



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

**TASA DE INFECCION DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EN CANINOS
DOMESTICOS DE SECTORES RURALES DE LA REGION DE
COQUIMBO**

Josefa Verónica Jaime Padilla

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

PROFESOR GUÍA: Pedro Eduardo Cattán Ayala
Universidad de Chile

FONDECYT N° 1140650

SANTIAGO, CHILE
2017



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

**TASA DE INFECCION DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EN CANINOS
DOMESTICOS DE SECTORES RURALES DE LA REGION DE
COQUIMBO**

Josefa Verónica Jaime Padilla

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

Nota Final:

Profesor Guía: Pedro Cattán

Profesor Corrector: Héctor Adarmes

Profesor Corrector: Patricio Retamal

PROFESOR GUÍA: Pedro Eduardo Cattán Ayala
Universidad de Chile

FONDECYT N° 1140650

SANTIAGO, CHILE
2017

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a todos los que han estado conmigo y me han apoyado en este largo camino que ha sido la realización de mi memoria de título.

A mis padres, Verónica Padilla y José Jaime por el apoyo incondicional, los consejos y la paciencia que han tenido durante este proceso.

A mi pololo, Hernán Vargas por estar a mi lado siempre, dándome ánimos en momentos de estrés, aconsejándome y ofreciéndome su ayuda en todo.

A mi hermana, Linda Jaime por soportarme cuando estudiaba.

Al Dr. Cattán por guiarme en el desarrollo de esta memoria de título.

A Antonella por sus correcciones en el anteproyecto y presentaciones.

A Catalina por su apoyo en los ensayos de qPCR y análisis estadístico.

A todos quienes fueron a la salida a terreno, algunos ayudando en la toma de muestras: Solange, Diego, Alejandra, María Fernanda, Yefi, Andrés y Pato.

ÍNDICE

RESUMEN	II
ABSTRACT	II
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
OBJETIVO GENERAL	7
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
MATERIALES Y MÉTODOS	8
Localización del estudio	8
Toma de muestra.....	8
Individuos del estudio	8
Declaración de ética.....	9
Extracción ADN	9
Detección de <i>T. cruzi</i>	9
Declaración de Bioseguridad	10
Análisis estadístico	10
RESULTADOS	12
Resolución del objetivo 1:	12
Resolución del objetivo 2:	12
Resolución del objetivo 3:	14
Resolución del objetivo 4:	14
Resolución del objetivo 5:	14
DISCUSIÓN	15
CONCLUSIONES	19
BIBLIOGRAFÍA	20
PLANIFICACIÓN	26
ANEXO N° 1	27
ANEXO N° 2	28
ANEXO N° 3	29

RESUMEN

La enfermedad de Chagas se encuentra presente en el continente americano desde hace más de 9.000 años. En Chile la zona endémica se extiende desde la Región de Arica y Parinacota hasta la Región de O'Higgins. Cualquier mamífero es susceptible a la infección, siendo los perros uno de los principales reservorios domésticos de la enfermedad. El objetivo de este estudio fue caracterizar la tasa de infección por *Trypanosoma cruzi* en caninos domésticos de 8 localidades rurales de la Región de Coquimbo. Para ello se obtuvieron 380 muestras sanguíneas de perros durante los primeros meses del año 2015, a las cuales se les realizó la extracción del ADN mediante un kit comercial y analizadas mediante ensayos de PCR tiempo real. Se detectaron 162 muestras positivas a *T. cruzi*, representando una tasa de infección del 42,6%. Peralillo y Gualiguaica demostraron presentar una mayor cantidad de perros infectados en comparación con las demás localidades. No se encontraron diferencias significativas según edad, sexo, condición corporal ni cantidad de caninos presentes en las viviendas con el estatus de infección en los perros. Es evidente que el ciclo de transmisión peridoméstico persiste, representando un riesgo de infección hacia los pobladores.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, reservorio, perros domésticos, *Trypanosoma cruzi*, tasa de infección, transmisión.

ABSTRACT

The Chagas disease has been present in the Americas for more than 9,000 years. In Chile, the endemic zone extends from Arica and Parinacota Region to O'Higgins Region. Any mammal is susceptible to infection, and dogs are one of the main domestic reservoirs of this disease. The objective of this study was to characterize the rate of infection by *Trypanosoma cruzi* in domestic canines from 8 rural localities in the Coquimbo Region. For this purpose, 380 blood samples of dogs were obtained during the first months of 2015, and the DNA were extracted with a commercial kit and analyzed by real-time PCR assays. A total of 162 *T. cruzi* positive samples were detected, representing an infection rate of 42.6%. Peralillo and Gualiguaica showed a higher number of infected dogs compared to the other localities. No significant differences were found between age, sex, body condition

or number of canines present in the houses with the infection status in dogs. It is evident that the peridomestic transmission cycle persists, representing a risk of infection to these habitants.

Key words: Chagas' disease, reservoir, domestic dogs, *Trypanosoma cruzi*, infection rate, transmission.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana fue descrita en 1909 por Carlos Chagas. Consiste en una infección parasitaria provocada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, el que es transmitido mediante vectores triatominos, también llamados vinchucas, las que están muy difundidas en América (Schofield, 1994).

Existen diversas formas de contagio de esta enfermedad: mediante la vía vectorial, transfusional, transplacentaria, alimentaria, trasplantes de órganos infectados y por accidentes de laboratorio (Storino, 1998).

La zona endémica de la enfermedad de Chagas se extiende desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Argentina y centro de Chile, estando presente en el continente americano desde hace más de 9.000 años. Es considerada una de las mayores preocupaciones en materia de salud pública en América Latina (Teixeira *et al.*, 2006), se estima que existen alrededor de 6 a 7 millones de personas infectadas en el mundo (WHO, 2017). En Chile, el área endémica por la presencia del vector se extiende entre la Región de Arica y Parinacota por el norte a la Región de O'Higgins por el sur, incluyendo a la Región Metropolitana (ISPCH, 2014). Existen alrededor de 142.000 habitantes infectados en el país, donde el 56% de los casos pertenece al Servicio de Salud de la Región de Coquimbo (Apt *et al.*, 2008a).

Todos los mamíferos son considerados susceptibles a la infección, en cambio aves, reptiles y anfibios son refractarios. Han sido encontradas aproximadamente 180 especies de mamíferos infectados (WHO, 2002). En el caso de los perros, como reservorios cumplen un rol importante en la mantención de la enfermedad, debido al estrecho contacto que existe entre ellos y los seres humanos. Además, presentan una mayor probabilidad de infectarse al permanecer en el exterior de las viviendas, y de infectar a triatominos que no poseían el parásito al momento de alimentarse de los perros parasitados (Gürtler *et al.*, 1998a).

Un resumen sobre el estatus de infección en perros en Chile realizado entre los años 1929 y 1972, demuestra una positividad en 313 caninos de un total de 3.579 examinados, obteniendo una tasa de infección del 8,3% (Schenone *et al.*, 1972).

En el presente proyecto se determinará la presencia de *T. cruzi* en sangre de perros domésticos en diferentes localidades rurales de la Región de Coquimbo, con el fin de

evaluar y caracterizar la tasa de infección en estos animales, lo que puede ser un indicador del riesgo a la exposición de las viviendas rurales y de sus habitantes a la infección con *T. cruzi*.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El agente causal de la enfermedad de Chagas es el protozoo *Trypanosoma cruzi*, un hemoparásito flagelado del orden Kinetoplastida. Su ciclo de vida incluye el paso por un vector hemíptero hematófago, de la subfamilia Triatominae, y luego por diferentes clases de mamíferos con los que vive en estrecha relación. Los hospederos mamíferos incluyen especies silvestres, animales domésticos y humanos (Spickler *et al.*, 2010). En el mamífero el *T. cruzi* ingresa como tripomastigote metacíclico, pierde su flagelo y se transforma en amastigote, que se replica por fisión binaria dentro del citoplasma. Los amastigotes se diferencian nuevamente en tripomastigotes y son liberados de la célula infectada. Estos tripomastigotes pueden invadir otra célula y repetir el proceso replicativo, o bien pueden entrar al sistema circulatorio y ser ingerido por un triatomo al momento de alimentarse. Dentro del intestino medio del vector, el parásito se diferencia a epimastigote, donde ocurre fisión binaria. Los epimastigotes dejan de dividirse y se diferencian de nuevo en tripomastigotes metacíclicos en intestino posterior (Pereira *et al.*, 2009). Luego de alimentarse, el triatomo defeca, liberando tripomastigotes metacíclicos en las deyecciones. El protozoo puede ingresar al organismo del mamífero a través de las membranas mucosas o de lesiones cutáneas. Al momento del rascado debido a la picazón que provoca la picadura, se pueden inocular los tripomastigotes en la herida (Spickler *et al.*, 2010). Otros mecanismos por los cuales el parásito puede ingresar al organismo del mamífero es mediante transfusiones sanguíneas, trasplante de órganos, ingestión del insecto contaminado, ingestión de alimentos o bebidas contaminadas con heces de triatomos infectados o con orina o heces de otros mamíferos infectados, ingestión de carne cruda infectada, a través de la placenta y leche materna (Zeledón, 1974).

El diagnóstico de *T. cruzi* puede ser parasitológico, serológico o molecular. El diagnóstico parasitológico detecta el *T. cruzi* en sangre del individuo, mediante frotis o hemocultivo, o bien por xenodiagnóstico, usando vectores no infectados, alimentados con la sangre del individuo para buscar el parásito en las heces del insecto. Estos métodos son utilizados en la fase aguda de la infección, ya que la parasitemia es mayor que en la fase crónica. Los métodos de diagnóstico serológicos permiten determinar la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi*. Los más utilizados son ELISA, inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta y *Western blot*. El problema es que estas evaluaciones sólo determinan la

presencia de anticuerpos contra el parásito, los cuales pueden estar presentes como una reacción de memoria inmunológica, pero no dan información sobre la presencia activa del parásito, además de generar reacción cruzada con los antígenos de otros tripanosomátidos. El diagnóstico molecular mediante PCR se realiza con una muestra de sangre del individuo, de la cual se extrae ADN total y mediante el uso de iniciadores específicos se amplifica una región del ADN de *T. cruzi*. Con este método se puede detectar la presencia del ADN del parásito en la sangre y también puede usarse en tejidos infectados. Mediante PCR se amplifican secuencias repetitivas de ADN nuclear de *T. cruzi*, o bien, secuencias de ADN presentes en el kinetoplasto; estas últimas están formadas por cerca de 20.000 copias de material genético organizado en minicírculos y maxicírculos de ADN, encargados de codificar ARN ribosomales y algunas proteínas que participan en la generación de ATP. (Martínez *et al.*, 2013). Se describe una sensibilidad de la técnica de PCR mayor que la observada en los métodos de xenodiagnóstico y hemocultivo. Sin embargo, esta sensibilidad depende del nivel de parasitemia del individuo (Guhl *et al.*, 2002). Mediante PCR tiempo real la sensibilidad en pacientes seropositivos crónicos varía desde un 41% hasta un 76% (Piron *et al.*, 2007; Duffy *et al.*, 2013; Moreira *et al.*, 2013).

Los triatomíneos (en Chile, vinchucas) poseen un hábitat principalmente silvestre, incluyendo madrigueras, nidos, pilas de rocas, árboles huecos y cuevas, asociados estrechamente con sus hospederos vertebrados. Otras vinchucas han colonizado hábitats peridomésticos, ocupando gallineros o corrales, además de viviendas rurales o con falta de aseo (Schofield, 1994). Se reconocen cuatro especies de triatomíneos dentro del país; *Triatoma infestans*, *Mepraia spinolai*, *Mepraia gajardoi* y *Mepraia parapatrica* (ISPCH, 2012).

Epidemiológicamente, se conocen tres ciclos dentro de esta enfermedad: el ciclo doméstico, donde se infectan humanos, que habitan en viviendas rurales con precarias condiciones de aseo, principalmente por el vector *Triatoma infestans*; el ciclo silvestre, donde intervienen triatomíneos silvestres que infectan a roedores, marsupiales, armadillos y otros mamíferos silvestres; y el ciclo peridoméstico, donde intervienen varios mamíferos como perros, gatos, roedores y marsupiales que entran y salen libremente de las viviendas, además de triatomíneos silvestres, atraídos hacia las casas por la luz y el alimento. Este ciclo sirve como nexo entre los ciclos doméstico y silvestre (Marsden, 1993).

Los perros se ven afectados por la enfermedad de Chagas de manera similar a los humanos, distinguiéndose la manifestación de signos clínicos que varían según la etapa que estén cursando. Se describen tres etapas de la infección; aguda, latente y crónica. La afección aguda se presenta generalmente en perros menores de un año, con signos clínicos que incluyen fiebre, anorexia, letargo, pelaje descuidado, linfadenopatía, hepatomegalia y esplenomegalia. Además, se puede observar diarrea, signos de insuficiencia cardíaca derecha, ascitis, pérdida de peso y edema palpebral en algunos casos. La disfunción cardíaca durante la fase aguda puede incluir miocarditis aguda, presentando arritmias y una posible muerte súbita. Luego de la etapa aguda, los perros infectados presentan la etapa latente o indeterminada, donde es difícil encontrar los parásitos y el animal es asintomático. Ésta puede durar desde 27 días en animales infectados experimentalmente, hasta varios años en infecciones naturales. Durante la etapa crónica, la insuficiencia cardíaca congestiva es el signo más frecuente. Eventualmente, se produce una miocarditis crónica con dilatación cardíaca y arritmias. También se han registrado casos con signos neurológicos como debilidad, ataxia y coma (Spickler *et al.*, 2010).

El principal reservorio doméstico en áreas endémicas de América Latina es el perro. Éste representa una frecuente fuente de alimentación para los triatomíneos domésticos (Gürtler *et al.*, 1997). El tamaño de la población y las tasas de infección de los triatomíneos están positivamente asociados con el número de perros infectados por vivienda (Gürtler *et al.*, 1998a). Por lo general los perros y gatos son altamente infecciosos para los insectos triatomíneos y presentan una mayor infecciosidad (definida como la proporción de insectos no infectados que llegan a infectarse luego de alimentarse solo una vez de la sangre de un hospedero infectado) que los humanos seropositivos a *T. cruzi* (Gürtler *et al.*, 1996; Gürtler *et al.*, 2007).

Se ha señalado que los perros podrían servir como centinelas naturales en la fase de vigilancia, ayudando a detectar la introducción de *T. cruzi* en el ciclo doméstico (Wisnivesky-Colli *et al.*, 1985; Gürtler *et al.*, 1986). Además, debido a sus papeles como depredadores o depuradores de tejidos de hospederos posiblemente infectados, también pueden actuar como centinelas de fuentes silvestres de infección (Cleaveland *et al.*, 2006).

En Chile hay pocos datos actuales dentro de la Región de Coquimbo sobre infección en perros. En un estudio realizado en 1982 en la Región de Coquimbo se analizó la tasa de infección de *T. cruzi* en distintos animales, donde se obtuvieron 35 perros positivos de los 224 evaluados, es decir, una tasa de infección de un 15,6%. El método de diagnóstico utilizado fue la reacción de hemaglutinación indirecta (Correa *et al.*, 1982). En otro estudio realizado en 1986 nuevamente en la Región de Coquimbo, utilizando el mismo método diagnóstico, fueron evaluados 202 caninos, obteniendo una tasa de infección levemente mayor de un 19,8% (Ríos *et al.*, 1986).

Dados estos antecedentes, se ha considerado relevante aportar datos actualizados sobre la tasa de infección de este parásito en perros domésticos de la Región de Coquimbo.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la tasa de infección por *Trypanosoma cruzi* en perros domésticos (*Canis lupus familiaris*) de sectores rurales de la Región de Coquimbo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la presencia de *T. cruzi* en sangre de perros de la Región de Coquimbo.
2. Determinar la proporción de perros positivos a *T. cruzi* según localidad estudiada.
3. Analizar la proporción de perros positivos a *T. cruzi* según sexo y rango de edad.
4. Analizar la proporción de perros positivos a *T. cruzi* según número de caninos presentes en la vivienda.
5. Relacionar la condición corporal con el estatus de infección por *T. cruzi*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio

Éste fue realizado en una zona endémica de la enfermedad de Chagas, la cual corresponde a la Región de Coquimbo, donde se efectuó la toma de muestras de sangre a perros presentes en ocho localidades, las cuales fueron las siguientes: Gualliguaica, Comuna de Vicuña (30°00'15"S 70°49'00"O); Peralillo, Comuna de Vicuña (30°03'33"S 70°68'33"O) y Cochiguaz, comuna de Paihuano (30°8'29"S 70°24'20"O) pertenecientes a la Provincia de Elqui; Tulahuén, Comuna de Monte Patria (31°01'67"S 70°73'33"O); Valle Hermoso, Comuna de Combarbalá (31°15'00"S 70°45'00"O) y La Rinconada, Comuna de Punitaqui (30°54'00"S 71°16'00"O) pertenecientes a la Provincia de Limarí; Matancilla, Comuna de Illapel (31°45'64"S 71°04'77"O), y Tranquilla, Comuna de Salamanca (31°52'59"S 70°43'50"O) pertenecientes a la Provincia de Choapa. Estas localidades se determinaron dentro del proyecto Fondecyt 1140650 del cual esta memoria es parte.

Toma de muestra

Las muestras se obtuvieron extrayendo sangre a perros mayores de 6 meses de edad mediante punción de la vena cefálica en miembros anteriores, o de la vena safena externa en miembros posteriores, dependiendo de la facilidad y/o comportamiento de cada perro al momento de la toma de muestra. Luego de desinfectar la zona con alcohol se realizó la punción con jeringas estériles de 3 mL con aguja calibre 21G o 23G (dependiendo del tamaño del perro), obteniendo una cantidad de 0,5 mL de sangre por muestra, las cuales fueron recolectadas en tubos eppendorf, los que contenían una solución 6 M Guanidina – HCl y 200 mM EDTA (GuHCl-EDTA) (Ávila *et al.*, 1991) para permitir su conservación a temperatura ambiente y mantención de la estructura del ADN intacta.

Individuos del estudio

Se obtuvo un total de 380 muestras, donde el número obtenido por localidad tuvo variaciones según la cantidad de perros que se encontraron en las viviendas y del consentimiento de los propietarios para tomar la muestra de sangre a sus mascotas (Anexo N°1: Certificado de Consentimiento Informado); sin embargo, por requerimiento estadístico, se tomaron al menos 30 muestras por localidad. Además, fueron registrados los

siguientes datos de cada perro: nombre, edad, sexo, condición corporal y cantidad de caninos con los cuales convive.

Declaración de ética

El presente estudio con muestras caninas fue aprobado por el Comité de Bioética Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (Anexo N°2), siguiendo los principios internacionales para el uso de animales en investigación biomédica (CIOMS, 2012).

Extracción ADN

Todas las muestras sanguíneas fueron llevadas al laboratorio de Ecología en la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, donde se extrajo el ADN utilizando el kit Quick-gDNA™ Bood MiniPrep, según las recomendaciones del fabricante. Estas muestras extraídas fueron conservadas a -20°C, para su posterior utilización.

Detección de *T. cruzi*

Para detectar la presencia de *T. cruzi* en cada una de las muestras, se realizó un ensayo de PCR tiempo real, utilizando partidores cruzi 1 5' ASTCGGCTGATCGTTTTTCGA 3' y cruzi 2 5' AATTCCTCCAAGCAGCGGATA 3' (Piron *et al.*, 2007), los cuales amplifican la región conservada satelital de *T. cruzi*. Los ensayos fueron realizados en un termociclador *Rotor-Gene*® (QIAGEN®) conteniendo un volumen final de 20 µL, incluyendo 5µL de ADN, 1X *HOT FIREPol*® *EvaGreen*® *qPCR Mix Plus* (Solis BioDyne), 0,3 µM de cada partidor y agua libre de nucleasas para completar el volumen final. Las condiciones de ciclado para los ensayos fueron de una pre-incubación de 15 minutos a 95°C seguido de 40 ciclos, cada uno con una etapa de desnaturalización a 95°C durante 15 segundos, una etapa de hibridación a 65°C por 20 segundos y una etapa de extensión a 72°C por 20 segundos. El registro de la fluorescencia emitida se realizó a 72°C al final de cada ciclo y la curva de fusión se evaluó con una rampa de 72°C a 95°C aumentando 1°C en cada paso, esperando 90 segundos de acondicionamiento pre-fusión en el primer paso y 5 segundos para cada paso posterior. Cada reacción fue llevada a cabo con un control negativo (ADN de sangre de perro libre de *T. cruzi*), un control positivo (ADN de sangre de perro contaminada con las cepas Y y DM28c de *T. cruzi*) y un control sin templado (agua libre de nucleasas). Todas las muestras se analizaron por duplicado.

Declaración de Bioseguridad

Durante esta investigación se trabajó bajo medidas aprobadas por el Comité de Bioseguridad de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile para el proyecto FONDECYT 1140650 (Anexo N°3).

Análisis estadístico

Objetivo 1:

Con los resultados obtenidos se calculó la tasa de infección mediante el cociente entre el número de individuos parasitados en el total de individuos examinados.

Objetivo 2:

Se hizo una comparación de los porcentajes de caninos positivos y negativos a *T. cruzi* dentro de cada localidad estudiada. Luego, mediante la prueba de χ^2 se probó si existen diferencias entre localidades. Para identificar donde se encontraban esas diferencias se utilizó el test exacto de Fisher entre cada combinación.

Objetivo 3:

Se compararon las proporciones de caninos positivos y negativos a *T. cruzi* según sexo y según rango de edad (hasta 2 años, de 3 a 5 años y de 6 a 15 años). La comparación se realizó para detectar posibles diferencias según sexo y edades de los caninos, mediante el test exacto de Fisher y la prueba de χ^2 respectivamente.

Objetivo 4:

Se hizo una comparación entre las proporciones de caninos positivos y negativos a *T. cruzi* según número de perros presentes en cada vivienda, agrupados en 2 clases (1 a 2 perros y más de 2 perros). La comparación se realizó con el fin de analizar si el número de perros afecta la probabilidad de infección por *T. cruzi*. Para ello se utilizó el test exacto de Fisher.

Objetivo 5:

Se relacionaron las proporciones de perros según su condición corporal (baja, óptima y sobrepeso) con la probabilidad de estar infectado por *T. cruzi*. Para resolver este objetivo se utilizó la prueba de χ^2 .

Las pruebas estadísticas se realizaron con el programa GraphPad Prism7®, usando un nivel de confianza de 95%.

RESULTADOS

El número total de muestras sanguíneas caninas obtenidas fue de 380. Del total, 65 correspondieron a la localidad de Gualliguaica, 56 a Peralillo, 41 a Cochiguaz, 42 a Tulahuén, 53 a Valle Hermoso, 42 a La Rinconada, 37 a Matancilla y 44 a Tranquilla.

Resolución del objetivo 1:

Determinar la presencia de *T. cruzi* en sangre de perros de la Región de Coquimbo.

Se logró detectar la presencia de *T. cruzi* en un total de 162 perros, representando una tasa de infección del 42,6 %.

Resolución del objetivo 2:

Determinar la proporción de perros positivos a *T. cruzi* según localidad estudiada.

La cantidad de perros positivos a *T. cruzi* detectados en la localidad de Gualliguaica fue de 36 (55%), en Peralillo fue de 33 (59%), en Cochiguaz 10 (24%), en Tulahuén 17 (40%), en Valle Hermoso 19 (36%), en La Rinconada 13 (31%), en Matancilla 13 (35%) y en Tranquilla 21 (48%). Esto se ve detallado en la figura Nro. 1.

Mediante la prueba de χ^2 se logró determinar que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la cantidad de perros positivos y negativos entre las distintas localidades ($\chi^2 = 20.72,7$; valor de $p = 0,0042$).

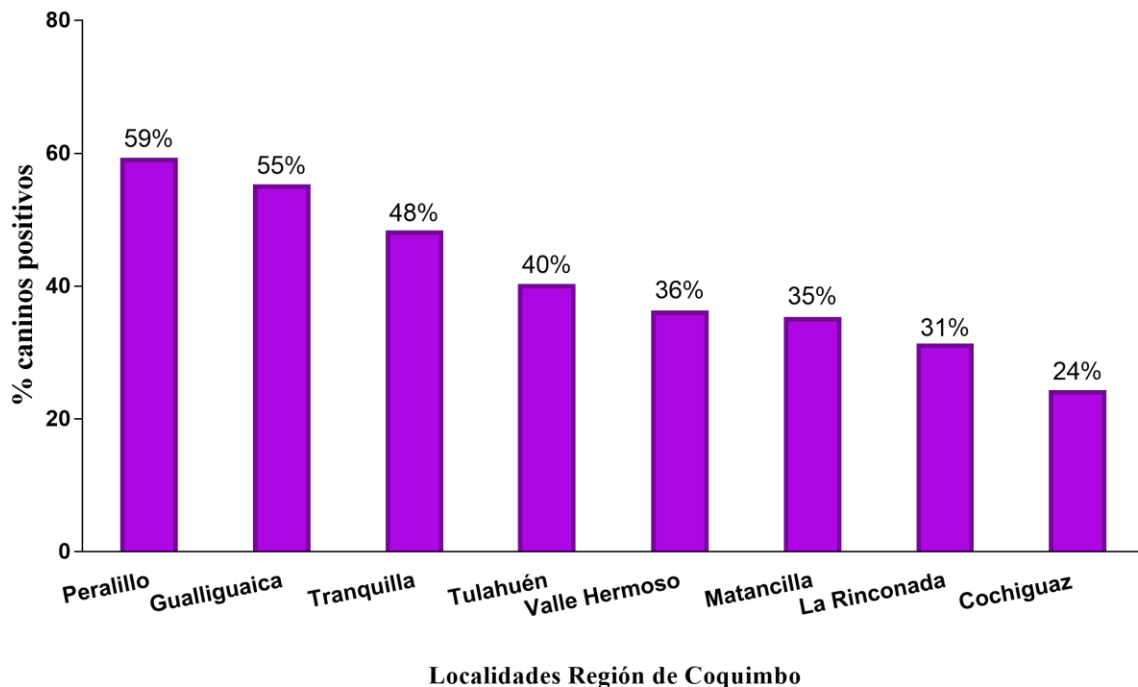


Figura Nro. 1: Porcentaje de perros positivos a *T. cruzi* por localidad.

En la siguiente tabla (Nro. 1) se demuestra la comparación realizada entre cada localidad mediante el test exacto de Fisher, donde se encontró una diferencia estadísticamente significativa en 8 combinaciones, siendo Peralillo y Gualliguaica las localidades que presentan diferencias con más localidades.

Tabla Nro. 1: Valores de P según test exacto de Fisher entre cada localidad. Los cuadros verdes (*) indican donde hubo diferencia estadísticamente significativa.

Localidades	Gualliguaica	Peralillo	Cochiguaz	Tulahuén	V.Hermoso	Rinconada	Matancilla	Tranquilla
Gualliguaica								
Peralillo	0,7164							
Cochiguaz	0,0024*	0,0009*						
Tulahuén	0,1667	0,1020	0,1604					
V. Hermoso	0,0420*	0,0213*	0,2665	0,6750				
Rinconada	0,0172*	0,0079*	0,6252	0,4949	0,6665			
Matancilla	0,0641	0,0341*	0,3297	0,6500	>0,9999	0,8113		
Tranquilla	0,4428	0,3145	0,0416*	0,5226	0,3011	0,1277	0,2692	

Resolución del objetivo 3:

Analizar la proporción de perros positivos a *T. cruzi* según sexo y rango de edad.

- a) Comparación perros positivos a *T. cruzi* según sexo: Fueron analizadas 92 hembras y 288 machos, de los cuales se detectaron 40 hembras (43%) y 122 machos (42%) positivos. Sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre ambos (Fisher, valor de $p = 0,9038$).
- b) Comparación perros positivos a *T. cruzi* según rango de edad: Se analizaron 128 perros de hasta 2 años de edad, 128 entre 3 y 5 años y 124 de 6 a 15 años, de los cuales 59 (46%), 49 (38%) y 54 (44%) fueron positivos respectivamente. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los rangos de edad y el estatus de infección por *T. cruzi* ($\chi^2 = 1,66, 2$; valor de $p = 0,4360$).

Resolución del objetivo 4:

Analizar la proporción de perros positivos a *T. cruzi* según número de caninos presentes en la vivienda.

Se analizó un total de 183 caninos que habitaban en viviendas donde se encontraban uno a 2 perros y 197 caninos que habitaban en viviendas donde habían 3 o más perros, encontrándose 84 (46%) y 78 (40%) caninos positivos respectivamente. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los perros positivos y la cantidad de perros presentes en las viviendas (valor de $p = 0,2535$).

Resolución del objetivo 5:

Relacionar la condición corporal con el estatus de infección por *T. cruzi*.

Fueron analizados 57 caninos que presentaban una baja condición corporal, 299 presentando una óptima condición corporal y 24 en una condición corporal alta, detectándose 22 (39%), 125 (42%) y 15 (63%) caninos positivos, respectivamente. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la condición corporal y el estatus de infección por *T. cruzi* ($\chi^2 = 4,337, 2$; valor de $p = 0,1144$).

DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue caracterizar la tasa de infección por *T. cruzi* en caninos domésticos de sectores rurales de la Región de Coquimbo. En primer lugar, se detectó la presencia de este parásito en sangre de los perros muestreados mediante la técnica diagnóstica de PCR tiempo real, hallando un 42,6% de perros infectados. Esta tasa de infección obtenida difiere de estudios anteriormente realizados dentro de la misma Región, donde en 1982 a través de la técnica de hemaglutinación indirecta detectaron un 15,6% de perros infectados (Correa *et al.*, 1982), y en 1986 por medio de la misma técnica detectaron un 19,8% de infección (Ríos *et al.*, 1986). Esta diferencia en las tasas de infección podría deberse a la técnica diagnóstica utilizada para la detección del parásito. Sin embargo, ambas técnicas han demostrado presentar una alta sensibilidad y especificidad en la detección de *T. cruzi*. Caldas *et al.* (2012) validaron la técnica de PCR tiempo real frente a métodos serológicos, encontrando una fuerte correlación entre ellos.

La técnica diagnóstica directa de PCR tiempo real detecta la presencia activa del parásito en sangre, lo que ocurre principalmente durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas. Se ha descrito su utilidad para evaluar tempranamente la presencia de *T. cruzi* en los casos en que los métodos serológicos no son informativos, como en las infecciones recientes por contaminación oral o transmisión congénita, así como para la monitorización del tratamiento de esta enfermedad (Duffy *et al.*, 2013). Además, se utiliza para medir carga parasitaria, especialmente en inmunocomprometidos y donantes de órganos, en los cuales la serología no resulta útil por bajos niveles de linfocitos T CD4⁺ (Apt *et al.*, 2008b). Algunos autores han señalado que la sensibilidad de PCR tiempo real en pacientes crónicos seropositivos varía entre un 41% hasta un 76% (Piron *et al.*, 2007; Duffy *et al.*, 2013; Moreira *et al.*, 2013), en cambio Enríquez *et al.* (2014) en su estudio obtuvieron entre un 93 a 100% de sensibilidad en perros y gatos seropositivos.

Internacionalmente se han reportado diversas tasas de infección en perros; en México a través de PCR detectaron un 17,3% de perros infectados (Jiménez-Coello *et al.*, 2008), en Brasil, también por medio de PCR obtuvieron una tasa de infección del 50% (Lucheis *et al.*, 2005), en localidades rurales del Noroeste Argentino se registra un 28,2% de infección en perros mediante métodos serológicos (Binda *et al.*, 2016), en Costa Rica detectaron un

5,2% de caninos domésticos positivos (Reyes *et al.*, 2002) y en Venezuela un 22,1% de perros positivos a *T. cruzi* a través de métodos serológicos (Berrizbeitia *et al.*, 2013).

Al analizar el porcentaje de perros positivos a *T. cruzi* por localidad se observa que dentro de Peralillo y Gualiguaica se encuentran los mayores niveles de infección detectados en el estudio, con un 59% y un 55% respectivamente, ambas localidades pertenecientes a la comuna de Vicuña en la provincia de Elqui. En estos sectores se obtuvo la mayor cantidad de muestras en comparación con el resto de las localidades, abarcando el 32% del total, lo que podría haber aumentado la probabilidad de encontrar muestras positivas en estos sectores. Además, la comuna de Vicuña se encuentra ubicada hacia el norte de la Región de Coquimbo, donde hay mayor probabilidad de encontrar vectores triatominos, los cuales prefieren los hábitats con temperaturas más altas, baja precipitación y vegetación xérica (Hernández *et al.*, 2013). González (2012) describe que esta comuna presenta un alto riesgo de infestación vectorial domiciliaria y de infección por *T. cruzi*.

La tasa de infección detectada en los perros no demostró presentar diferencias por edad en este estudio. Enríquez *et al.* (2014) en Argentina tampoco detectaron diferencias en la edad de perros positivos a *T. cruzi* en un estudio realizado a través de PCR tiempo real. Igualmente, Lucheis *et al.* (2005) en Brasil no obtuvieron una diferencia significativa entre los rangos de edad de los perros y la positividad por xenodiagnóstico y/o hemocultivo y/o PCR. En cambio, Gürtler *et al.* (2007) quienes detectaron la infección por medio de serología y xenodiagnóstico, señalan un aumento en perros infectados mayores de 7 años (92% versus un 25% en perros menores de 1 año). Esto se puede deber a que existe cierto grado de resistencia a la infección en perros relacionada con la edad, presentando una mayor mortalidad en perros jóvenes (Desquesnes y de Lana, 2010). Perros diagnosticados mayores de 4 años de edad tienen una mayor esperanza de vida que perros más jóvenes (menores a 2 años) (Barr, 2009). Asimismo, en Panamá Saldaña *et al.* (2015) encontraron por medio de técnicas serológicas que los perros tenían 1,6 veces más probabilidades de ser positivos a *T. cruzi* con cada año de edad. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Berrizbeitia *et al.* (2013) en Venezuela, quienes informaron que el mayor número de perros infectados está en el grupo etario de 0 a 3 años, siendo el menor número de perros seropositivos los mayores a 7 años. Esto indica claramente infecciones recientes de los animales con el parásito.

La posible asociación de la condición corporal con el estatus de infección por *T. cruzi* no se detectó en este estudio, probablemente debido a que la cantidad de perros muestreados no fue representativa en cada categoría, presentándose la gran mayoría de los perros en una óptima condición. Igualmente, Enríquez *et al.* (2014) y Saldaña *et al.* (2015) tampoco detectaron una asociación entre la condición corporal y la positividad al parásito. No obstante, Enríquez *et al.* (2014) obtuvieron un índice de potencial infeccioso más alto en perros con baja condición corporal, siendo 4,9 veces mayor que los que se encontraban en buenas condiciones. Esto se asocia con una mayor carga parasitaria cuantificada en sangre a través de PCR tiempo real, lo que podría reflejar un efecto combinado entre el estado inmunitario y nutricional del hospedero (Petersen *et al.*, 2001; Keusch, 2003), siendo menos eficaces en el control de la parasitemia. Lo mismo se observa en el estudio de Jiménez-Coello *et al.* (2008), quienes detectaron una fuerte asociación de perros con una baja condición corporal con la probabilidad de infectarse por *T. cruzi*.

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que la infección por *T. cruzi* está presente en perros de localidades rurales de la Región de Coquimbo, manteniendo el ciclo de transmisión peridoméstico, representando un riesgo de transmisión hacia las personas que habitan en estos sectores. Está descrito que la presencia o número de perros infectados aumenta significativamente las probabilidades relativas de infección con *T. cruzi* en humanos (Gürtler *et al.*, 1991; Gürtler *et al.*, 1998a; Gürtler *et al.*, 1998b; Gürtler *et al.*, 2005).

En esta investigación no se puede concluir cuál es la principal vía de transmisión de *T. cruzi* en los perros, pero toma importancia la vía oral debido a que pueden ingerir los vectores. Se ha demostrado que el parásito presenta una gran capacidad infectiva por vía oral, además de tratarse generalmente de inóculos mayores a aquellos que puedan penetrar por las deyecciones a través de la piel en la vía vectorial (Filigheddu *et al.*, 2016).

La enfermedad de Chagas canina es relevante para los médicos veterinarios, debido a que es una zoonosis grave, difícil de diagnosticar y con falta de alternativas terapéuticas (Barr, 2009).

La prevención podría lograrse a través de la utilización de insecticidas residuales en perreras, en las casas de los perros y en sus alrededores. Como medida de salud pública no

se justifica realizar eutanasia a perros infectados, y tampoco resulta factible. Se han evaluado collares de perro impregnados de piretroides, los que eliminaron las poblaciones de insectos encerradas en chozas experimentales de pollos (Reithinger *et al.*, 2005; Reithinger *et al.*, 2006). Sería importante reevaluar esta alternativa, valores asociados a la implementación y dosis de piretroides adecuadas.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que existe un 42,6% de perros domésticos evaluados infectados por *T. cruzi* en localidades rurales de la Región de Coquimbo, siendo Peralillo y Gualliguaica donde hubo una mayor cantidad de perros positivos. Éstos representan un importante reservorio doméstico de la infección.

No se encontraron diferencias significativas según sexo, rango de edad ni condición corporal de los perros infectados. Tampoco se detectaron diferencias por cantidad de perros presentes por vivienda.

Estos datos indican que los pobladores de sectores rurales de la Región de Coquimbo se encuentran expuestos a un riesgo de infección por *T. cruzi*, lo que demuestra la importancia de establecer medidas sanitarias efectivas para eliminar los insectos vectores en peridomicilio y evitar el posible contagio en animales domésticos y sus propietarios.

BIBLIOGRAFÍA

APT, W.; HEITMANN, I.; JERCIC, M.; JOFRÉ, L.; MUÑOZ P.; NOEMÍ, I.; SAN MARTÍN, A.; SAPUNAR, J.; TORRES, M.; ZULANTAY, I. 2008a. Guías clínicas de la Enfermedad de Chagas. Parte I. Introducción y epidemiología. Rev Chil Infect. 25:190-192.

APT, W.; HEITMANN, I.; JERCIC, M.; JOFRE, L.; MUÑOZ, P.; NOEMI, I.; SAN MARTIN, A.; SAPUNAR, J.; TORRES, M.; ZULANTAY, I. 2008b. Guías clínicas de la enfermedad de Chagas. Parte V. Diagnóstico de laboratorio. Rev Chil Infect. 25(5): 381.

ÁVILA, H.; SIGMAN, D.; COHEN, L.; MILLIKAN, R.; SIMPSON, L. 1991. Polymerase chain reaction amplification of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast minicircle DNA isolated from whole blood lysates: diagnosis of chronic Chagas disease. Mol. Biochem. Parasitol. 48(2): 211-222.

BARR, S. 2009. Canine Chagas' disease (American trypanosomiasis) in NorthAmerica. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 39: 1055–1064.

BERRIZBEITIA, M.; CONCEPCIÓN, J.; CARZOLA, V.; RODRÍGUEZ, J.; CÁCERES, A.; QUIÑONES, W. 2013. Seroprevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en *Canis familiaris* del estado Sucre, Venezuela. Biomedica. 33: 214-223.

BINDA, J.; TROVA, G.; ALONSO, M.; PEREYRA, W.; NEGRETTE, O. 2016. Presencia de infección por *Trypanosoma cruzi* y *Toxoplasma gondii* en perros domésticos de localidades rurales en el Noroeste Argentino. Rev Patol Trop. 45(1): 66-76.

CALDAS, S.; SANTANA, I.; FIGUEIREDO, L.; DE LIMA, W.; OLIVEIRA, R.; BATISTA, A.; RIBEIRO, I.; TALVANI, A.; BAHIA, M. 2012. Real-time PCR strategy for parasite quantification in blood and tissue samples of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. Acta Trop. 123(3): 172-176.

CLEAVELAND, S.; MESLIN, F.; BREIMAN, R. 2006. Dogs can play useful role as sentinel hosts for disease. Nature. 440: 605.

CORREA, V.; BRICEÑO, J.; ZUÑIGA, J.; ARANDA, J.; VALDES, J.; CONTRERAS, M.; SCHENONE, H.; VILLAROEL, F.; ROJAS, A. 1982. Infección

por *Trypanosoma cruzi* en animales domésticos de sectores rurales de la IV Región, Chile. Bol. Chile Parasit. 37: 27-28.

COUNCIL FOR INTERNATIONAL ORGANIZATIONS OF MEDICAL SCIENCES (CIOMS) 2012. International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. pp. 1-4.

DESQUESNES, M.; DE LANA, M. 2010. Veterinary aspects and experimental studies. In: Telleria, J.; Tibayrenc, M. (Eds.), American Trypanosomiasis Chagas Disease One Hundred Years of Research. Elsevier Inc. pp. 277–318.

DUFFY, T.; CURA, C.; RAMIREZ, J.; ABATE, T.; CAYO, N.; PARRADO, R.; DIAZ, Z.; VELAZQUEZ, E.; MUÑOZ, A.; JUIZ, N.; BASILE, J.; GARCIA, L.; RIANTE, A.; NASSER, J.; OCAMPO, S.; YADON, Z.; TORRICO, F.; ALARCÓN DE NOYA, B.; RIBEIRO, I.; SCHIJMAN, A. 2013. Analytical Performance of a Multiplex Real-Time PCR Assay Using TaqMan Probes for Quantification of *Trypanosoma cruzi* Satellite DNA in Blood Samples. PLoS Neglected Trop. Dis. 7(1): 5-8.

ENRIQUEZ, G.; BUA, J.; OROZCO, M.; WIRTH, S.; SCHIJMAN, A.; GÜRTLER, R.; CARDINAL, M. 2014. High levels of *Trypanosoma cruzi* DNA determined by qPCR and infectiousness to *Triatoma infestans* support dogs and cats are major sources of parasites for domestic transmission. Infect. Genet. Evol. 25: 36–43.

FILIGHEDDU, M.; GORGOLAS, M.; RAMOS, J. 2016. Enfermedad de Chagas de transmisión oral. Med Clin. 148(3): 125-131.

GONZALEZ, R. 2012. Determinación del nivel de conocimiento de la enfermedad de Chagas, del riesgo de infestación vectorial domiciliaria e infección en la población rural de tres regiones endémicas de Chile. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile. pp 14-16.

GUHL, F.; JARAMILLO, C.; CARRANZA, J.; VALLEJO, G. 2002. Molecular characterization and Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli*. Arch Med Res. 33(4): 362-370.

GÜRTLER, R.; LAURICELLA, M.; SOLARZ, N.; BUJAS, M.; WISNIVESKY-COLLI, C. 1986. Dynamics of transmission of *Trypanosoma cruzi* in a rural area of

Argentina. I. The dog reservoir: an epidemiological profile. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 28: 28–35.

GÜRTLER, R.; CECERE, M.; RUBEL, D.; PETERSEN, R.; SCHWEIGMANN, N.; LAURICELLA, M.; BUJAS, A.; SEGURA, E.; WISNIVSKY-COLLI, C. 1991. Chagas disease in northwest Argentina: Infected dogs as a risk factor for the domestic transmission of *Trypanosoma cruzi*. *Trans. R. Soc. Trop. Med Hyg.* 85: 741–745.

GÜRTLER, R.; CECERE, M.; CASTAÑERA, M.; CANALE, D.; LAURICELLA, M.; CHUIT, R.; COHEN, J.; SEGURA, E.; 1996. Probability of infection with *Trypanosoma cruzi* of the vector *Triatoma infestans* fed on infected humans and dogs in northwest Argentina. *Am. J. Trop. Med Hyg.* 55: 24–31.

GÜRTLER, R.; COHEN, J.; CECERE, M.; CHUIT, R. 1997. Shifting host choices of the vector of Chagas disease *Triatoma infestans* and the availability of hosts in houses in northwest Argentina. *J Appl. Ecol.* 34: 699-715.

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

GÜRTLER, R.; CHUIT, R.; CECERE, M.; CASTAÑERA, M.; COHEN, J.; SEGURA, E. 1998b. Household prevalence of seropositivity for *Trypanosoma cruzi* in three rural villages in northwestern Argentina: environmental demographic, and entomologic associations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 59: 741–749.

GÜRTLER, R.; CECERE, M.; LAURICELLA, M.; PETERSEN, R.; CHUIT, R.; SEGURA, E.; COHEN, J. 2005. Incidence of *Trypanosoma cruzi* infection among children following domestic reinfestation after insecticide spraying in rural northwestern Argentina. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 73: 95–103.

GÜRTLER, R.; CECERE, M.; LAURICELLA, M.; CARDINAL, M.; KITRON, U.; COHEN, J. 2007. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parasitology.* 134: 69–82.

HERNANDEZ, J.; NUÑEZ, I.; BACIGALUPO, A.; CATTAN, P. 2013. Modeling the spatial distribution of Chagas disease vectors using environmental variables and people's knowledge. *Int. J. Health Geogr.* 12(29): 3-5.

ISPCH. 2012. Vigilancia para Enfermedad de Chagas 2005 - 2011: Componente vectorial. Boletín vol 2 (1) [en línea]. <<http://www.ispch.cl/sites/default/files/Bolet%C3%ADn%20Chagas%20Corregido%20final.pdf>> [consulta: 19-03-2017].

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE (ISPCH). 2014. Vigilancia de Enfermedad de Chagas 2005 – 2013: Componente vectorial. Boletín vol 4 (6) [en línea]. <http://www.ispch.cl/sites/default/files/Chagas%2023-06-2014_0.pdf> [consulta: 19-03-2017].

JIMÉNEZ-COELLO, M.; POOT-COB, M.; ORTEGA-PACHECO, A.; GUZMÁN-MARÍN, E.; RAMOS-LIGONIO, A.; SAURI-ARCEO, C.; ACOSTA-VIANA, K. 2008. American Trypanosomiasis in Dogs from an Urban and Rural Area of Yucatán, México. *Vector Borne Zoonotic dis.* 8(6): 756-758.

KEUSCH, G. 2003. The history of nutrition: malnutrition, infection and immunity. *J. Nutr.* 133: 336–340.

LUCHEIS, S.; DA SILVA, A.; ARAÚJO, J.; LANGONI, H.; MEIRA, D.; MARCONDES-MACHADO, J. 2005. *Trypanosomatids* in dogs belonging to individuals with chronic chagas' disease living in botucatu town and surrounding region, São Paulo state, Brazil. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.* 11(4): 492-509.

MARSDEN, P. 1993. The transmission of *Trypanosoma cruzi* infection to man and its control. **In:** Croll, N y Cross, J. (Eds). *Human Ecology and Infectious Diseases*. Academic Press. New York, USA. pp. 253-279.

MARTINEZ, I.; CERVANTES-LADÍN, A.; ESPINOZA, B. 2013. Diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas. *Gac Méd Méx.* 149: 363-364.

MOREIRA, O.; RAMÍREZ, J.; VELÁZQUEZ, E.; MELO, M.; LIMA-FERREIRA, C.; GUHL, F.; SOSA-ESTANI, S.; MARIN-NETO, J.; MORILLO, C.; BRITTO, C. 2013. Towards the establishment of a consensus real-time qPCR to monitor *Trypanosoma*

cruzi parasitemia in patients with chronic Chagas disease cardiomyopathy: a substudy from the BENEFIT trial. *Acta Trop.* 125: 23–31.

PEREIRA, K.; SCHMIDT, F.; GUARALDO, A.; FRANCO, R.; DIAS, V.; PASSOS, L. 2009. Chagas' disease as a foodborne illness. *J. Food Prot.* 72(2): 441.

PETERSEN, R.; GÜRTLER, R.; CECERE, M.; RUBEL, D.; HANSEN, D.; LAURICELLA, M.; CARLOMAGNO, M. 2001. Association between nutritional indicators of dogs seroreactive for *Trypanosoma cruzi* in a rural area of northwestern Argentina. *Parasitol. Res.* 87: 208–214.

PIRON, M.; FISA, R.; CASAMITJANA, N.; LÓPEZ-CHEJADE, P.; PUIG, L.; VERGÉS, M.; GASCON, J.; GOMEZ, J.; PORTUS, M.; SAULEDA, S. 2007. Development of a real-time PCR assay for *Trypanosoma cruzi* detection in blood samples. *Acta Trop.* 103(3): 195-200.

REITHINGER, R.; CEBALLOS, L.; STARIOLO, R.; DAVIES, C.; GÜRTLER, R. 2005. Chagas disease control: deltamethrin-treated collars reduce *Triatoma infestans* feeding success on dogs. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 99: 502–508.

REITHINGER, R.; CEBALLOS, L.; STARIOLO, R.; DAVIES, C.; GÜRTLER, R. 2006. Extinction of experimental *Triatoma infestans* populations following continuous exposure to dogs wearing deltamethrin-treated collars. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 74: 766–771.

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

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

SALDAÑA, A.; CALZADA, J.; PINEDA, V.; PEREA, M.; RIGG, C.; GONZALEZ, K.; SANTAMARIA, A.; GOTTDENKER, N.; CHAVES, L. 2015. Risk factors associated with *Trypanosoma cruzi* in domestic dogs from a rural community in Panama. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 110(7): 939-941.

- SCHENONE, H.; ROJAS, A.; VILLARROEL, F.; KNIERIM, F.** 1972. Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en Chile. **In:** Simposio Internacional Sobre Enfermedad de Chagas. Buenos Aires, Argentina. 26 noviembre - 2 diciembre 1972. Sociedad Argentina de Parasitología. pp. 189–193.
- SCHOFIELD, C.** 1994. Sistemática y distribución de los triatominos. **In:** Schofield, C. Triatominae: biología y control. Eurocommunica Publications. West Sussex, United Kingdom. pp. 5-32.
- SPICKLER, A.; ROTH, J.; GALYON, J.; LOFSTEDT, J.; LENARDON, M.** 2010. Tripanosomiasis Americana. **In:** Enfermedades emergentes y exóticas de los animales. Iowa State University. Ames, Iowa, USA. pp. 273-278.
- STORINO, R.** 1998. Enfermedad de Chagas. **In:** Mautner, B. y col. Medicina. Centro Editor Fundación Favaloro. Buenos Aires, Argentina. 25: 774-783.
- TEIXEIRA, A.; NITZ, N.; GUIMARO, M.; GOMES, C.; SANTOS-BUCH, C.** 2006. Chagas disease. Postgrad Med J. 82: 88-98.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION).** 2002. Control of Chagas Disease. WHO Tech Rep Series 905. Geneva, Switzerland. pp. 57-58.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION).** 2017. Chagas disease (American trypanosomiasis) [En Línea]. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>> [consulta 13-03-2017].
- WISNIVESKY-COLLI, C.; GURTLER, R.; SOLARZ, N.; LAURICELLA, M.; SEGURA, E.** 1985. Epidemiological role of humans, dogs and cats in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in a central area of Argentina. Rev Inst Med Trop São Paulo. 27: 346–352.
- ZELEDÓN, R.** 1974. Epidemiology, modes of transmission and reservoir hosts of Chagas' Disease. **In:** Ciba Foundation Symposium 20 (New Series). Trypanosomiasis and Leishmaniasis with Special Reference to Chagas' Disease. Elsevier. Amsterdam, Netherlands. pp. 51–85.

PLANIFICACIÓN

Mes	1				2				3				4				5				6				7				8			
Actividades	1 2 3 4				1 2 3 4				1 2 3 4				1 2 3 4				1 2 3 4				1 2 3 4				1 2 3 4							
Semanas	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Preparación materiales	■	■																														
Redacción de proyecto		■	■	■	■																											
Toma de muestras					■	■	■	■	■	■	■	■																				
Redacción y correcciones Anteproyecto													■	■	■																	
Presentación Anteproyecto													■																			
Análisis muestras (laboratorio)													■	■	■	■	■	■	■	■	■											
Preparación manuscrito																					■	■	■	■								
Presentación Avance de tesis																									■							
Correcciones																													■	■		
Presentación final																																■

ANEXO N° 1

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Mediante la presente carta, yo (nombre) _____, con fecha de ____/____/____ declaro habitar en la localidad de _____ y autorizo y acepto que:

	Responda SÍ o NO
- Tomen muestras de mis perros (sangre y otras)	

Los datos obtenidos por medio de los exámenes que se realizarán a mis animales y mediante la encuesta, serán utilizados para un estudio de infección por parásitos y para evaluar el riesgo de enfermedad de Chagas en la Región de Coquimbo. Esta investigación se realizará bajo la supervisión del académico de la Universidad de Chile responsable del estudio, Dr. Pedro E. Cattán, y/o de las co-investigadoras Dra. Juana Correa y Lic. Antonella Bacigalupo.

Me han explicado los riesgos que involucra la toma de muestra en mis animales. También se me indicó que este estudio tiene por objetivo estimar factores de riesgo para la enfermedad de Chagas y su prevalencia; que la participación es voluntaria; que no habrá retribución monetaria por participar en el estudio, y que se mantendrá la confidencialidad de los datos personales obtenidos por medio de la encuesta; es decir, al publicar los resultados del estudio no aparecerá ningún nombre.

Se requiere firmar este documento para que los datos puedan ser usados en el proyecto de investigación y así cumplir con las normas éticas.

Firma propietario/encuestado _____

Nombre y firma encuestador _____

ANEXO N° 2



UNIVERSIDAD DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias
Comité de Bioética Animal

Santiago, 4 de octubre de 2013

CERTIFICADO

En relación con los procedimientos propuestos para el uso de animales experimentales, tenida a la vista la metodología del del Proyecto Fondecyt Regular 2014 titulado “**Epidemiological relevance of the parasite load in vectors and mammalian reservoirs of Chagas disease regarding diet and foci characteristics of triatomines**”, cuyo investigador principal es el Dr. **Pedro E. Cattán**, el Comité de Bioética Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile certifica que éstos Protocolos satisfacen lo estipulado en la guía de principios directrices internacionales para el uso de animales en investigación biomédica, elaborada por el Consejo para las Organizaciones Internacionales de las Ciencias Biomédicas, adecuada y adoptada por este Comité, y no contraviene la legislación chilena vigente sobre la materia.

A este respecto el Comité estima que el estudio propuesto usa animales silvestres y domésticos en calidad y cantidad mínima necesaria para obtener resultados válidos, realiza intervenciones médico veterinarias autorizadas, bajo consentimiento informado, que garantizan la exclusión de sufrimiento innecesario a los animales y da cuenta apropiada de los criterios de punto final requeridos para el efecto.

Dr. José Luis Arias B.
Director
Comité de Bioética Animal

Dr. Santiago Urcelay
Presidente
Comité de Bioética Animal

ANEXO N° 3



CERTIFICADO N° 29

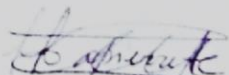
Santiago 07 de Octubre de 2013

El Comité de Bioseguridad de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, revisó el proyecto titulado: "Epidemiological relevance of the parasite load in vectors and mammalian reservoirs of Chagas disease regarding diet and foci characteristics of triatomines" el cual será presentado para su exanimación en el concurso FONDECYT Regular 2014 de CONICYT, y cuyo Investigador Responsable es el Dr. Pedro E Cattán.

En el proyecto se estipulan las siguientes medidas de Bioseguridad:

- 1.- El Personal a cargo de la toma de muestra está entrenado y calificado para realizar dicho trabajo.
- 2.- Uso de vestimenta adecuada y desinfectantes adecuados para realizar el trabajo en terreno y en el laboratorio.
- 2.- Uso de campanas de flujo para el trabajo con material biológico.
- 3.- Los desechos biológicos serán autoclavados para posteriormente ser eliminados a la basura común.

Con relación a lo expuesto, este comité estima que el proyecto se ajusta convenientemente con las especificaciones contenidas en el "Manual de Normas de Bioseguridad" editado por CONICYT versión 2008 y previenen el riesgo para las personas, los animales y el medioambiente.


LISETTE LAPIERRE ACEVEDO
Coordinadora
Comité de Bioseguridad

