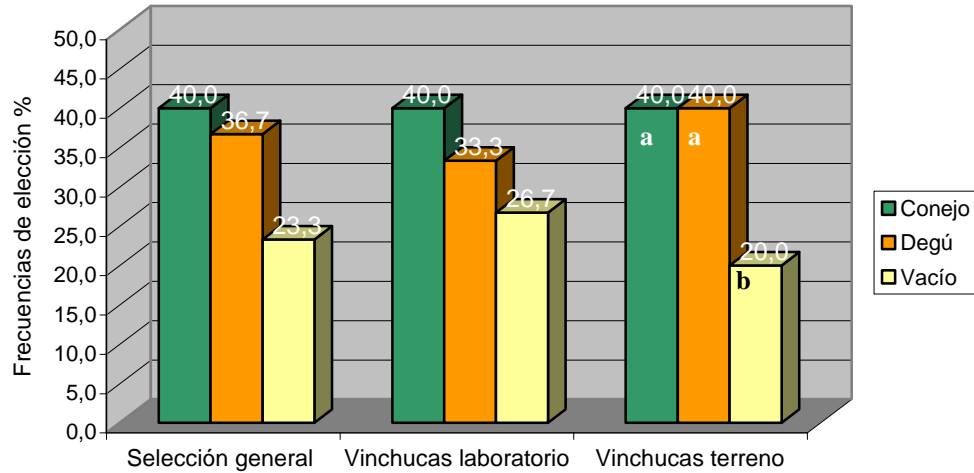


Figura 16. Frecuencias de selección generales y por origen (laboratorio y terreno) de las vinchucas, experimento 1a. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Cuadro 1. Latencias de selección, experimento 1a. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo, degu y vacío).

| Tiempo 1 | | SELECCION | | | Total |
|----------|-------------|-----------|---------|---------|---------|
| | | Conejo | Degu | Vacío | |
| ORIGEN | Laboratorio | 212±346 | 315±480 | 96±57 | 215±342 |
| | Terreno | 63±80 | 97±67 | 147±117 | 93±83 |
| Total | | 137±252 | 196±328 | 118±83 | 154±252 |

Cuadro 2. Latencias de aproximación, experimento 1a. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo, degu y vacío).

| Tiempo 2 | | SELECCION | | | Total |
|----------|-------------|-----------|---------|---------|---------|
| | | Conejo | Degu | Vacío | |
| ORIGEN | Laboratorio | 278±387 | 574±722 | 120±58 | 334±488 |
| | Terreno | 186±163 | 141±87 | 179±141 | 167±124 |
| Total | | 232±287 | 338±513 | 145±97 | 250±360 |

1b. Conejo juvenil - degu adulto:

Se observó que las vinchucas de terreno y laboratorio seleccionaron con mayor frecuencia los gabinetes con un degu y vacíos que aquellos que contuvieron un conejo ($X^2 = 18,73$; $p < 0,001$ para vinchucas de terreno; $X^2 = 10,69$; $p < 0,005$ para vinchucas de laboratorio). Las frecuencias de selección se muestran en la figura 17. El tiempo promedio de selección fue de 352 segundos y el de aproximación fue de 514 segundos. No hubo diferencias significativas en la latencia de selección al comparar según origen de los insectos, pero si lo hubo al comparar frente a la selección de hospederos, demorándose las vinchucas menor tiempo (169 segundos) en seleccionar (tiempo 1) al degu (ANDEVA $F = 4,226$; $p = 0,025$; figura 18). Los valores de las latencias de selección se muestran en el cuadro 3, y los de las latencias de aproximación se muestran en el cuadro 4.

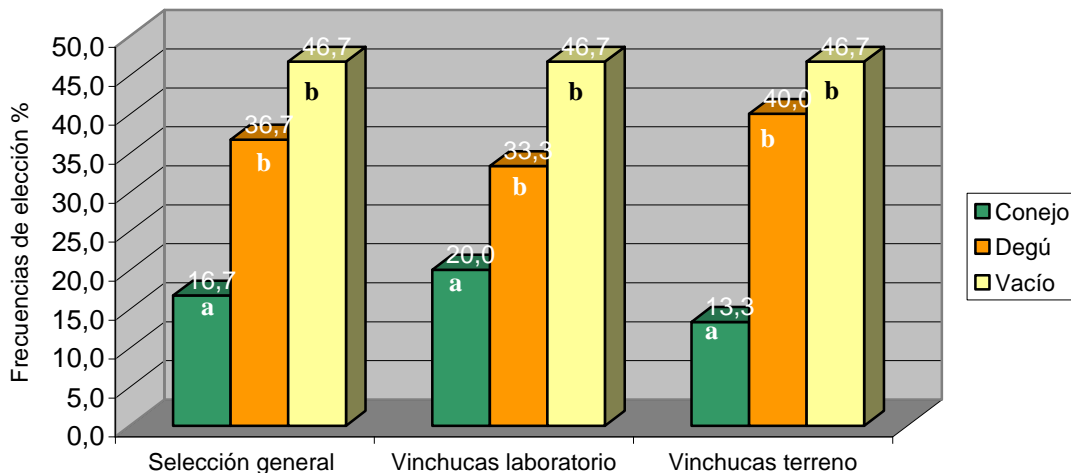


Figura 17. Frecuencias de selección generales y por origen (laboratorio y terreno) de las vinchucas, experimento 1b. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Cuadro 3. Latencias de selección, experimento 1b. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo, degu y vacío). Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

| Tiempo 1 | | SELECCION | | | Total |
|----------|-------------|-----------|-----------|-----------|---------|
| | | Conejo | Degu | Vacío | |
| ORIGEN | Laboratorio | 191±126 | 204±129 | 623±466 | 397±474 |
| | Terreno | 741±132 | 140±151 | 326±151 | 307±241 |
| Total | | 411±321 a | 169±138 b | 474±466 a | 352±373 |

Cuadro 4. Latencias de aproximación, experimento 1b. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo, degu y vacío). Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

| Tiempo 1 | | SELECCION | | | Total |
|----------|-------------|-----------|-----------|-----------|---------|
| | | Conejo | Degu | Vacío | |
| ORIGEN | Laboratorio | 242±129 | 464±293 | 780±633 | 567±498 |
| | Terreno | 974±457 | 290±278 | 460±406 | 460±404 |
| Total | | 534±470 a | 369±285 b | 620±537 a | 514±449 |

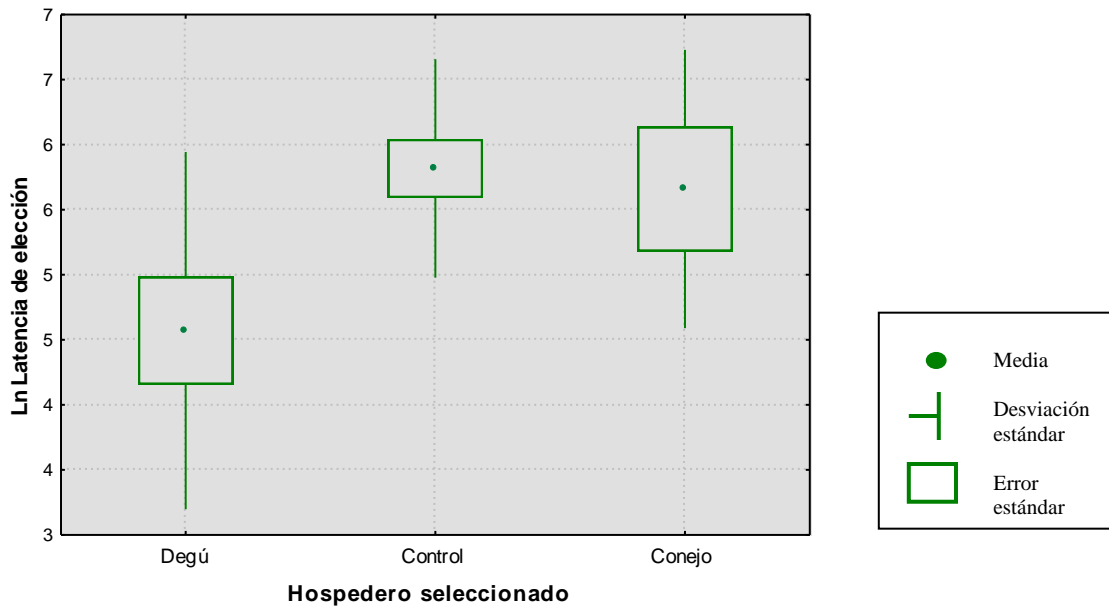


Figura 18. Latencia de selección de hospedero, experimento 1b. Los tiempos se expresan como Logaritmo natural (Ln). Se muestra la media, la desviación y el error estándar.

Objetivo Específico 2: Determinar la importancia de la diferencia de temperatura superficial radiante de dos hospederos (Experimento 2).

2a. Conejo adulto - degu adulto:

La temperatura superficial promedio de los conejos utilizados fue de $31,2^{\circ} \pm 2,2^{\circ} \text{ C}$, ésta no difirió significativamente de la de los degus que fue $30,1^{\circ} \pm 2,5^{\circ} \text{ C}$. Se observó que las vinchucas eligieron más al conejo que al degu (66,7% vs. 33,3%), las diferencias fueron significativas tanto para las vinchucas de laboratorio ($X^2 = 4,0$; $p < 0,05$) como para las de terreno ($X^2 = 21,72$; $p < 0,001$). Las frecuencias de selección se muestran en la figura 19. Los tiempos de selección y aproximación fueron de 356 segundos y 434 segundos respectivamente, y no hubo diferencias significativas al considerar origen y selección. Los valores de las latencias de selección se muestran en el cuadro 5, las latencias de aproximación se muestran en el cuadro 6.

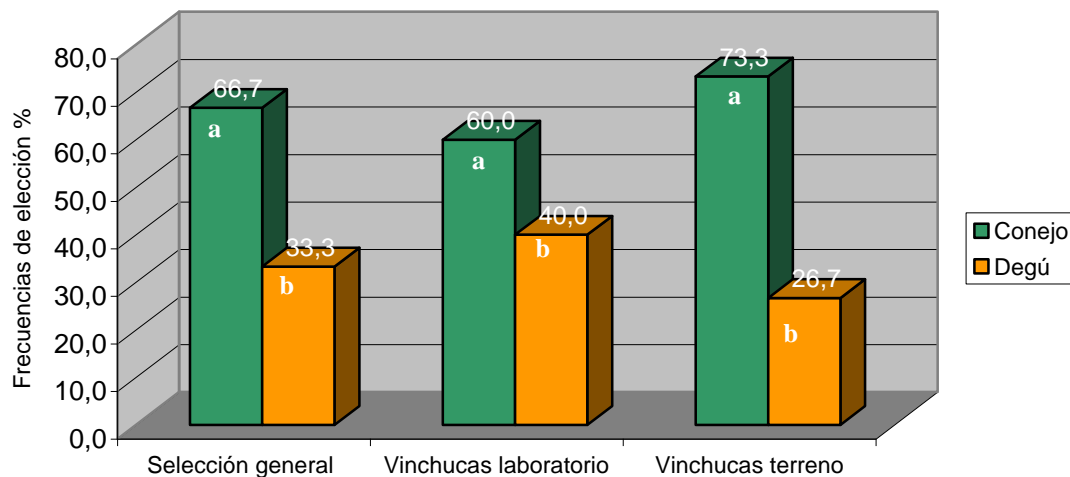


Figura 19. Frecuencias de selección generales y por origen (laboratorio y terreno) de las vinchucas, experimento 2a. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Cuadro 5. Latencias de selección, experimento 2a. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo y degu).

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|-----------------|-------------|------------------|---------|--------------|
| | | Conejo | Degu | |
| ORIGEN | Laboratorio | 278±346 | 496±523 | 365±422 |
| | Terreno | 438±512 | 97±111 | 347±463 |
| Total | | 366±442 | 336±445 | 356±435 |

Cuadro 6. Latencias de aproximación, experimento 2a. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo y degu).

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|-----------------|-------------|------------------|---------|--------------|
| | | Conejo | Degu | |
| ORIGEN | Laboratorio | 318±353 | 677±644 | 462±502 |
| | Terreno | 511±533 | 120±104 | 407±487 |
| Total | | 424±460 | 454±563 | 434±487 |

2b. Conejo juvenil - degu adulto:

La temperatura superficial promedio de los conejos utilizados fue de $24,6^{\circ} \pm 2,5^{\circ}$ C, y la de los degus fue $27,4^{\circ} \pm 1,5^{\circ}$ C, existiendo diferencias significativas entre ellas ($F_{1,58} = 28,36$; $p < 0,05$). En la selección de hospedero sólo hubo diferencias significativas ($X^2 = 4,0$; $p < 0,05$) para las vinchucas de terreno las que prefirieron al degu (40% conejo vs. 60% degu). Las frecuencias de selección se muestran en la figura 20. El tiempo de latencia promedio fue de 271 segundos y el de aproximación fue de 483 segundos. No hubo diferencias significativas al considerar origen o selección. Los valores de las latencias de selección se muestran en el cuadro 7, las latencias de aproximación se muestran en el cuadro 8.

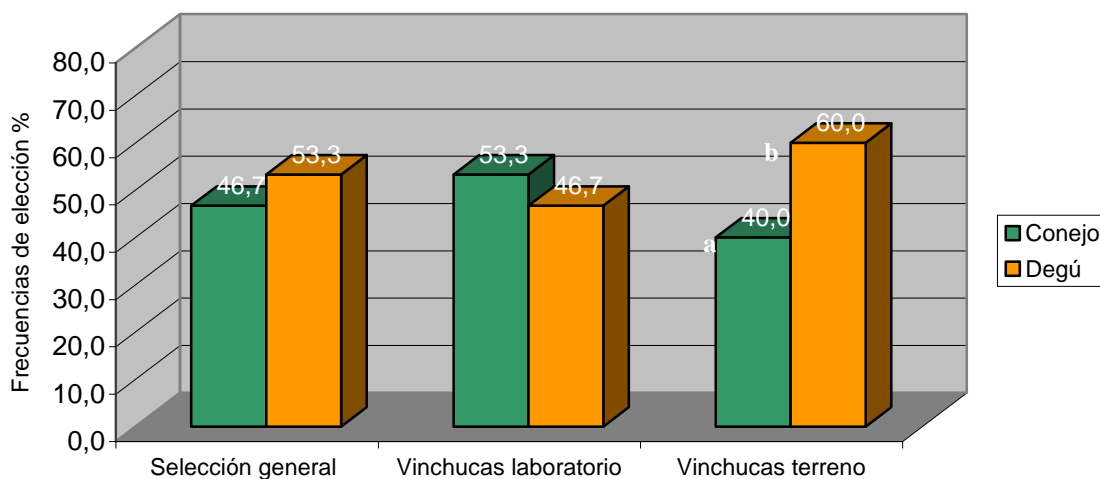


Figura 20. Frecuencias de selección generales y por origen (laboratorio y terreno) de las vinchucas, experimento 2b. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Cuadro 7. Latencias de selección, experimento 2b. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo y degu).

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|-----------------|-------------|------------------|---------|--------------|
| | | Conejo | Degu | |
| ORIGEN | Laboratorio | 317±495 | 214±177 | 269±391 |
| | Terreno | 219±331 | 340±175 | 274±303 |
| Total | | 256±401 | 285±171 | 271±344 |

Cuadro 8. Latencias de aproximación, experimento 2b. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo y degu).

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|-----------------|-------------|------------------|---------|--------------|
| | | Conejo | Degu | |
| ORIGEN | Laboratorio | 377±585 | 729±748 | 541±666 |
| | Terreno | 210±163 | 567±561 | 424±471 |
| Total | | 305±449 | 638±632 | 483±570 |

Objetivo Específico 3: Determinar la importancia del CO₂ y del olor emitido por los hospederos (Experimento 3).

3a. Conejo sin Baralyme® - Conejo con Baralyme® (juveniles):

Los conejos sin Baralyme® en su gabinete promediaron una concentración de CO₂ de 6752 ± 2236 p.p.m. y los conejos con el absorbente de CO₂ 2381 ± 1023 p.p.m. Estos valores difieren significativamente ($F_{1-87} = 152,53$; $P < 0.05$). Las vinchucas prefirieron al conejo en cuyo gabinete no se colocó el cartucho con Baralyme® (70% de las elecciones). Hubo diferencias significativas para las vinchucas de laboratorio y de terreno ($X^2 = 11,11$; $p < 0,001$; y $X^2 = 21,78$; $p < 0,001$ respectivamente). Las frecuencias de selección se muestran en la figura 21. El tiempo promedio de selección fue de 609 segundos y el de aproximación fue de 796 segundos. Las vinchucas de terreno se demoraron menos tiempo en elegir y aproximarse a un hospedero que las vinchucas de laboratorios (433 segundos vs. 784 segundos para el tiempo 1 y 552 segundos vs. 1040 segundos para el tiempo 2) (ANDEVA $F = 7,69$; $p = 0,01$ para tiempo 1; ANDEVA $F = 9,16$; $p = 0,01$ para tiempo 2, figura 22). Sin embargo, cuando se comparó según la selección realizada, no existieron diferencias significativas. Los valores de las latencias de selección se muestran en el cuadro 9, las latencias de aproximación se muestran en el cuadro 10.

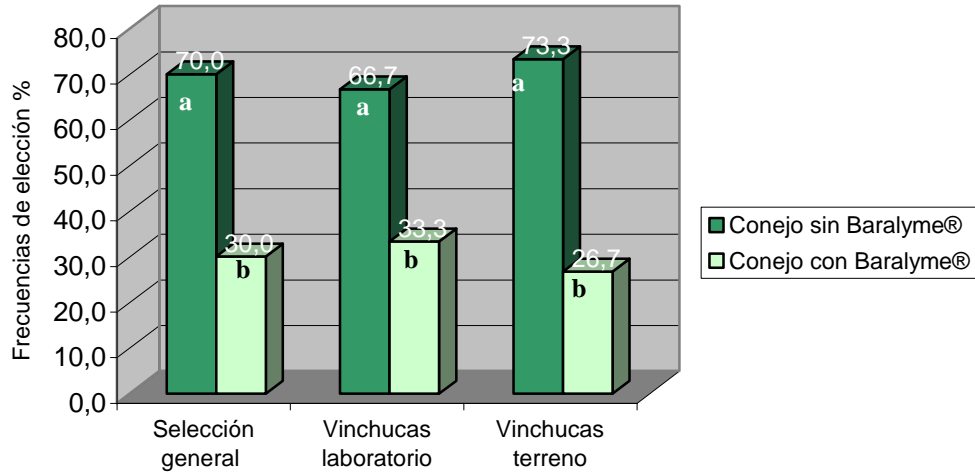


Figura 21. Frecuencias de selección generales y por origen (laboratorio y terreno) de las vinchucas, experimento 3a. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Cuadro 9. Latencias de selección, experimento 3a. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo sin Baralyme® y conejo con Baralyme®). Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$). * indica uso de Baralyme®.

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|----------|-------------|-----------|----------|-----------|
| | | Conejo | Conejo* | |
| ORIGEN | Laboratorio | 665±434 | 1023±397 | 784±443 a |
| | Terreno | 419±470 | 472±539 | 433±470 b |
| Total | | 536±459 | 778±522 | 609±483 |

Cuadro 10. Latencias de aproximación, experimento 3a. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo sin Baralyme® y conejo con Baralyme®). Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$). * indica uso de Baralyme®.

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|----------|-------------|-----------|----------|------------|
| | | Conejo | Conejo* | |
| ORIGEN | Laboratorio | 975±510 | 1171±518 | 1040±503 a |
| | Terreno | 564±470 | 519±521 | 552±555 b |
| Total | | 760±580 | 881±595 | 796±577 |

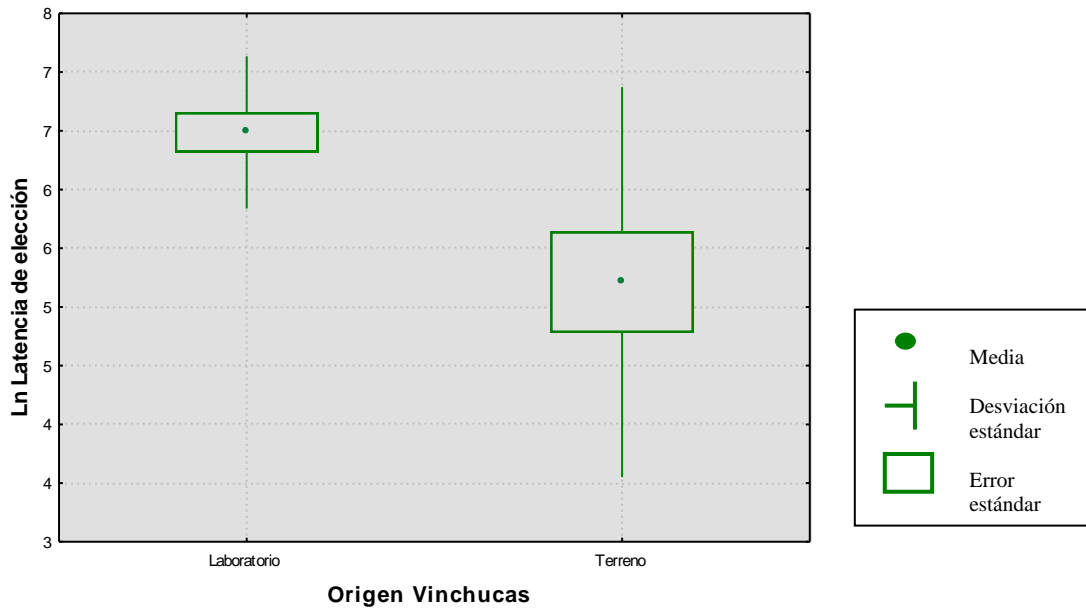


Figura 22. Latencia de selección de hospedero, experimento 3a. Los tiempos se expresan como Logaritmo natural (Ln). Se muestra la media, la desviación y el error estándar.

3b. degu sin Baralyme® - degu con Baralyme®:

Los degus sin Baralyme® en su gabinete promediaron una concentración de CO₂ de 7152 ± 1928 p.p.m. y aquellos con el absorbente de CO₂ 1054 ± 757 p.p.m. Estos valores difieren significativamente ($F_{1-223} = 985,93$; $p < 0,05$). Las frecuencias de selección en términos generales no difirieron, sin embargo, cuando se comparó según el origen de las vinchucas, se observó que las vinchucas de laboratorio prefirieron significativamente más al degu sin el absorbente de CO₂ ($X^2 = 4,0$; $p < 0,05$), mientras que los insectos de terreno prefirieron al mamífero que tenía en su gabinete el cartucho de Baralyme® ($X^2 = 4,0$; $p < 0,05$). Las frecuencias de selección se muestran en la figura 23. El tiempo promedio de selección fue de 529 segundos y el tiempo promedio de aproximación fue de 872 segundos. No hubo diferencias significativas en las latencias de selección, pero si las hubo en el tiempo de aproximación el que difirió cuando se comparó según el origen de los insectos, demorándose las vinchucas de terreno menor tiempo en aproximarse a los gabinetes que las vinchucas de laboratorio (480 segundos vs. 1271 segundos; ANDEVA $F = 15,46$; $p < 0,001$, figura 24). Los valores de las latencias de selección se muestran en el cuadro 11, las latencias de aproximación se muestran en el cuadro 12.

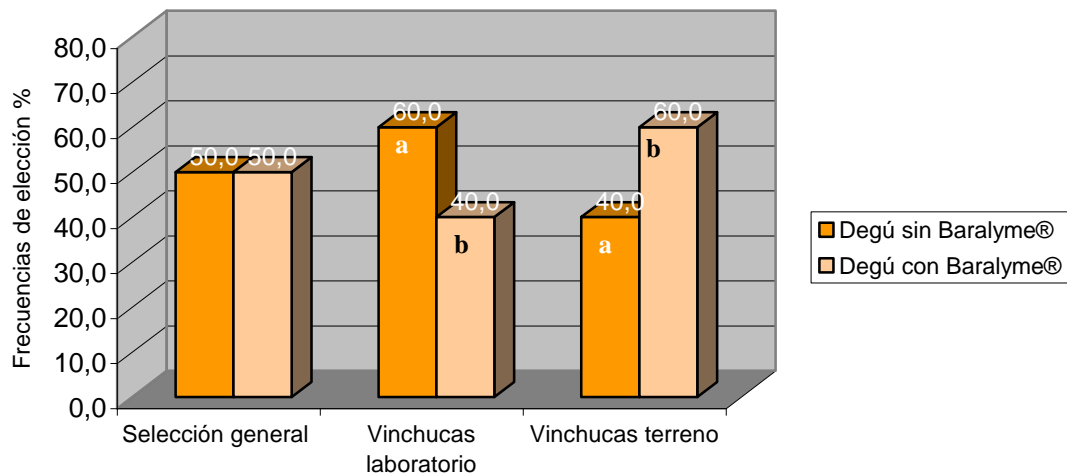


Figura 23. Frecuencias de selección generales y por origen (laboratorio y terreno) de las vinchucas, experimento 3b. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Cuadro 11. Latencias de selección, experimento 3b. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (degu sin Baralyme® y degu con Baralyme®). * indica uso de Baralyme®.

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|----------|-------------|-----------|---------|---------|
| | | Degu | Degu* | |
| ORIGEN | Laboratorio | 682±554 | 634±275 | 663±450 |
| | Terreno | 206±245 | 521±485 | 395±426 |
| Total | | 492±505 | 566±406 | 529±452 |

Cuadro 12. Latencias de aproximación, experimento 3b. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (degu sin Baralyme® y degu con Baralyme®). Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$). * indica uso de Baralyme®.

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|----------|-------------|-----------|----------|------------|
| | | Degu | Degu* | |
| ORIGEN | Laboratorio | 1070±554 | 1472±510 | 1231±556 a |
| | Terreno | 317±353 | 643±621 | 513±541 b |
| Total | | 769±605 | 975±700 | 872±651 |

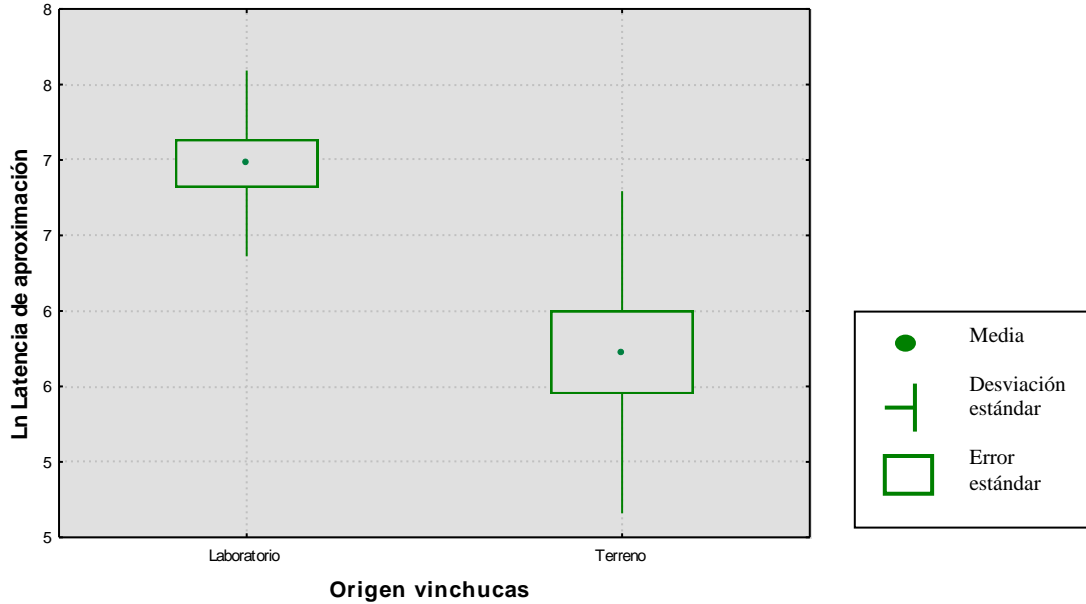


Figura 24. Latencia de selección de hospedero, experimento 3b. Los tiempos se expresan como Logaritmo natural (Ln). Se muestra la media, la desviación y el error estándar.

3c. Conejo juvenil - degu adulto (ambos con Baralyme®):

Los conejos promediaron una concentración de CO₂ de 762 ± 430 p.p.m. y los degus 889 ± 397 p.p.m. Estos valores difirieron significativamente ($F_{1-280} = 6,34$; $p = 0,01$). No se observaron diferencias en la selección de la hospederos en relación a las frecuencias generales (53,3% conejo vs. 46,7% degu), pero cuando se comparó según el origen de las vinchucas, se notaron diferencias significativas para los insectos de laboratorio ($X^2 = 11,11$; $p < 0,001$) los que prefirieron al conejo (66,7%), mientras que las vinchucas de terreno prefirieron al degu ($X^2 = 4,0$; $p < 0,05$, con 60% de las preferencias). Las frecuencias de selección se muestran en la figura 25. Los tiempos promedios sin considerar origen ni selección fueron de 505 segundos (tiempo 1) y 867 segundos (tiempo 2). No existieron diferencias significativas en ningunos de los tiempos. Los valores de las latencias de selección se muestran en el cuadro 13, las latencias de aproximación se muestran en el cuadro 14.

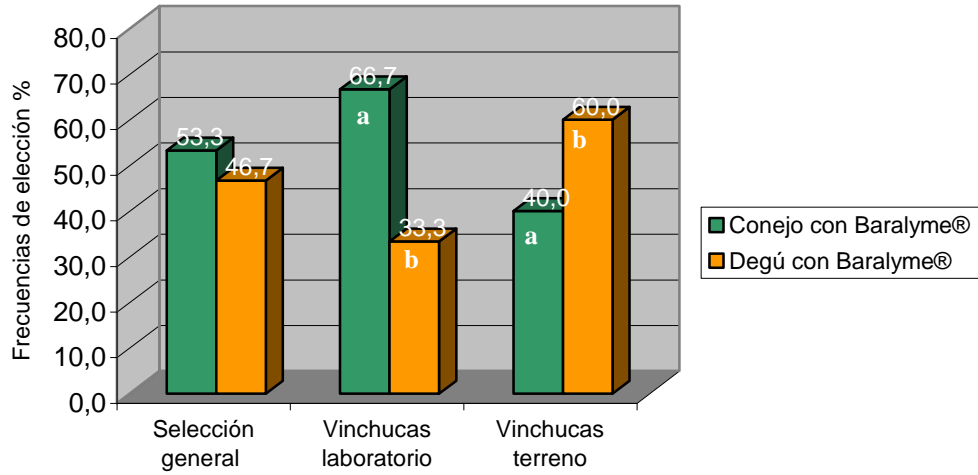


Figura 25. Frecuencias de selección generales y por origen (laboratorio y terreno) de las vinchucas, experimento 3c. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Cuadro 13. Latencias de selección, experimento 3c. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo y degu). * indica uso de Baralyme®.

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|----------|-------------|-----------|---------|---------|
| | | Conejo* | Degu* | |
| ORIGEN | Laboratorio | 468±412 | 312±268 | 416±368 |
| | Terreno | 636±404 | 567±433 | 594±408 |
| Total | | 531±404 | 476±392 | 505±392 |

Cuadro 14. Latencias de aproximación, experimento 3c. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo y degu). * indica uso de Baralyme®.

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|----------|-------------|-----------|---------|---------|
| | | Conejo* | Degu* | |
| ORIGEN | Laboratorio | 838±683 | 771±768 | 816±685 |
| | Terreno | 953±588 | 894±465 | 918±498 |
| Total | | 881±631 | 850±565 | 867±591 |

3d. Conejo juvenil - degu adulto (ambos sin Baralyme®):

Los conejos promediaron una concentración de CO₂ de 6362 ± 2000 p.p.m. y los degus 6196 ± 1729 p.p.m., no habiendo diferencias significativas entre ellos. Hubo diferencias significativas cuando se comparó la frecuencia de elecciones, prefiriendo al degu (60%) las vinchucas de laboratorio ($X^2 = 4,0$; $p < 0,05$) y al conejo (73,3%) las vinchucas de terreno ($X^2 = 21,71$; $p < 0,001$). Las frecuencias de selección se muestran en la figura 26. El tiempo promedio de la primera selección fue de 334 segundos y el tiempo promedio de aproximación fue de 505 segundos, no se observaron diferencias significativas entre estos tiempos. Los valores de las latencias de selección se muestran en el cuadro 15, las latencias de aproximación se muestran en el cuadro 16.

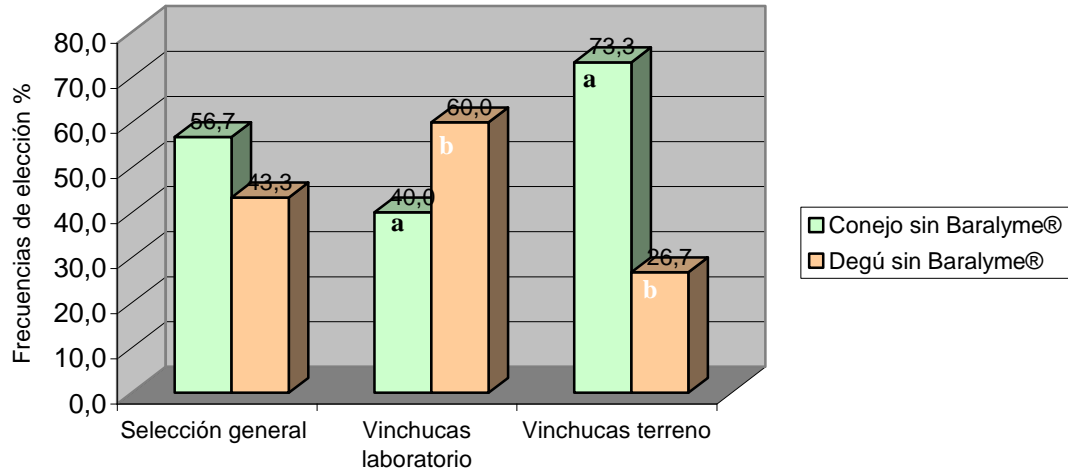


Figura 26. Frecuencias de selección generales y por origen (laboratorio y terreno) de las vinchucas, experimento 3d. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Cuadro 15. Latencias de selección, experimento 3d. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo y degu).

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|----------|-------------|-----------|---------|---------|
| | | Conejo | Degu | |
| ORIGEN | Laboratorio | 201±181 | 313±327 | 268±276 |
| | Terreno | 332±384 | 584±768 | 399±495 |
| Total | | 286±327 | 396±486 | 334±399 |

Cuadro 16. Latencias de aproximación, experimento 3d. Los valores están expresados en segundos y se muestran considerando el origen de los insectos (laboratorio y terreno) y la selección de éstos (conejo y degu).

| Tiempo 1 | | SELECCION | | Total |
|-----------------|-------------|------------------|---------|--------------|
| | | Conejo | Degu | |
| ORIGEN | Laboratorio | 479±252 | 528±413 | 509±348 |
| | Terreno | 453±453 | 630±740 | 501±520 |
| Total | | 462±385 | 560±503 | 505±435 |

DISCUSION

1. Capacidad de *M. spinolai* para seleccionar entre hospederos.

Los resultados demuestran en primer lugar que la vinchuca silvestre *M. spinolai* prefiere y selecciona hospederos mamíferos adultos, sin mostrar una tendencia a elegir en particular una de las dos especies con las que se le desafió. El conejo juvenil fue menos elegido cuando fue confrontado a un degu adulto, lo que podría deberse a una menor emisión de claves atractoras hacia el insecto que la misma especie en estado adulto, la que fue capaz de atraer al artrópodo en un porcentaje similar al degu. Esto indicaría que es necesaria una cantidad mínima de elementos atrectores emitidos (por ejemplo temperatura superficial, % de CO₂ u otros compuestos odoríferos) para que el insecto sea capaz de seleccionar a un hospedero en particular. Por otra parte la mitad de las vinchucas ocupadas en estos experimentos fueron capturadas en su hábitat natural en el que probablemente se alimentaron de la oferta de mamíferos disponibles en la zona, dentro de los cuales estaban el conejo europeo y el degu, componentes habituales de la dieta de *M. spinolai* silvestre (Canals *et al*, 1998). La otra mitad de los insectos utilizados fueron individuos alimentados en laboratorio de conejos europeos obtenidos de una crianza comercial y no estuvieron expuestos a la cercanía de roedores silvestres como el degu hasta el momento de la experimentación. Sin embargo esta modalidad de alimentación no influyó en la selección de hospedero por parte de las vinchucas de ambos orígenes, pues el orden de selección se mantuvo constante independiente del origen (Figuras 16 y 17).

En términos generales, las vinchucas enfrentadas a hospederos adultos demoraron menos tiempo en elegir un gabinete que aquellas enfrentadas al par conejo juvenil/degu adulto, aunque estas diferencias no fueron significativas. Sin embargo, si existió una diferencia significativa cuando se enfrentó a las vinchucas al par conejo juvenil/degu adulto, en el que los insectos demoraron menor tiempo en elegir al degu; esto, sumado al hecho que las vinchucas que eligieron al conejo juvenil o el gabinete vacío tuvieron tiempos de selección promedio similares, indicaría que sólo el degu emitió claves suficientes para atraer a los insectos.

2. Importancia de la diferencia de temperatura superficial radiante de dos hospederos.

Se observó el siguiente gradiente de emisión de temperatura superficial por parte de los hospederos probados en los experimentos: conejo adulto (31,2° C), degu adulto (entre 27,4° C y 30,1° C) y conejo juvenil (24,6° C). Las preferencias de las vinchucas se ajustaron a este gradiente, prefiriendo al conejo adulto (66,7%) (Experimento 2a, figura 19, diferencias significativas para ambos orígenes) más que al degu adulto (33,3%), y al degu adulto (60%) más que al conejo juvenil (40%) (Experimento 2b, figura 20, diferencias significativas sólo para las vinchucas de terreno). A pesar que la diferencia de temperaturas superficiales promedio fue mayor entre el conejo juvenil y el degu adulto, cuando las vinchucas fueron confrontadas a este par (Experimento 2b), sólo hubo diferencias significativas en las vinchucas de terreno las que prefirieron al degu. Este hecho revelaría que los insectos enfrentados a dos fuentes térmicas de distinta energía, prefieren aquella que es más alta y que esté dentro de su rango de temperaturas preferida (24,8 +/- 5,8° C, **Canals et al, 1997**). El conejo juvenil fue menos elegido por la vinchucas, su temperatura superficial fue similar a la temperatura media de preferencia de las vinchucas (24,8° C) y mayor a la temperatura ambiental (21,3° C). Esto revela que en condiciones de laboratorio las vinchucas muestran actividad locomotora positiva hacia una fuente radiante que emite temperaturas mayores a las ambientales cuando esta se encuentra a cortas distancias, lo que se ajusta a lo observado en *T. infestans* (**Lazzari y Núñez, 1989; Flores y Lazzari, 1996**). En condiciones naturales este hecho podría ser relevante en la búsqueda de un hospedero sobre todo en condiciones de bajas temperaturas ambientales.

3. Importancia del CO₂ y del olor emitido por los hospederos.

En los experimentos en que se enfrentó a los insectos a hospederos mamíferos conespecíficos con o sin Baralyme® (experimentos 3a y 3b), las vinchucas prefirieron al conejo que se alojó en un gabinete sin absorbente de CO₂, esto es, el gabinete desde el cual les llegó la totalidad de las claves odoríferas del animal en su interior. Cuando los insectos se enfrentaron al par de degus en términos generales no hubo preferencia por uno de los hospederos; sólo existieron diferencias significativas cuando se comparó según origen de las vinchucas, eligiendo hospederos distintos. Esto podría indicar que existirían, al menos en el degu, sustancias odoríferas más relevantes que el CO₂ en su capacidad de atracción a cortas distancias. En ambos experimentos, las vinchucas de laboratorio demoraron mayor tiempo en seleccionar un hospedero. Esto podría deberse a un acostumbamiento al ambiente más

estable que les ofreció el laboratorio, en el que los insectos fueron alimentados con frecuencia regular desde el primer estadio ninfal y tuvieron condiciones de temperatura y humedad óptimas, así como ausencia de depredadores. Los insectos capturados en terreno estuvieron expuestos a condiciones naturales en que la oferta habitual de mamíferos está condicionada con la oportunidad de detectar y alimentarse rápidamente del animal, antes de que exista reacción a la picada. Sin embargo, son necesarias más pruebas para comprobar si existen diferencias en los tiempos de latencia cuando se las confronta a otros hospederos.

El absorbente de CO₂ utilizado fue eficiente al establecer una clara diferencia en las concentraciones del gas que llegaron al insecto desafiado, siendo ambas mayores a las concentraciones ambientales en condiciones naturales (300 p.p.m., **Odum y Sarmiento, 1998**). Las altas concentraciones de dióxido de carbono obtenidas en los gabinetes sin Baralyme® se podrían asemejar a las alcanzadas en las madrigueras de los dos mamíferos utilizados en los experimentos, las que se encuentran habitualmente en los sitios en que se concentran estos insectos (zonas pedregosas, madrigueras de animales y aves, corrales y pircas periantrópicas, viviendas humanas y sus cercanías) (**Apt y Reyes, 1986; Schenone et al, 1995**).

Cuando se realizó un experimento desafiando a las vinchucas frente al par conejo/degu con Baralyme® (experimento 3c), esto es, exponiendo a los insectos al olor del animal con el componente CO₂ disminuido, se observó que las vinchucas de laboratorio prefirieron al lagomorfo mientras que aquellas de terreno seleccionaron preferentemente al degu. Esta situación se invierte cuando los insectos son enfrentados al mismo par, pero esta vez con el olor completo (experimento 3d). Esta situación no permite establecer con certeza la relevancia del CO₂ (como componente del olor) en la selección de hospedero de *M. spinolai*, pues si en vinchucas del mismo origen la frecuencia de selección de un hospedero aumentara cuando se las expone a su olor completo, se podría afirmar que este gas aumenta la atraktividad de ese hospedero en particular y esta situación no sucedió en los experimentos realizados.

Los resultados disímiles obtenidos en la serie de experimentos que probaron la importancia del olor y CO₂ en la capacidad de atracción del conejo y el degu, permiten suponer que existen otras claves atractoras más relevantes para la vinchuca silvestre tales como la temperatura superficial y otras claves olfativas. La dieta descrita para este insecto en la que la participación de los distintos componentes varía según la oferta disponible de mamíferos, hace suponer que *M. spinolai* es una especie oportunista. Debido a este hábito alimentario, la capacidad de insecto de detectar un posible hospedero

es de máxima relevancia para la mantención de poblaciones viables. Nuestros hallazgos permiten suponer que mamíferos con temperatura superficial mayores a las ambientales serán más atractivos para insectos en ayuno. En las regiones IV, V y Metropolitana de Chile, zona en que coincide la distribución de *M. spinolai*, *O. degus* y *O. cuniculus*, este último se transforma en un hospedero relevante en la epidemiología de la enfermedad de Chagas, por su mayor temperatura superficial, sus abundantes poblaciones silvestres, y por su crianza en sectores periurbanos como fuente de proteína. Estos hechos podrían permitir el acercamiento y domiciliación de *M. spinolai* a una zona en que el vector doméstico *T. infestans* ha sido exitosamente erradicado.

CONCLUSIONES

- *Mepraia spinolai* selecciona positivamente animales adultos, y con temperatura superficial mayor a la ambiental, cuando esta se encuentra dentro de su rango óptimo de preferencia.
- En condiciones de laboratorio, las claves emitidas por hospederos más relevantes en la decisión de selección por parte de *M. spinolai*, son la temperatura superficial radiante y el olor. El factor especie no es relevante.
- Con lo datos obtenidos en los experimentos, se puede suponer que las claves emitidas por los hospederos, deben sobrepasar un umbral sobre el cual *M. spinolai* va a elegir oportunísticamente.
- El conejo europeo, por su mayor temperatura superficial, sus abundantes poblaciones silvestres, y por su crianza en sectores periurbanos, se transforma en un ente relevante en el proceso de domiciliación de *M. spinolai*.

BIBLIOGRAFIA

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

ANON. 2000. Natural reservoirs of *Trypanosoma cruzi* (editorial). Bol. Chil. Parasitol. 55: 2. [en línea]

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S036594022000000100001&lng=es&nrm=is [consulta: 07-11-2005].

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.

APT, W. y REYES, H. 1990. Algunos aspectos de la enfermedad de Chagas en Latinoamérica. Parasitol. al Día 14: 23-40.

ATIAS, A. 1991. Parasitología clínica. Publicaciones Técnicas Mediterráneo. Santiago, Chile. 618 p.

BARRETT, M.; BURCHMORE, R.; STICH, A.; LAZZARI, J.; FRASH, A. y CAZZULO, J. 2003. The tripanosomiasis. The Lancet 362: 1469-1480.

BARROZO, R.; MANRIQUE, G. y LAZZARI, C. 2003. The role of the vapour in the orientation behaviour of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). J. Insect Physiol. 49: 315-321.

BARROZO, R. y LAZZARI, C. 2004. The response of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to carbon dioxide and other host odours. Chem. Senses 29: 319-329.

BARROZO, R.; MINOLI, S. y LAZZARI, C. 2004. Circadian rhythm of behavioural responsiveness to carbon dioxide in the blood-sucking bug *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). J. Insect Physiol. 50: 249-254.

BOTTO-MAHAN, C.; CATTAN, P. y CANALS, M. 2002. Field tests of carbon dioxide and conespecifics as baits for *Mepraia spinolai*, wild vector of Chagas disease. *Acta Tropica* 82: 377-380.

BOTTO-MAHAN, C.; ORTIZ, S.; ROZAS, M.; CATTAN, P. y SOLARI, A. 2005. DNA evidence of *Trypanosoma cruzi* in the Chilean wild vector *Mepraia spinolai* (Hemiptera: Reduviidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 100: 237-239.

CANALS, M.; CATTAN, P. y EHRENFELD, M. 1993. Algunas estimaciones numéricas de la importancia epidemiológica de los vectores de la enfermedad de Chagas en Chile. *Parasitol. al Día* 17: 79-86.

CANALS, M.; CATTAN, P. y EHRENFELD, M. 1994. Sobrevivencia de *Triatoma spinolai* en ambiente habitacional. *Parasitol al día* 18: 82-87.

CANALS, M.; SOLIS, R.; VALDERAS, J.; EHRENFELD, M. y CATTAN, P. 1997. Preliminary studies on temperature selection and activity cycles of *Triatoma infestans* and *T. spinolai* (Heteroptera: Reduviidae), Chilean vectors of Chagas' disease. *J. Med. Entomol.* 34: 12-17.

CANALS, M.; EHRENFELD, M.; SOLIS, R.; CRUZAT, L.; PINOCHET, A.; TAPIA, C.; CATTAN, P. 1998. Biología comparada de *Mepraia spinolai* en condiciones de laboratorio y terreno: cinco años de estudio. *Parasitol. al Día* 22:72-78.

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. Inst. Oswaldo Cruz* 94: 687-692.

CANALS, M.; EHRENFELD, M. y CATTAN, P. 2000. Situación de *Mepraia spinolai*, vector silvestre de la enfermedad de Chagas en Chile, en relación con otros vectores desde la perspectiva de sus fuentes de alimentación. *Rev. Méd. Chile* 128: 1108-1112.

CANALS, M.; CRUZAT, L.; MOLINA, M.; FERREIRA, A. y CATTAN, P. 2001. Blood host sources of *Mepraia spinolai* (Heteroptera: Reduviidae), wild vector of Chagas disease in Chile. *J. Med. Entomol.* 38: 303-307.

CATTAN, P.; PINOCHET, A.; BOTTO-MAHAN, C.; ACUÑA, M. y CANALS, M. 2002. Abundance of *Mepraia spinolai* in periurban zone of Chile. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 97: 285-287.

DIAS, J. y SCHOFIELD, C. 1999. The evolution of chagas disease (American Trypanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas discovery. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 94: 103-121.

DIAS, J.; SILVEIRA, A. y SCHOFIELD, C. 2002. The impact of Chagas disease control in Latin America - a review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 97: 603-612.

DIAS-LIMA, A. y SHERLOCK, I. 2000. Sylvatic vectors invading houses and the risk of emergence of cases of Chagas disease in Salvador, State of Bahia, Northeast Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 95: 611-613.

ENAGY, G.; VASQUEZ, R.; BARNES, B. y BOZINOVIC, F. 2004. Microstructure of summer activity in a thermally heterogeneous habitat. J. Mammal. 85: 260-267.

FINZI, A.; MACCHIONI, P. y KUZMINSKY, G. 1994. Circadian cycle of rabbit body temperature in the hot season. Proceedings of the 1st International Conference on Rabbit Production in Hot Climates. Cairo 8.471-8.474

FLORES, G. y LAZZARI C. 1996. The role of the antennae in *Triatoma infestans*: orientation towards thermal sources. J. Insect Physiol. 42: 433-440.

FRIAS, D.; HENRY, A. y GONZALES, C. 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.

FRIEND, W. y SMITH, J. 1977. Factors affecting feeding by bloodsucking insects. Ann. Rev. Entomol. 22: 309-331.

GAUNT, M. y MILES, M. 2000. The ecotopes and evolution of Triatomine bugs (Triatominae) and their associated Trypanosomes. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 95: 557-565.

GUERENSTEIN, P. y GUERIN, P. 2001. Olfactory and behavioural responses of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to odours of vertebrate hosts. J. Exp. Biology 204: 585-597.

GUHL, F.; JARAMILLO, C.; VALLEJO, G.; YOCKTENG, R.; CARDENAS-ARROYO, F.; FORNACIARI, G.; ARRIAZA, B. y AUFDERHEIDE, C. 1999. Isolation of *Trypanosoma cruzi* DNA in 4,000-year-old mummified human tissue from northern Chile. Am. J. Phys. Anthropol. 108: 401-407.

JAKSIC, F. 1998. Vertebrate invaders and their ecological impacts in Chile. Biodiversity and Conservation 7: 1427-1445.

JIMÉNEZ, J. y LORCA, T. 1990. Trypanosomiasis americana en vertebrados silvestres y su relación con el vector *Triatoma spinolai*. Arch. Med. Vet., 22: 179-183.

LAZZARI, C. y NUÑEZ, J. 1989. The response to radiant heat and the estimation of the temperature of distant sources in *Triatoma infestans*. J. Insect Physiol. 35: 525-529.

LEHANE, M. 1991. Biology of blood-sucking insects. Harper Collins Academic. London, UK. XX p.

LENT, H. y WYGODZINSKY, P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. Bull American Mus Nat Hist 163: 123-520.

LENT, H. ; JURBERG, J. y GALVAO, C. 1994. Revalidacao do genero *Mepraia*, Mazza, Gajardo & Jorg, 1940 (Hemiptera, Reduviidae, Triaominae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz 89: 347-252.

LORENZO, A.; REISENMAN, C. y LAZZARI, C. 1998. *Triatoma infestans* can be captured under natural climatic conditions using yeast-baited traps. Acta Tropica 70: 277-284.

MAEKELT, G. 1983. La epidemiología de la enfermedad de Chagas en relación con el ecosistema domiciliario. Interciencia 8: 353-365.

MATIAS, A.; DE LA RIVA, J.; MARTINEZ, E.; TORREZ, M. y DUJARDIN, J. 2003. Domiciliation process of *Rhodnius stali* (Hemiptera: Reduviidae) in Alto Beni, La Paz, Bolivia. Trop. Med. Int. Health 8: 264-268.

NOIREAU, F.; ROJAS, M.; MONTEIRO, F.; JANSEN, A. y TORRICO, F. 2005. Can wild *Triatoma infestans* foci in Bolivia jeopardize Chagas disease control efforts?. Trends Parasitol 21: 7-10.

NUÑEZ, J. 1982. Food source orientation and activity in *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae). Bull. Ent. Res. 72: 253-262.

ODUM, E. y SARMIENTO, F. 1998. Ecología, el puente entre ciencia y sociedad. McGraw-Hill, México. 343 p.

OPS. 2003. Informe Final: XIIª Reunión de la Comisión Intergubernamental del Cono Sur para la Eliminación de *Triatoma infestans* y la Interrupción de la Transmisión Transfusional de la Tripanosomiasis Americana (INCOSUR/Chagas). [en línea]. <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/dch-XII-INCOSUR-inf-final-chi.pdf>. [consulta: 06-06-2004].

ORDENES, H.; EHRENFELD, M.; CATTAN, P. y CANALS, M. 1996. Infección tripanotriatomina de *Triatoma spinolai* en una zona de riesgo epidemiológico. Rev Méd Chile 124: 1053-1057.

PRATA, A. 2001. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. The Lancet Infectious Diseases 1:92-100.

RENGIFO, A. 2000. Preferencias alimentarias específicas de *Mepraia spinolai* por vertebrados frecuentes en su hábitat. Memoria para optar al título Profesional de Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 69 p.

RIOS, A.; ALCAINO, H. y APT, W. 1986. Enfermedad de Chagas en caninos, bovinos y équidos sinantrópicos, de la provincia del Limarí, Chile. Parasitol. al Día 10: 40-45.

ROSE, A. y BOECKH, J. 1996. Hostfinding of the bloodsucking bug *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae), a vector of Chagas' disease: an olfactometer study. Proceedings of the XX International Congress of Entomology, Florence, p 768.

ROSE, A. y BOECKH, J. 1998. The effect of host stimuli on the host finding behaviour of the blood sucking bug *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae), under quasi-natural conditions. In: Brunnhofer, V. y Soldn, T. (eds.) Book of abstracts, VI European Congress of Entomology. Ceske Budejovice, p 680-681.

SALVATELLA, R.; CALEGARI, L.; LOWINGER, M.; BASMADJIAN, Y.; ROSA, R.; MENDARO, G. y CIVILA, E. 1991. *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Triatominae) y su papel como vector secundario del ciclo domiciliario de *Trypanosoma cruzi* en Uruguay. Rev. Méd. Uruguay 7: 45-50.

SCHENONE, H.; VILLAROEL, F. y ROJAS, A. 1995. Presencia de *Triatoma spinolai* en viviendas humanas. Bol. Chil. Parasitol. 50: 76-79.

SCHOFIELD, C. 1988. Biosystematics of haematophagus arthropods, ed MW service, pp. 284-312. Oxford, UK: Clarendon.

SCHOFIELD, C. 1994. Triatominae, biología y control. Eurocommunica Publications. Sussex Oeste, Inglaterra. 80 p.

SCHOFIELD, C.; DIOTAIUTI, L. y DUJARDIN, J. 1999. The process of domestication in Triatominae. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 94: 375-378.

SCHOFIELD, C. 2000 a. Biosystematics and evolution of the Triatominae. Cad. Saúde Pública 16: 89-92.

SCHOFIELD, C. 2000 b. *Trypanosoma cruzi* – The vector-parasite paradox. Mem. Inst Oswaldo Cruz 95: 535-544.

SOLARI, A.; WALLACE, A.; ORTIZ, S.; VENEGAS, J. y SANCHEZ, G. 1998. Biological characterization of *Trypanosoma cruzi* stocks from Chilean insect vectors. Exp. Parasitol. 89: 312-322.

TANEJA, J. y GUERIN, P. 1997. Ammonia attracts the haematophagous bug *Triatoma infestans*: behavioural and neurophysiological data on nymphs. J. Comp. Physiol. A 181: 21-34.

WHO. s. f. Chagas, burdens and trends. [en línea].
<<http://www.who.int/ctd/chagas/burdens.htm>>[consulta: 22-09-2005].

WHO. 1991. Control of Chagas Disease. Technical report series 811. Geneva: WHO; 95pp.

WHO. 2000. Chagas' disease interrupted in Chile. TDR News 61:10.

WIGGLESWORTH, V. y GILLET, J. 1934. The functions of the antennae in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) and the mechanism of orientation to the host. J. Exp. Biol. 11: 120-139. (citado por Lazzari, C. y Núñez, J. 1989. The response to radiant heat and the estimation of the temperature of distant sources in *Triatoma infestans*. J. Insect Physiol. 35: 525-529).

WOLFF, M. y CASTILLO, D. 2002. Domiciliation trend of *Panstrongylus rufotuberculatus* in Colombia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 97: 297-300.

YEO, M.; ACOSTA, N.; LLEWELLYN, M.; SANCHEZ, H.; ADAMSON, S.; MILES, G.; LOPEZ, E.; GONZALES, N.; PATTERSON, J.; GAUNT, M.; ROJAS DE ARIAS, A. y MILES, M. 2005. Origins of Chagas disease: *Didelphis* species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. Int. J. Parasitol. 35: 225-233.

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