



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

**PREVALENCIA DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EN CAPRINOS  
ASOCIADOS A VIVIENDAS RURALES DE LA REGIÓN DE  
COQUIMBO**

**Diego Martín Valenzuela Caiceo**

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

**PROFESOR GUÍA: PEDRO CATTAN AYALA**

Universidad de Chile

PROYECTO FONDECYT 1140650

SANTIAGO, CHILE

2017



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

**PREVALENCIA DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EN CAPRINOS  
ASOCIADOS A VIVIENDAS RURALES DE LA REGIÓN DE  
COQUIMBO**

**Diego Martín Valenzuela Caiceo**

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

**Nota Final: .....**

Prof. Guía: Pedro Cattán Ayala .....

Profesor Corrector: Carezza Botto Mahan .....

Profesor Corrector: Mariana Acuña Retamar .....

Universidad de Chile

PROYECTO FONDECYT 1140650

SANTIAGO, CHILE  
2017

## **AGRADECIMIENTOS**

En este largo camino para la obtención de mi Título profesional de Médico Veterinario me han apoyado muchas personas, imposible nombrarlas a todas en estas pocas líneas, así que de antemano les pido disculpas si no son nombradas. Quiero agradecer:

A mis padres, Carmen Gloria Caiceo Inostroza y Juan Carlos Valenzuela Urbina, que con su apoyo incondicional, consejos y cuidados me han ayudado a crecer como persona, desarrollarme y a transformarme en el primer profesional de la familia.

A mi familia que me ha apoyado y ayudado desde el primer momento en que me decidí a estudiar Medicina Veterinaria, desde mis abuelos Oscar y Ana, pasando por mi Tío Gume y Tía Anita, mis hermanos Javiera y Pablo, hasta mis primos compañeros de toda la vida.

A mis amigos y compañeros de carrera Carla, Jorge, Maxi, Sebastián, Manuel, Daniela, Natalia, Fernando y Giselle por ayudarme, acompañarme y siempre estar “ahí” en todo ámbito del largo camino para llegar a convertirme en veterinario, el cual fue mucho más agradable y divertido gracias a ellos.

A Antonella Bacigalupo por su apoyo en el trabajo en terreno, laboratorio y en el escrito.

A Catalina Muñoz San Martín, por siempre estar dispuesta a ayudarme en los ensayos de qPCR, resolviendo mis dudas y aconsejándome en la mejor forma de llevar a cabo el trabajo, además de ayudarme en el escrito.

A Sole, Mariela, Yefi, Andrés, Josefa y Alejandra quienes fueron parte del equipo de investigación en terreno, por su ayuda en la toma de muestras y gran compañerismo.

Al Dr. Pedro Cattán por aceptarme como tesista, por su ayuda en el proceso de investigación y sobre todo por su “buena onda” en todo momento.

A los cabreros que facilitaron sus animales para el estudio, la mayoría con mucha amabilidad y disposición para ayudar en lo que fuese necesario.

## ÍNDICE DE CAPÍTULOS

<b>CAPÍTULO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>I. RESUMEN.....</b>	<b>iv</b>
<b>II. ABSTRACT.....</b>	<b>v</b>
<b>III. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>IV. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>2</b>
<b>V. OBJETIVOS GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>6</b>
<b>VI. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>7</b>
<b>VII. RESULTADOS.....</b>	<b>11</b>
<b>VIII. DISCUSIÓN.....</b>	<b>15</b>
<b>IX. CONCLUSIONES.....</b>	<b>19</b>
<b>X. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>20</b>
<b>XI. ANEXOS.....</b>	<b>24</b>

## INDICE DE TABLAS

TABLA NRO.	PÁGINA
1. Muestras obtenidas según localidad de la Región de Coquimbo.....	11
2. Comparación de los niveles de infección con <i>T. cruzi</i> entre pares de localidades.....	14

## INDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA NRO.</b>	<b>PÁGINA</b>
1. Caprinos positivos y negativos según localidades de la Región de Coquimbo.....	12
2. Frecuencia de caprinos positivos según localidades de la Región de Coquimbo.....	13
3. Caprinos positivos y negativos según tipo de manejo (con/sin pastoreo).....	14

## RESUMEN

La enfermedad de Chagas está presente en gran parte de Chile, siendo la Región de Coquimbo una zona hiperéndemica. En este sector la actividad pecuaria más común es la crianza de cabras, las cuales actúan como reservorio de *Trypanosoma cruzi* manteniendo el ciclo de transmisión. Nuestro objetivo fue evaluar la infección por *T. cruzi* en el ganado caprino de la Región, evaluando el efecto del sector y del tipo de manejo alimentario (con/sin pastoreo) sobre la presentación de *T. cruzi*. Durante el verano 2014-2015 se obtuvieron 432 muestras de sangre de caprinos pertenecientes a ocho poblados rurales de la Región de Coquimbo. El ADN fue extraído utilizando un kit comercial y cuantificado usando un fluorómetro. Se determinó la presencia de *T. cruzi* mediante qPCR. De las 432 muestras analizadas, 230 (53,2%) resultaron positivas, siendo Tuluahuén ( $f = 0,93$ ) la localidad con la frecuencia de positivos más alta y Salamanca ( $f = 0,21$ ) la más baja. Hubo diferencias estadísticamente significativas entre localidades ( $\text{Chi}^2 = 63,15$ ; valor de  $p < 0,0001$ ). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas según tipo de manejo ( $p = 0,1438$ ). La transmisión peridoméstica de *T. cruzi* persiste. En las zonas donde se detectó una alta frecuencia de caprinos positivos hay un gran riesgo de transmisión vectorial hacia los cabreros. La infección por *T. cruzi* podría causar una disminución en la producción de las cabras disminuyendo los ingresos del productor. Modificaciones en el sistema de cría de los caprinos pueden disminuir el riesgo de infección para animales y productores.

## ABSTRACT

Chagas disease is present in most of Chile, being the Coquimbo Region an hyperendemic area. In this Region the most common livestock activity its goat's breeding, which act as *Trypanosoma cruzi* reservoirs maintaining the transmission cycle. Our objective was to evaluate the infection by *T. cruzi* in goats from this Region, evaluating locality effect and the type of feeding management (with / without grazing) on *T. cruzi* presence. During the summer 2014-2015, 432 blood samples were obtained from caprines belonging to eight rural villages of the Coquimbo Region. The DNA was extracted using a commercial kit and quantified using a fluorometer. The presence of *T. cruzi* was determined by qPCR. A total of 230 out of the 432 samples analyzed were positive (53.2%), being Tuluahuén ( $f = 0,93$ ) the locality with the highest positive frequency and Salamanca ( $f = 0,21$ ) the lowest. There were statistically significant differences between localities ( $\text{Chi}^2 = 63,15$ ;  $p < 0,0001$ ). No statistically significant differences were found by type of management ( $p = 0,1438$ ). The peridomestic transmission of *T. cruzi* persists. In areas where a high frequency of positive caprines was detected there is a great risk of vector-borne transmission to goatherds. *T. cruzi* infection could cause a decrease in the production of goats, diminishing the producer's income. Modifications to the caprine breeding system might decrease the risk of infection for animals and producers.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una de las zoonosis más importantes en nuestro continente. Está presente en gran parte de Chile, siendo la Región de Coquimbo, en su sector cordillera, la zona que tradicionalmente ha registrado más casos de personas infectadas. Por ello desde la década de los 90 se ha catalogado como zona hiperendémica (Schenone *et al.*, 1995). El agente etiológico es el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, que se transmite principalmente vía vectorial a través de la contaminación con deyecciones de insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae, comúnmente llamados “vinchucas”. Además, se describen otras formas de transmisión: la vertical (congénita o placentaria); a través de transfusiones sanguíneas y de órganos; por accidentes de laboratorio y por la ingesta de líquidos o alimentos contaminados con el parásito (Ceballos, 2010).

Epidemiológicamente, esta enfermedad tiene variadas interacciones reservorio-parásito. Se distinguen principalmente dos ciclos de transmisión de *T. cruzi*: un ciclo doméstico que incluye a triatominos domiciliarios, al hombre, animales domésticos y sinantrópicos; y otro ciclo silvestre que incluye a triatominos y a animales silvestres. La gran variedad de mamíferos que pueden ser hospederos de *T. cruzi* y su amplia distribución, además de la multiplicidad de triatominos vectores y la interacción que existe entre ciclos de transmisión, hacen complejo el control de esta enfermedad (Ceballos, 2010).

Se hace necesario conocer la prevalencia de *T. cruzi* en los animales domésticos y sinantrópicos, dado que pueden estar involucrados en el ciclo doméstico y que aumentan la probabilidad de las personas a contraer el parásito (Desquesnes y De Lana, 2010). Debido a que la Región de Coquimbo presenta tradicionalmente más casos de tripanosomiasis americana (MINSAL, 2010), y dado que en este sector la actividad pecuaria más común es la crianza de cabras asociadas a la vivienda (INE, 2007), es de importancia conocer los niveles de infección caprina con *T. cruzi*. Así, el objetivo de este trabajo es aportar datos actuales de prevalencia de este parásito en el ganado caprino de la Región de Coquimbo.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La historia natural de la enfermedad de Chagas comenzó hace millones de años como una enfermedad enzoótica entre animales dentro del continente americano. Luego, con la progresiva colonización humana de sectores dentro de los ecotopos naturales de la infección, la enfermedad comenzó a ser transmitida por accidente a los seres humanos como una antroponosis. Debido a la extensiva deforestación para privilegiar la agricultura y la ganadería, los vectores triatomínicos se quedaron progresivamente sin sus fuentes de alimentación, debido a la disminución de los animales silvestres, por lo que algunas especies colonizaron áreas cercanas a las viviendas humanas (peridomicilio), e incluso el interior de los domicilios, incluyendo en su alimentación sangre de seres humanos y animales domésticos (Coura y Borges-Pereira, 2010).

Actualmente, *T. cruzi* circula en más de 100 especies de mamíferos de ocho órdenes diferentes y en docenas de especies de insectos vectores, que pertenecen a la familia *Reduviidae*, subfamilia *Triatominae*. Las aves y vertebrados ectotermos son refractarios al parásito. Los ciclos de transmisión vectorial de *T. cruzi* se encuentran desde el sur de Argentina hasta el sur de Estados Unidos. La multiplicidad de interacciones hospedero-parásito en la naturaleza se refleja en estos ciclos de transmisión, que han sido caracterizados como sistemas complejos y con múltiples variables (Jansen y Roque, 2010).

Se han distinguido dos ciclos de transmisión de *T. cruzi*: el ciclo doméstico y el ciclo silvestre. Éstos pueden ocurrir simultánea e independientemente involucrando distintos vectores y reservorios, o pueden ocurrir en simpatría con diferentes grados de superposición. Ésta puede darse tanto por la invasión de un actor del ciclo doméstico (vector o reservorio) al medio silvestre como en forma inversa. Ambas formas de solapamiento de ciclos son más probables en la medida en que el ser humano avanza sobre las áreas naturales para su explotación, pudiéndose producir una re-emergencia de la enfermedad en áreas en que ya ha sido previamente controlada (Ceballos, 2010).

Esta enfermedad desatendida es una de las que genera más problemas para la salud pública y la economía a nivel mundial. Afecta entre 7 a 8 millones de personas en todo el mundo, principalmente en América Latina (WHO, 2016). Aproximadamente, 40 millones de

personas están en riesgo de infección (Schofield *et al.*, 2006) y se calcula que produce alrededor de 20 mil muertes al año (Ventura-Garcia *et al.*, 2013).

En Chile, la enfermedad de Chagas está presente en sectores rurales y peri-urbanos desde la Región de Arica y Parinacota en el norte, hasta la Región del Libertador Bernardo O'Higgins hacia el sur, las cuales corresponden a las zonas en las que se dan las condiciones ecológicas que favorecen la instalación y multiplicación del vector *Triatoma infestans* (Orellana-Halkyer y Arriaza-Torres, 2010). Actualmente, la prevalencia global de infección humana por *T. cruzi* en la población general mayor de 15 años de Chile es de 0,7%, siendo notoriamente mayor en la Región de Atacama y en la Región de Coquimbo con un 4,7% y 1,8%, respectivamente, decreciendo de manera progresiva en las restantes regiones (MINSAL, 2010).

El diagnóstico de la infección por *T. cruzi* es difícil en seres humanos y más aún en animales, en términos de sensibilidad y especificidad, debido a que su parasitemia es muy baja y transitoria. Durante la etapa inicial de infección, la detección de las formas en sangre de *T. cruzi* en animales se puede lograr mediante el examen directo de ésta, a través de un microscopio, preferiblemente después de su centrifugación. Utilizando este método, rara vez han sido reportados casos positivos en el ganado (Desquesnes y De Lana, 2010).

Existen métodos más sensibles que se pueden aplicar, como por ejemplo la inoculación en roedores, pero ya no son muy populares, debido a que se utilizan animales vivos y presentan un riesgo por la manipulación de material altamente infeccioso para los humanos. El uso de xenodiagnóstico y hemocultivo también están limitados en la investigación animal. Otra forma de diagnóstico son las pruebas serológicas, como el ensayo de inmunofluorescencia (IFA) o el ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA), que se pueden utilizar para la detección de anticuerpos dirigidos contra *T. cruzi* (Desquesnes y De Lana, 2010).

Actualmente, la detección de ADN mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es el método más usado para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* (Desquesnes y De Lana, 2010). Esta técnica se basa en la amplificación de secuencias blanco de ADN, que son abundantes y específicas para el parásito, tales como algunas

secuencias de ADN kinetoplastídico altamente conservadas y otras regiones nucleares repetitivas específicas de *T. cruzi* (Guhl *et al.*, 2002). Desde los primeros partidores específicos descubiertos para la detección de *T. cruzi* (TCZ1 y TCZ2), un gran número de partidores con niveles variables de especificidad han sido publicados (Desquesnes y De Lana, 2010). La sensibilidad de la técnica de PCR es alta comparada con el xenodiagnóstico y el hemocultivo. Sin embargo, esta sensibilidad también depende del nivel de parasitemia del individuo (Guhl *et al.*, 2002). Nunca se han reportado parasitemias altas en cabras infectadas naturalmente, y el diagnóstico de la infección sólo se ha realizado con PCR o con métodos serológicos (Jansen y Roque, 2010).

La importancia epidemiológica del ganado caprino (*Capra hircus*) en la enfermedad de Chagas radica principalmente en que sus corrales pueden servir como hábitat para triatomíneos, suministrando hospederos, refugio y clima favorables, y luego convertirse en fuente de infestación cuando las condiciones en los corrales se vuelven desfavorables (Gürtler *et al.*, 2014).

En un estudio realizado en comunidades rurales del Departamento de Figueroa, Provincia de Santiago del Estero, Argentina, se demostró que triatomíneos detectados en estructuras peridomésticas (corrales de cabras) se habían alimentado de sangre humana; y otros triatomíneos encontrados en los dormitorios de las personas se habían alimentado de sangre de cabras, lo que constituye una evidencia de la dispersión mediante el vuelo o caminando de *T. infestans* desde las estructuras peridomésticas hacia las viviendas y viceversa. Además, el análisis espacial de los patrones de re-infestación y del estatus nutricional de los triatomíneos que se llevaron a cabo en el mismo estudio, apoyan la idea de que los corrales de cabras son una importante fuente de triatomíneos que invaden hábitats domésticos. Vale considerar que debido a que la mayoría los corrales de cabras están contruidos con una estructura endeble, suelen tener poca capacidad para amortiguar variaciones climáticas extremas, por lo que exponen a los triatomíneos a un aumento en el riesgo de sufrir hipertermia y desecación, lo que puede desencadenar su dispersión en busca de un mejor hábitat, que podrían ser las viviendas cercanas (Gürtler *et al.*, 2014).

En Chile son escasos los antecedentes existentes respecto a las infecciones por *T. cruzi* en cabras. Un estudio realizado por Rozas *et al.* (2007) arrojó como resultado que el 50% de las muestras de sangre (n = 42) obtenidas de cabras provenientes de los alrededores de la Reserva Nacional Las Chinchillas (Aucó, Región de Coquimbo) resultaron positivas. Por otro lado, en un estudio realizado por Aguilera *et al.* (2015) el 35% de las muestras de sangre (n = 100) obtenidas de cabras pertenecientes a sectores rurales de la Comuna de Combarbalá (Región de Coquimbo) resultaron positivas. Ambos estudios utilizaron PCR convencional como técnica diagnóstica.

Finalmente, hay que agregar que el sistema de cría y mantención es variable, lo que puede significar diferencias en la probabilidad de infección. Algunos estancieros mantienen al ganado caprino permanentemente estabulado, lo que podría favorecer el establecimiento de colonias de triatomíneos en los corrales. Otros propietarios sueltan los animales hacia los cerros, donde podrían tener contacto con focos silvestres. Esta diferencia no ha sido evaluada.

Esta memoria de título tiene como objetivo obtener datos más precisos sobre el estatus de infección que presenta actualmente el ganado caprino de la Región de Coquimbo, abarcando un área más amplia y un mayor número de muestras que estudios anteriores, para así contribuir en la actualización del conocimiento epidemiológico de la enfermedad de Chagas en esta región hiperendémica de Chile.

## **OBJETIVO GENERAL**

Estimar la prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en el ganado caprino asociado a viviendas rurales en la Región de Coquimbo.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Establecer la frecuencia de caprinos infectados por *T. cruzi* en ocho diferentes sectores representativos de la Región de Coquimbo.
2. Evaluar el efecto del sector sobre la frecuencia de presentación de *T. cruzi* en los caprinos.
3. Analizar el efecto del tipo de manejo alimentario (con/sin pastoreo) sobre la presentación de *T. cruzi* en los caprinos.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Área de estudio**

El muestreo se realizó en ocho sitios representativos de la Región de Coquimbo, que fueron seleccionados para el muestreo del proyecto FONDECYT 1140650, considerando las características del paisaje y un modelo de nicho ecológico realizado por Hernández *et al.* (2013). Los sitios elegidos fueron: (1) Gualiguaica, Comuna de Vicuña (30°00'15"S; 70°49'00"O); (2) Peralillo, Comuna de Vicuña (30°03'33"S; 70°68'33"O) y (3) Cochiguaz, Comuna de Paihuano (30°8'29"S; 70°24'20"O) pertenecientes a la Provincia de Elqui; (4) Tulahuén, Comuna de Monte Patria (31°01'67"S; 70°73'33"O); (5) Valle Hermoso, Comuna de Combarbalá (31°15'00"S; 70°45'00"O) y (6) La Rinconada, Comuna de Punitaqui (30°54'00"S; 71°16'00"O) pertenecientes a la Provincia de Limarí; (7) Matancilla, Comuna de Illapel (31°45'64"S; 71°04'77"O) y (8) Tranquilla, Comuna de Salamanca (31°52'59"S; 70°43'50"O) pertenecientes a la Provincia de Choapa.

### **Individuos del estudio**

Para esta memoria se incluyeron 432 caprinos mayores de 6 meses de edad (edad estimada a través de la revisión de la dentadura), sin diferenciar por sexo ni estado reproductivo, todos seleccionados al azar.

### **Declaración de ética**

El estudio con muestras caprinas fue aprobado por el Comité de Bioética Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, siguiendo los principios internacionales para el uso de animales en investigación biomédica (CIOMS, 2012). Todos los dueños de los animales que fueron evaluados en el presente estudio, aceptaron participar bajo Consentimiento Informado previo a la toma de las muestras.

### **Obtención de la muestra**

Para la obtención de la muestra de sangre se procedió a contener a las cabras seleccionadas del rebaño con la ayuda de un asistente, el cual fue el mismo dueño del rebaño o un miembro del equipo de investigación, a través de la sujeción firme con las manos de los

cuernos del animal si los presentaba o del cuello y la barba si no los presentaba, o una mezcla de ambas técnicas. Todas las muestras fueron tomadas por el memorista.

Posteriormente, se realizó la toma de muestra de sangre limpiando con algodón y alcohol yodado la zona del cuello a puncionar, correspondiente a la vena yugular previamente ingurgitada haciendo presión con la mano en la base del cuello en el sector del surco yugular. Luego, utilizando una jeringa de 3 ml con una aguja de 21G × 1½” (ambas estériles y de uso individual por cada cabra), se insertó la aguja en un ángulo de 45° con respecto al cuello para así obtener una muestra de 0,5 ml de sangre por animal. La muestra que se obtuvo se depositó en un tubo eppendorf y se mezcló en proporción 1:1 con una solución de 6 M Guanidina – HCl 200 mM EDTA (Ávila *et al.*, 1991) para su preservación hasta su posterior análisis en el laboratorio.

### **Tipo de manejo**

El tipo de manejo (con/sin pastoreo) se determinó con datos de una encuesta realizada al momento de la toma de muestras por un miembro del equipo de investigación en el marco del proyecto FONDECYT 1140650.

### **Extracción de ADN**

El ADN de las muestras de sangre de las cabras estudiadas se extrajo de un total de 100 µl, previa digestión con proteinasa K, utilizando el kit *Quick-gDNA<sup>TM</sup> Blood MiniPrep*, según indicaciones del fabricante. El eluido resultante se congeló a -20°C hasta su posterior uso.

### **Cuantificación de ADN total**

Para evaluar el proceso de extracción y la posible degradación del ADN, se llevó a cabo una cuantificación del ADN total de las muestras extraídas utilizando el fluorómetro Qubit 3.0 (Brisco *et al.*, 2010; Sedlackova *et al.*, 2013). Para esta medición, se utilizó 1 µl de muestra con 199 µl de solución de trabajo según recomendaciones del fabricante.

### **Detección de *T. cruzi***

Se determinó la presencia de *T. cruzi* en las muestras a través de PCR tiempo real (qPCR) con partidores *cruzi1* 5'-ASTCGGCTGATCGTTTTTCGA-3' y *cruzi2* 5'-AATTCCTCCAAGCAGCGGATA-3' (Piron *et al.*, 2007), que amplifican la región conservada satelital de *T. cruzi*. Los ensayos se realizaron en un termociclador *Rotor-Gene*® (QIAGEN®) con un volumen final de 20 µL conteniendo 5µL de eluído, 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. Cada reacción fue llevada a cabo con un control negativo (ADN obtenido de sangre de cabra libre de infección perteneciente a la granja educativa de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la U. de Chile), un control positivo (ADN de sangre de cabra 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.

### **Control endógeno**

Para descartar falsos negativos debido a la presencia de posibles inhibidores, se amplificó a través de qPCR la subunidad 18S del ADN ribosomal de cabra con los partidores Fw 5' TAATCCCGCCGAACCCCAT 3' y Rv 5' GGTGTGTACAAAGGGCAGG 3' (Zhu *et al.*, 2015), a una concentración de 0,3 µM en las condiciones descritas anteriormente.

### **Declaración de Bioseguridad**

En la presente investigación se trabajó bajo las 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.

### **Análisis estadístico**

#### Objetivo 1

En cada localidad muestreada se calculó la frecuencia de caprinos infectados por *T. cruzi* a través del cociente entre el número de individuos identificados como positivos en el total de individuos muestreados por localidad (Bush *et al.*, 1997).

### Objetivo 2

Se compararon las frecuencias de caprinos positivos y negativos a *T. cruzi* obtenidas en las localidades mediante la prueba de  $\chi^2$  (Chi2). Para detectar entre que pares de localidades se encontraban estas diferencias se utilizó la Prueba Exacta de Fisher. Ambos análisis se realizaron con un nivel de confianza de un 95%.

### Objetivo 3

Luego de separar a los individuos según tipo de manejo (con/sin pastoreo), se comparó su estatus de infección a nivel regional a través de la Prueba Exacta de Fisher con un nivel de confianza de un 95%, para detectar diferencias entre los grupos.

## RESULTADOS

### Muestras obtenidas

Se logró obtener un total de 432 muestras de sangre caprina, el detalle por localidad se muestra a continuación en la Tabla Nro.1.

**Tabla Nro. 1: Muestras obtenidas según localidad de la Región de Coquimbo.**

Localidades	Nro. de muestras	Porcentaje del total
Gualliguaica	49	11,3%
Peralillo	24	5,6%
Cochiguaz	54	12,5%
Tulahuén	44	10,2%
Valle Hermoso	62	14,4%
Rinconada de Punitaqui	67	15,5%
Matancilla	99	22,9%
Salamanca	33	7,6%
<b>Total</b>	<b>432</b>	<b>100%</b>

### Cuantificación de ADN total

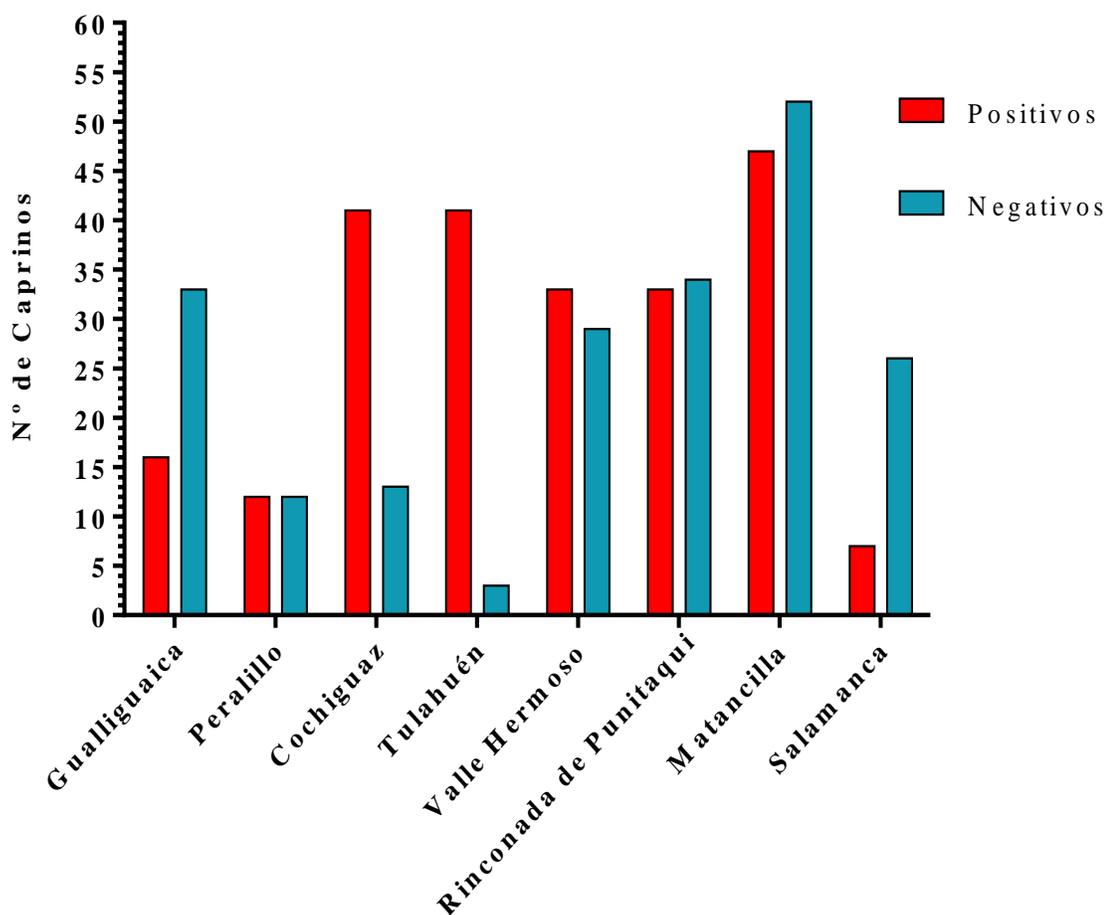
Se analizó el total de muestras extraídas, las cuales presentaron cantidades de ADN total entre 100 ng/ml y 38200 ng/ml (Promedio = 1666 ng/ml, DE = 3472).

### Detección de *T. cruzi*

De las 432 muestras analizadas 230 (53,2%) resultaron positivas y 202 (46,8%) resultaron negativas. En la Figura 1 se observa el detalle por localidad.

### Control endógeno

A las 202 muestras negativas se les realizó la amplificación de un control endógeno resultando todas positivas, lo que descarta falsos negativos.

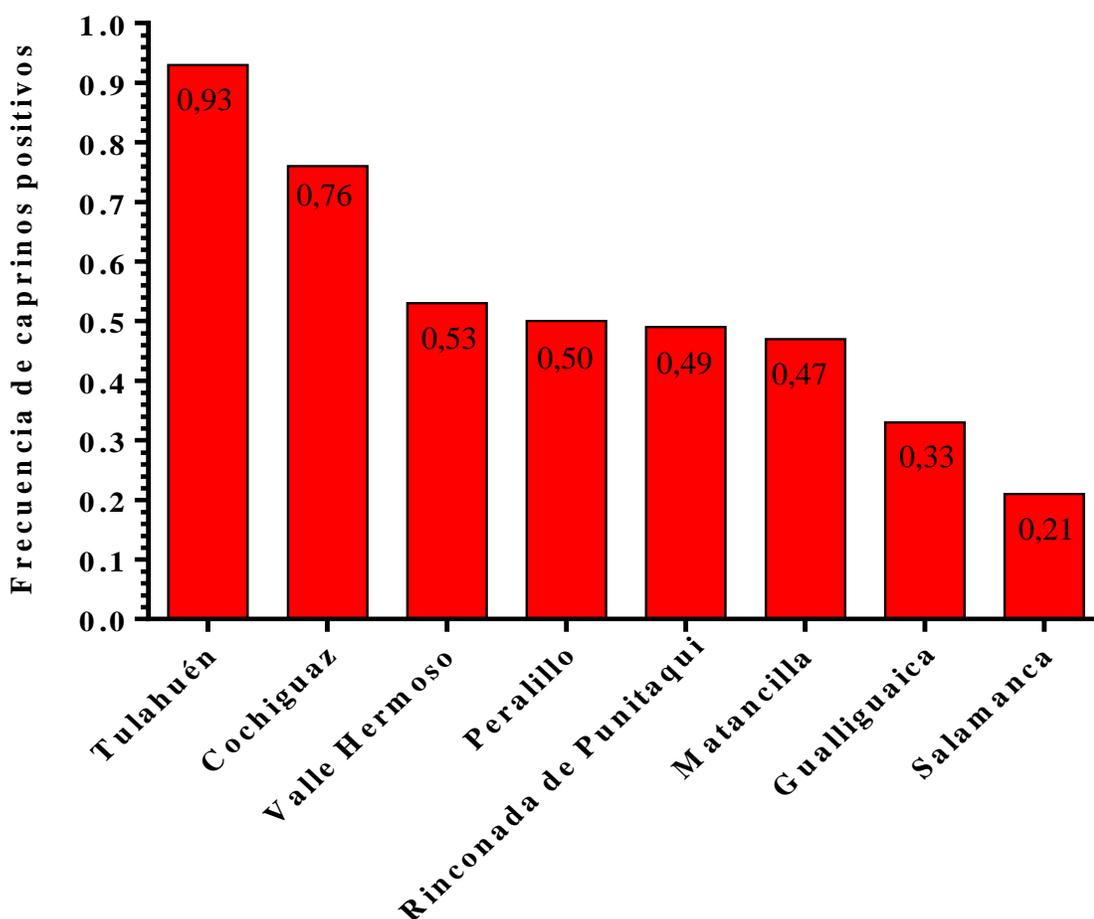


Localidades Región de Coquimbo

**Figura Nro. 1: Caprinos positivos y negativos según localidades de la Región de Coquimbo.** Las barras rojas muestran el número de individuos positivos y las barras azules muestran el número de individuos negativos.

**Frecuencia de caprinos infectados por *T. cruzi* en ocho diferentes sectores representativos de la región de Coquimbo (Objetivo 1)**

Se calculó la frecuencia total de positivos en el estudio ( $f = 0,53$ ) y para cada localidad, detectándose la mayor frecuencia en Tulahuén ( $f = 0,93$ ) seguida de Cochiguaz ( $f = 0,76$ ) y la menor en Salamanca ( $f = 0,21$ ) (Fig. Nro. 2).



#### Localidades Región de Coquimbo

**Figura Nro. 2: Frecuencia de caprinos positivos según localidades de la Región de Coquimbo.** Las barras rojas muestran la frecuencia de caprinos positivos según localidad, el número dentro de las barras muestra la frecuencia exacta.

#### **Efecto del sector sobre la frecuencia de presentación de *T. cruzi* en los caprinos (Objetivo 2)**

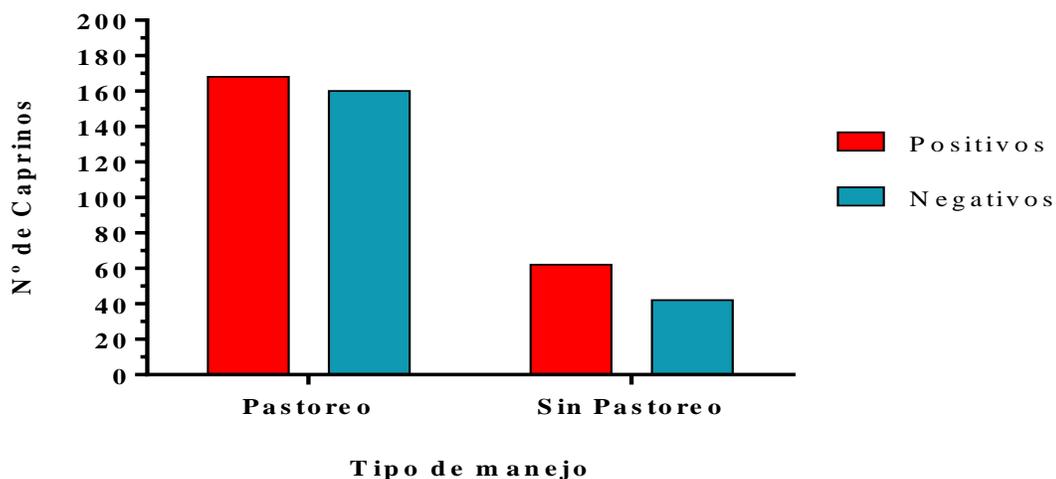
Se compararon las diferencias en la frecuencia de positivos y negativos entre los sectores estudiados, detectándose diferencias estadísticamente significativas entre ellos ( $\text{Chi}^2 = 63,15$ ;  $p < 0,0001$ ). Estas diferencias fueron observadas en 28 combinaciones, siendo Tulahuén y Cochiguaz estadísticamente diferentes en comparación con todas las otras localidades (Tabla Nro. 2).

**Tabla Nro. 2: Comparación de los niveles de infección con *T. cruzi* entre pares de localidades.** Se muestran los valores de probabilidad según Prueba Exacta de Fisher entre pares de localidades, los cuadros verdes indican diferencias estadísticamente significativas.

Localidades	Gualiguaica	Peralillo	Cochiguaz	Tulahuén	Valle Hermoso	Rinconada de P.	Matancilla	Salamanca
Gualiguaica		0,2017	<0,0001*	<0,0001*	0,0355*	0,0884	0,1119	0,3206
Peralillo	0,2017		0,0351*	<0,0001*	0,8141	1,000	1,000	0,0449*
Cochiguaz	<0,0001*	0,0351*		0,0277*	0,0126*	0,0046*	0,0007*	<0,0001*
Tulahuén	<0,0001*	<0,0001*	0,0277*		<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*
Valle Hermoso	0,0355*	0,8141	0,0126*	<0,0001*		0,7254	0,5193	0,0042*
Rinconada de P.	0,0884	1,000	0,0046*	<0,0001*	0,7254		0,8748	0,009*
Matancilla	0,1119	1,000	0,0007*	<0,0001*	0,5193	0,8748		0,0083*
Salamanca	0,3206	0,0449*	<0,0001*	<0,0001*	0,0042*	0,009*	0,0083*	

**Efecto del tipo de manejo alimentario (con/sin pastoreo) sobre la presentación de *T. cruzi* en los caprinos (Objetivo 3).**

Para evaluar la diferencia en el estatus de infección a nivel regional entre los individuos según tipo de manejo (con/sin pastoreo), se clasificaron los individuos que resultaron positivos y negativos según esta variable (Fig. Nro. 3). No se detectó diferencia significativa entre ambos grupos ( $p = 0,1438$ ).



**Figura Nro. 3: Caprinos positivos y negativos según tipo de manejo (con/sin pastoreo).** Las barras rojas y azules muestran el número de individuos positivos y negativos, respectivamente.

## DISCUSIÓN

El objetivo de este trabajo fue estimar la prevalencia de *T. cruzi* en el ganado caprino asociado a viviendas rurales en la Región de Coquimbo. Para llevar a cabo este objetivo se analizó el ADN extraído de las muestras de sangre caprina obtenidas en terreno a través de qPCR, en busca de ADN de *T. cruzi*, dando como resultado que un 53,2% de los caprinos muestreados están infectados. Este resultado es similar al obtenido por Rozas *et al.* (2007) de 50%, pero difiere del resultado obtenido por Aguilera *et al.* (2015) de 35%; esta variación puede deberse a que el tamaño muestral fue mayor ( $n$  actual = 432 versus  $n = 42$  y  $n = 100$ , respectivamente) y la técnica utilizada fue diferente: los otros estudios utilizaron PCR convencional.

Además vale considerar que el área de estudio de los trabajos anteriormente nombrados fue más acotada (Reserva Nacional Las Chinchillas y Comuna de Combarbalá, respectivamente), por lo que sus resultados son representativos del porcentaje de infección a nivel local, a diferencia de la presente investigación cuyo resultado representa el porcentaje de infección a nivel regional. Esta diferencia en los resultados de estos dos trabajos más la diferencia entre localidades observada en la presente investigación, son indicativos de una variación de tipo espacial en el porcentaje de infección de los caprinos en la Región.

Tulahuén y Cochiguaz fueron las localidades donde hubo una mayor frecuencia de caprinos infectados ( $f = 0,93$  y  $f = 0,76$ , respectivamente) y difirieron significativamente de las demás localidades del estudio. Esto coincide con que fueron los dos sectores muestreados que están a mayor altitud (Tulahuén = 1100 msnm; Cochiguaz = 1730 msnm), siendo esta variable un posible factor que pudiera aumentar la probabilidad de infección de los caprinos al tener más posibilidades de contacto con focos silvestres y peridomésticos de los insectos vectores. Esto último fue sugerido por Hernández *et al.* (2013), quienes realizaron un modelo de distribución espacial de los vectores de la enfermedad de Chagas, el cual indica que es más probable encontrar a estos vectores hacia el interior de la región, alejado de la costa.

Además en el trabajo de Bacigalupo *et al.* (2015), donde se muestreó en busca de focos de vectores de la enfermedad de Chagas en esta Región, las dos localidades anteriormente nombradas fueron las que presentaron la menor distancia promedio entre los focos de triatomos y los poblados (Tulahuén = 5,1 m; Cochiguaz = 53,9 m), por lo que las casas de las personas que viven allí pueden tener un mayor riesgo de invasión de triatomos, aumentando la probabilidad de contacto con sus habitantes. Por lo anterior, se debería poner mayor atención en estas dos localidades aumentando los esfuerzos en el control y prevención de esta enfermedad. Sería recomendable insistir dentro de las campañas oficiales, en enseñar las formas de prevenir la transmisión de la enfermedad y las de controlar a los insectos vectores. Esto debiera estar acompañado de fumigación de domicilios y estructuras peridomésticas, además del control de roedores sinantrópicos los cuales siendo eventuales fuentes de alimentación para triatomos, pueden favorecer la colonización de los peridomicilios (Yefi, 2016).

No hubo diferencias al comparar la frecuencia de caprinos positivos y negativos según tipo de manejo (con/sin pastoreo). Esto podría deberse a que las cabras que no salen a pastorear y permanecen siempre estabuladas tienen mayor probabilidad de contacto con triatomos que viven en los corrales, tal como fue demostrado en el estudio realizado por Gürtler *et al.* (2014). A su vez, los caprinos que salen a pastorear pueden tener contacto con focos de *Mepraia spinolai*, el vector silvestre de la enfermedad en esta Región, los cuales se alimentan de sangre de caprinos, tal como fue documentado recientemente en el estudio realizado por Chacón *et al.* (2016).

Finalmente, hay que consignar que la variabilidad en la cantidad de ADN total que presentaron las muestras (entre 100 ng/ul y 38200 ng/ul), se explica principalmente por el tipo de muestra del cual se extrajo el material genético, que en este caso fue sangre periférica. El ADN que está presente en la sangre proviene principalmente de las células de la serie blanca, y su cantidad depende a su vez de varios factores tales como el estado nutricional, metabólico e inmunológico de cada individuo (Ramírez *et al.*, 2015).

El resultado de esta investigación apoya la idea que la transmisión peridoméstica de *T. cruzi* hacia los caprinos persiste. En los sectores donde se detectó una alta frecuencia de

animales positivos, existe una probabilidad de transmisión vectorial hacia los cabreros por una posible migración de triatominos desde los corrales de los animales hacia sus casas (Gürtler *et al.*, 2014) o por contacto con los vectores que habitan en los lugares en donde comparten constantemente con sus cabras.

Un factor importante que puede ser un riesgo de infección para los crianceros, es el faenamamiento de caprinos que estén infectados con *T. cruzi*. El parásito podría ser transmitido al momento de faenar al animal o por la ingesta de productos tales como la leche cruda, sangre cruda (ñiachi) o carne insuficientemente cocida (Toso *et al.*, 2011). Por otro lado, algunos tejidos (sangre, órganos, etc.) - que pueden estar contaminados con el parásito - son descartados al faenar al caprino, y muchas veces no son dispuestos de manera adecuada, sirviendo de alimento para diversos animales, o utilizados como alimento para carnívoros domésticos (perros y gatos) manteniendo así al parásito en el medio y aumentando la cantidad de nuevos reservorios de la enfermedad (Herrera, 2010).

Otro aspecto negativo que puede afectar a los crianceros, además del riesgo de infección, son las posibles pérdidas económicas que podrían causar los caprinos infectados con *T. cruzi*. El precio de venta que se paga al productor en el mercado nacional es de \$1.800 por kilo de carne en vara para un peso promedio de 17 kg por animal faenado, lo que se traduce en un precio de venta de \$30.600 por animal (Aguilera *et al.*, 2015). Este podría aumentar a más del doble, si se intentara exportar la carne caprina, considerando que el valor de venta en el mercado externo es de \$4.500/kg (Aguilera *et al.*, 2015). Si en la región hay una existencia de 249.989 cabezas (INE, 2015) y extrapolamos el porcentaje de caprinos infectados del presente estudio (53,2%) al total de caprinos de la Región, habrían 132.994 caprinos infectados con *T. cruzi*, lo que se traduciría en una pérdida económica (por posibles decomisos) de \$10.174.041.000 para la Región.

Por lo anteriormente mencionado, es importante que los productores de caprinos realicen cambios en su sistema de crianza para evitar el contagio de sus animales con *T. cruzi*. Es recomendable en los sectores donde hubo mayor cantidad de caprinos infectados, cambiar los sitios de pastoreo de los animales a lugares lejos de posibles focos silvestres de vectores junto con mejorar las construcciones de los corrales, pasando de la construcción con rocas

apiladas, barro (adobe), palos y ramas de la vegetación circundante, a construcciones con materiales que eviten que los corrales se transformen en hábitats propicios tales como cercas de alambre, muros con bloques de concreto y tejados de lata tal como se recomienda en el estudio realizado por Gorla *et al.* (2013), donde se demostró que estos cambios disminuyen las poblaciones de triatomíneos en los corrales.

Por último, adicional a los cambios en el sistema de crianza anteriormente expuestos, se hace necesario entregar más información y ayuda para los crianceros caprinos de la región, a través de charlas, capacitaciones y ayuda monetaria, para que estos tomen conciencia del riesgo que tienen de contagio con *T. cruzi* y puedan tomar las medidas pertinentes para mejorar sus sistemas de cría y para el control de los insectos vectores, y así disminuir al máximo el riesgo de infección por *T. cruzi* de los animales y productores.

## CONCLUSIONES

La presente investigación permite concluir que:

1. La transmisión peridoméstica de *T. cruzi* en los caprinos de la Región de Coquimbo persiste.
2. Más de la mitad de los caprinos estudiados estuvieron infectados con *T. cruzi*.
3. Tulahuén y Cochiguaz fueron las localidades donde hubo mayor frecuencia de caprinos positivos.
4. El manejo alimentario (con/sin pastoreo) no influyó en la probabilidad de infección.

## **BIBLIOGRAFÍA**

**AGUILERA, C.; ZULANTAY, I.; SAAVEDRA, M.; APT, W.; MARTÍNEZ, G.; RODRÍGUEZ, J.** 2015. Pérdida económica por caprinos infectados con *Trypanosoma cruzi*. IV Región de Coquimbo, Chile. PLA. 64 (2): 23- 31.

**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.

**BACIGALUPO, A.; ROJAS, A.; CORREA, J.; CATTAN, P.** 2015. Detección de focos de vectores de la enfermedad de Chagas en la Región de Coquimbo. In: XVI Jornadas anuales Sociedad Chilena Parasitología (SOCHIPA). Olmué, Chile. 24 Abril 2015. PLA. 64 (1): 73.

**BRISCO, M.; LATHAM, S.; BARTLEY, P.; MORLEY, A.** 2010. Incorporation of measurement of DNA integrity into qPCR assays. Biotechniques. 49: 893-897.

**BUSH, A.; LAFFERTY, K.; JEFFREY, M.; SHOSTAK, A.** 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. J. Parasitol. 83(4): 575-583.

**CEBALLOS, L.** 2010. Ciclo silvestre de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en el noroeste de Argentina. Tesis para optar al título de Doctor en el área Ciencias Biológicas. Buenos Aires, Argentina. U. de Buenos Aires, Fac. Cs. Exactas y Naturales, Depto. de Ecología, Genética y Evolución. 179p.

**CHACÓN, F.; BACIGALUPO, A.; QUIROGA, J.F.; FERREIRA, A.; CATTAN, P.E.; RAMÍREZ-TOLOZA, G.** 2016. Feeding profile of *Mepraia spinolai*, a sylvatic vector of Chagas disease in Chile. Acta Trop. 162:171-173.

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

**COURA, J.R.; BORGES-PEREIRA, J.** 2010. Chagas disease: 100 years after its discovery. A systemic review. *Acta Trop.* 115(11-2):5-13.

**DESQUESNES, M.; DE LANA, M.** 2010. Veterinary aspects and experimental studies. **En:** Telleria, J.; Tibayrenc, M. *American Trypanosomiasis Chagas Disease. One Hundred Years of Research.* Elsevier. Londres, Inglaterra. pp. 277-377.

**GORLA, D.; ABRAHAN, L.; HERNÁNDEZ, M.; PORCASI, X.; HRELLAC, H.; CARRIZO, H.; CATALÁ, S.** 2013. New structures for goat corrals to control peridomestic populations of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Gran Chaco of Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 108(3):352-358.

**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.; CECERE, M.; FERNÁNDEZ, M.; VÁZQUEZ-PROKOPEC, G.; CEBALLOS, L.** 2014. Key source habitats and potential dispersal of *Triatoma infestans* populations in Northwestern Argentina: Implications for vector control. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8(10): 1-15.

**HERNÁNDEZ, J; NÚÑEZ, 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.

**HERRERA, L.** 2010. Una revisión sobre reservorios de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas. *Bol Malarol SaludAmb.* 50(1): 1-11.

**INE, INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS.** 2007. Enfoque Estadístico - VII Censo Nacional Agropecuario y Forestal. [en línea] <[http://www.ine.cl/canales/sala\\_prensa/noticias/2007/marzo/files/septimo\\_censo\\_agropecuario\\_pdf.pdf](http://www.ine.cl/canales/sala_prensa/noticias/2007/marzo/files/septimo_censo_agropecuario_pdf.pdf)> [consulta: 05-08-2014].

- INE, INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA.** 2015. Encuesta de ganado caprino 2015. [en línea] <[www.odepa.cl/wp-content/uploads/2015/10/EncuestaCaprinos2015.xls](http://www.odepa.cl/wp-content/uploads/2015/10/EncuestaCaprinos2015.xls)> [consulta: 08-12-2016].
- JANSEN, A.; ROQUE, A.** 2010. Domestic and wild mammalian reservoirs. **En:** Telleria, J.; Tibayrenc, M. American Trypanosomiasis Chagas Disease One Hundred Years of Research. Elsevier. Londres, Inglaterra. pp. 249-276.
- MINSAL.** 2010. Encuesta nacional de salud. Chile 2009-2010. [en línea] <<http://www.minsal.gob.cl/portal/url/item/bcb03d7bc28b64dfe040010165012d23.pdf>> [consulta: 12-11-2014]
- ORELLANA-HALKYER, N; ARRIAZA-TORRES, B.** 2010. Enfermedad de Chagas en poblaciones prehistóricas del norte de Chile. Rev. Chil. Hist. Nat. 83: 531-541.
- PIRON, M.; FISA, R.; CASAMITJANA, N.; LÓPEZ-CHEJADE, P.; PUIG, L.; VERGÉS, M.** 2007. Development of a real-time PCR assay for *Trypanosoma cruzi* detection in blood samples. Acta Trop. 103(3):195-200.
- RAMIREZ, JC.; CURA, CI.; DA CRUZ MOREIRA, O.; LAGES-SILVA, E.; JUIZ, N.; VELAZQUEZ, E.** 2015. Analytical Validation of Quantitative Real-Time PCR Methods for Quantification of *Trypanosoma cruzi* DNA in Blood Samples from Chagas Disease Patients. J Mol Diagn. 17(5):605-15.
- ROZAS, M.; BOTTO-MAHAN, C.; CORONADO, X.; ORTIZ, S.; CATTAN, P.; SOLARI, A.** 2007. Coexistence of *Trypanosoma cruzi* genotypes in wild and periodomestic mammals in Chile. Am. J Trop. Med. Hyg. 77: 647-653.
- SCHENONE, H.; CONTRERAS, M.; SALINAS, P.; SANDOVAL, L.; ROJAS, A.; VILLAROEL, F.** 1995. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en Chile. Frecuencia de infección humana por *Trypanosoma cruzi* por grupos de edad y por regiones. Bol. Chil. Parasitol. 50: 84-86.
- SCHOFIELD, CJ.; JANNIN, J.; SALVATELLA, R.** 2006. The future of Chagas disease control. Trends Parasitol. 22: 583-8.

- SEDLACKOVA, T.; REPISKA, G.; CELEC, P.; SZEMES, T.; MINARIK, G.** 2013. Fragmentation of DNA affects the accuracy of the DNA quantitation by the commonly used methods. *Biol. Proced Online*. 15(1): 5.
- TOSO, A.; VIAL, F.; GALANTI, N.** 2011. Transmisión de la enfermedad de Chagas por vía oral. *Rev. Med. Chil*. 139(2): 258-266.
- VENTURA-GARCIA, L.; ROURA, M.; PELL, C.; POSADA, E.; GASCON, J.; ALDASORO, E.** 2013. Socio-cultural aspects of Chagas disease: a systematic review of qualitative research. *PLoS. Negl. Trop. Dis*. 7: 2410.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION).** 2016. Chagas disease (American trypanosomiasis) [En Línea]. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>> [consulta 22-11-2016].
- YEFI, E.** 2016. Caracterización de la infección por *Trypanosoma cruzi* en roedores capturados en viviendas de localidades rurales de la Región de Coquimbo, Chile. Tesis para optar al título de Médico Veterinario. Concepción, Chile. U. de Concepción, Fac. de Cs. Veterinarias. 55 p.
- ZHU, W.; LIN, Y.; LIAO, H.; WANG, Y.** 2015. Selection of reference genes for gene expression studies related to intramuscular fat deposition in *Capra hircus* skeletal muscle. *PLoS ONE* 10(3): 1-15.

## ANEXOS

### ANEXO NRO. 1: PLANIFICACIÓN

Mes	1				2				3				4				5				6				7				8							
Actividades/ 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	1	2	3	4
Preparación materiales	■	■																																		
Redacción de proyecto		■	■	■	■	■	■																													
Toma de muestras																																				
Presentación Anteproyecto																																				
Análisis muestras (laboratorio)																																				
Análisis estadístico																																				
Redacción																																				
Presentación Avance Tesis																																				
Correcciones																																				
Presentación Final																																				

## ANEXO NRO. 2: DECLARACIÓN DE ÉTICA



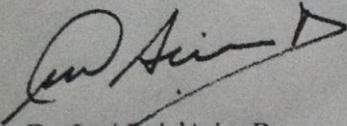
UNIVERSIDAD DE CHILE  
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias  
Comité de Bioética Animal

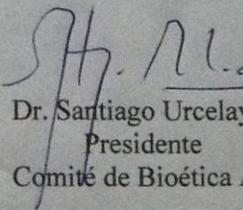
Santiago, 4 de octubre de 2013

### 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 NRO. 3: DECLARACIÓN DE BISEGURIDAD



### CERTIFICADO N° 29

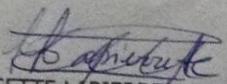
Santiago 07 de Octubre de 2013

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

