

UNIVERSIDAD DE CHILE



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**DISTRIBUCIÓN ESPACIAL A ESCALA LOCAL DE LA
INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI* EN ECOTOPOS
DE LA REGIÓN DE COQUIMBO**

EDUARDO IGNACIO CASTAÑEDA ZÚÑIGA

Tesis para optar al

Grado de Magíster en

Ciencias Animales y Veterinarias

PROFESOR GUÍA: PEDRO CATTAN

CO-GUÍA: JUANA PAOLA CORREA

CONICYT FONDECYT 1140650

CONICYT FONDECYT 1180940

SANTIAGO, CHILE

AÑO 2019

BIOGRAFÍA

Eduardo Ignacio Castañeda Zúñiga, nacido el día 7 de marzo del año 1991, comenzó sus estudios de enseñanza básica en el Colegio Elvira Hurtado de Matte, comuna de Quinta Normal, entre los años 1997 y 2004. Una vez graduado, continuó sus estudios de enseñanza media en el Liceo Polivalente Arturo Alessandri Palma, comuna de Providencia, entre los años 2005 y 2008.

Posteriormente, en el año 2009, ingresó a la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias (FAVET) de la Universidad de Chile, iniciando así su enseñanza superior. En el año 2013, obtuvo su licenciatura luego de aprobar todos los cursos obligatorios y optativos de la carrera de Medicina Veterinaria, para luego obtener su título de Médico Veterinario en mayo del año 2015.

Finalmente, en el año 2016, ingresa al programa de Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias, de la Universidad de Chile. Durante ese mismo año, adicionalmente obtiene el Diplomado en Conservación y Manejo de Fauna Silvestre (FAVET). En la actualidad, y en base a este proyecto presentado, finaliza el programa de magíster con éxito.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
RESUMEN	6
SUMMARY	7
INTRODUCCIÓN	8
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
1. Distribución espacial de las especies	9
2. Enfermedad de Chagas	10
3. <i>Trypanosoma cruzi</i>	10
4. Vectores de <i>Trypanosoma cruzi</i>	11
4.1. <i>Mepraia spinolai</i>	12
4.1.1 Infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> en <i>Mepraia spinolai</i>	12
4.1.2 Distribución espacial de vectores	13
5. Hospederos de <i>Trypanosoma cruzi</i>	14
5.1 Infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> en mamíferos	14
5.2 Distribución espacial de hospederos	15
HIPÓTESIS	18
OBJETIVOS GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
MATERIALES Y MÉTODOS	19
Área de estudio y obtención de muestras biológicas	19
Extracción de ADN	21
Estimación del estado de infección y cuantificación de carga parasitaria	22
Análisis estadístico	23
▪ Resolución del Objetivo 1	23
▪ Resolución del Objetivo 2	24

▪ Resolución del Objetivo 3	24
RESULTADOS	26
Objetivo específico 1	26
▪ Roedores	27
▪ Triatomíneos	30
Objetivo específico 2	32
Objetivo específico 3	33
DISCUSIÓN	34
CONCLUSIONES	40
BIBLIOGRAFÍA	41
ANEXOS	48

ÍNDICE DE AYUDAS ILUSTRATIVAS

	Pág.
FIGURA 1. Izquierda: Mapa de Chile mostrando la ubicación de la Región de Coquimbo. Derecha: Ubicación de las localidades prospectadas, en la Región de Coquimbo.	19
TABLA 1. Características meteorológicas (T° media, T° mín. promedio, T° máx. promedio y precipitaciones anuales) y orográficas (altitud media) de los sitios de estudio, según localidad (Climate-Data.Org, 2018; Kottek <i>et al.</i> , 2006; Google Earth, 2019). (*m.s.n.m. = metros sobre el nivel del mar).	20
FIGURA 2. Frecuencia de infección e intervalo de confianza (IC95) según tipo de hospedero.	26
FIGURA 3. Caracterización de la infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> en roedores, por localidad. En azul: frecuencia de infección, intervalo de confianza 95%; en rojo: tamaño muestral de roedores según localidad. Año 2016: Tr= Tranquilla; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén. Año 2017: M= Matancilla; G= Gualliguaica; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso.	27
FIGURA 4. Frecuencia de infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> según especie de roedor. En azul: frecuencia de infección e intervalo de confianza 95%; En rojo: tamaño muestral por especie de roedor. Ab= <i>A. bennettii</i> ; Ao= <i>A. olivaceus</i> ; Od = <i>O. degus</i> ; Pd= <i>P. darwini</i> ; Rr= <i>R. rattus</i> .	28
FIGURA 5. Caracterización de la carga parasitaria por <i>Trypanosoma cruzi</i> en roedores, según localidad. Mediana (línea interior), cuartiles inferior y superior (extensión de la caja) y los percentiles 10 y 90 (bigotes) de la carga parasitaria. En azul: localidades prospectadas el año 2016; en verde: localidades prospectadas el año 2017. C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso; G= Gualliguaica.	29
FIGURA 6. Caracterización de la carga parasitaria por <i>Trypanosoma cruzi</i> en roedores, según especie. Mediana (línea interior), cuartiles inferior y superior (extensión de la caja) y los percentiles 10 y 90 (bigotes) de la carga parasitaria. Ab= <i>A. bennettii</i> ; Ao= <i>A. olivaceus</i> ; Od = <i>O. degus</i> ; Pd= <i>P. darwini</i> ; Rr= <i>R. rattus</i> .	30
FIGURA 7. Caracterización de la infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> en triatominos, por localidad. En azul: frecuencia de infección, intervalo de Confianza 95%; en rojo: tamaño muestral de triatominos analizados según localidad. Año 2016: Tr= Tranquilla; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu=	31

Tulahuén. Año 2017: M= Matancilla; G= Gualliguaica; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso.	
FIGURA 8. Caracterización de la carga parasitaria por <i>Trypanosoma cruzi</i> en triatomíneos, según localidad. Mediana (línea interior), cuartiles inferior y superior (extensión de la caja) y los percentiles 10 y 90 (bigotes) de la carga parasitaria. En azul: localidades prospectadas el año 2016; en verde: localidades prospectadas el año 2017. Tr= Tranquilla; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; G= Gualliguaica; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso.	32
FIGURA 9. Mapa de ubicación de <i>cluster</i> de infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> en roedores capturados en la localidad de Cochiguaz, mostrando ubicación de individuos analizados y <i>cluster</i> de infección detectado.	33
FIGURA S1. Frecuencia de infección e intervalo de confianza (IC95) en triatomíneos, según año de muestreo.	48
FIGURA S2. Mediana (línea interior), cuartiles inferior y superior (extensión de la caja) y los percentiles 10 y 90 (bigotes) de la carga parasitaria de triatomíneos, según año de muestreo.	48
FIGURA S3. Frecuencia de infección e intervalo de confianza (IC95) en roedores, según año de muestreo.	49
FIGURA S4. Mediana (línea interior), cuartiles inferior y superior (extensión de la caja) y los percentiles 10 y 90 (bigotes) de la carga parasitaria de roedores, según año de muestreo.	49
TABLA S1. Valores de p según prueba <i>a posteriori</i> de Fisher (ajustado) al comparar frecuencia de infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> en roedores, entre localidades y dentro de año. G= Gualliguaica; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; Tr= Tranquilla; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso.	50
TABLA S2. Valores de p según prueba <i>a posteriori</i> de Fisher (ajustado) al comparar frecuencia de infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> entre especies de roedor. Ab= <i>A. bennetti</i> ; Ao= <i>A. olivaceus</i> ; Od = <i>O. degus</i> ; Pd= <i>P. darwini</i> ; Rr= <i>R. rattus</i> .	50
TABLA S3. Valores de p según prueba <i>a posteriori</i> de Fisher (ajustado) al comparar frecuencia de infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> en triatomíneos, entre localidades y dentro de año. G= Gualliguaica; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; Tr= Tranquilla; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso.	51

<p>TABLA S4. Valores de p según prueba <i>a posteriori</i> de Dunn al comparar carga parasitaria en roedores entre localidades y dentro de año. G= Gualliguaica; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso. Se rechaza H₀ con alfa/2 (alfa=0,05) KW= 0,001 (2016) KW=0,003 (2017).</p>	51
<p>TABLA S5. Valores de p según prueba <i>a posteriori</i> de Dunn al comparar carga parasitaria entre especies de roedores. Ab= <i>A. bennetti</i>; Ao= <i>A. olivaceus</i>; Od = <i>O. degus</i>; Pd= <i>P. darwini</i>; Rr= <i>R. rattus</i>. Se rechaza H₀ con alfa/2 (alfa=0,05).</p>	52
<p>TABLA S6. Valores de p según prueba <i>a posteriori</i> de Dunn al comparar carga parasitaria en triatominos entre localidades dentro de año. G= Gualliguaica; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; Tr= Tranquilla; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso. Se rechaza H₀ con alfa/2 (alfa=0,05). KW=0,018 (2016) KW=0,011 (2017).</p>	52
<p>TABLA S7. Número de roedores capturados según especie y localidad.</p>	53

RESUMEN

El protozoo *Trypanosoma cruzi*, causante de la enfermedad de Chagas en humanos, es considerado un parásito hiper-endémico en la Región de Coquimbo. Así, este estudio se enfocó en analizar la distribución espacial de la infección por *T. cruzi* en alguno de sus hospederos a escala local en distintas localidades de esta región, buscando probar si la infección por *T. cruzi* se encuentra agrupada espacialmente. Las muestras en que se detectó al parásito, fueron obtenidas a partir de abdómenes del vector silvestre *Mepraia spinolai* y de sangre periférica de roedores silvestres, quienes fueron capturados en ecotopos específicos: chaguales y pircas. Las muestras fueron analizadas a través de PCR cuantitativo para evaluar, por un lado, el estado de infección y carga parasitaria por individuo, y por otro lado, la presencia de *clusters* (agrupamiento) de infección por *T. cruzi*, tanto en vectores como en roedores. Los resultados obtenidos en roedores arrojaron un nivel de infección similar a estudios previos en la región (51,5%); sin embargo, en la caracterización por especie, se evidenció una tasa de infección superior en las dos especies más abundantes (*Phyllotis darwini* y *Rattus rattus*). Respecto a la carga parasitaria, la mayoría de los roedores presentaron bajas cargas parasitarias (<1 par-eq/mL). En el caso de triatominos, la frecuencia de infección (69,1%) se mantuvo dentro del rango esperado según lo reportado en la literatura, y la carga parasitaria también fue baja en la mayoría de individuos analizados (<1 par-eq/triatomino). En relación al análisis espacial, solamente se identificó un *cluster* de infección por *T. cruzi* compuesto exclusivamente por *P. darwini*. Con los resultados obtenidos, no se pudo probar que la infección por *T. cruzi* se mantiene de forma agregada en el espacio, a escala local. Sin embargo, el hallazgo de un *cluster* compuesto solamente por *P. darwini*, en una localidad con particularidades climáticas, permitiría la formulación de nuevas hipótesis respecto de cómo se comporta el parásito dentro de sus hospederos y en el espacio.

SUMMARY

Trypanosoma cruzi protozoon, which causes Chagas disease in humans, is considered a hyper-endemic parasite in the Coquimbo Region. Thus, this study focused on analyzing the spatial distribution of *T. cruzi* infection in one of its hosts at a local scale in different localities of this region, seeking to test if *T. cruzi* infection is spatially grouped. Samples in which the parasite was detected were obtained from abdomens of the wild vector *Mepraia spinolai* and peripheral blood of wild rodents, who were captured in specific ecotopes: chaguales and pircas. Samples were analyzed through quantitative PCR to evaluate, on the one hand, the status of infection and parasitic load per individual, and on the other hand, the presence of clusters of infection by *T. cruzi*, both in vectors and in rodents. Results obtained in rodents showed a level of infection similar to previous studies in the region (51,5%); however, in the characterization by species, a higher infection rate was evidenced in the two most abundant species (*Phyllotis darwini* and *Rattus rattus*). Regarding parasitic load, the majority of rodents presented low parasitic loads (<1 par-eq/mL). In the case of triatomines, frequency of infection (69,1%) remained within a expected range as reported in literature, and the parasitic load was also low in most of the individuals analyzed (<1 par-eq/triatomine). In relation to spatial analysis, only one cluster of *T. cruzi* infection was identified, exclusively composed of individuals of *P. darwini*. With the results obtained, it was not possible to prove that *T. cruzi* infection is maintained in an aggregate manner in space, at a local scale. However, the finding of a cluster composed only of *P. darwini*, in a locality with climatic particularities, would allow the formulation of new hypotheses regarding how the parasite behaves inside its hosts and in space.

INTRODUCCIÓN

El parásito *Trypanosoma cruzi* es el causante de la enfermedad de Chagas en humanos. Este protozoo se transmite principalmente a través de vectores triatomínicos hacia sus hospederos mamíferos. En Chile, este parásito se distribuye principalmente en sectores áridos y semi-áridos de la zona centro-norte del país. Los dos vectores principales son *Triatoma infestans* y *Mepraia spinolai*. El hábitat de esta última especie es principalmente silvestre, transmitiendo la infección primordialmente a micromamíferos silvestres. A pesar de los múltiples estudios relacionados a *T. cruzi*, en Chile se ha estudiado poco la distribución espacial de la infección por este agente a escala local. Para evaluar este aspecto, es necesario conocer cómo ocupan o se distribuyen en el espacio los individuos de una especie, considerando tanto vectores como hospederos. Al respecto, existe evidencia del rango de hogar y el tipo de distribución espacial del vector *M. spinolai*, capaz de desplazarse escasos metros y encontrarse en el medio natural de forma agrupada. Por otro lado, los hospederos, a diferencia de los triatomínicos, tienen una mayor capacidad de dispersión, por lo cual su rango de hogar es mayor. Sin embargo, los micromamíferos, específicamente algunas especies de roedores, tienden a distribuirse también de manera agregada. Adicionalmente, la carga parasitaria podría ser un parámetro relevante a evaluar, pues se esperaría que a mayor cantidad de parásitos circulantes en un individuo infectado, mayor sea la cantidad de parásitos capaces de transmitirse a otro individuo. A partir de estos antecedentes, este estudio propone que la distribución espacial de la infección por *T. cruzi*, medida como nivel de infección y carga parasitaria, está relacionada a la distribución de los hospederos, y fundamentalmente, a la cercanía espacial entre vectores y hospederos, a escala local.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Distribución espacial de las especies

En ecología, se ha estudiado la distribución espacial de las especies para comprender e inferir las reglas fundamentales del comportamiento que expliquen su movimiento (Taylor, 1986). Al respecto existen tres tipos distribución espacial: aleatoria, uniforme y agrupada (Krebs, 1999). La distribución aleatoria se refiere a que cualquier ubicación espacial tiene la misma probabilidad de llegar a ser ocupada por un individuo de una población, sin que ésta afecte a otro individuo de la población (Ej: algunas especies florales con dispersión de semillas por viento). La distribución uniforme ocurre cuando los individuos se ubican según un patrón espacial determinado (Ej: moluscos, en búsqueda de sustrato donde establecerse). Finalmente, la distribución agregada hace referencia a que la presencia de un individuo indicará una mayor probabilidad de encontrar otro individuo de la misma población a una distancia menor de lo esperado. Suele ser esta última, la mayormente detectada en la naturaleza, como lo hacen en general una gran cantidad de insectos (Clavijo, 1993).

Respecto de la distribución de parásitos, éstos tienden a distribuirse de forma agregada al interior de las poblaciones de sus hospederos. Esto se refleja en que generalmente existe un gran número de individuos que contienen una baja o nula cantidad de parásitos. Por el contrario, un pequeño número de esos individuos, albergan la mayor cantidad de parásitos. Para este último caso, los factores densodependientes como la sobrevivencia y fecundidad, tanto del hospedero como del parásito, juegan un rol protagónico en la regulación de la población del parásito (Anderson y Gordon, 1982; Boxshall, 1974). Para el caso de parásitos sin fase de vida libre, su distribución se debería ver fuertemente afectada además, por la distribución de sus vectores y hospederos en el espacio, así como de sus posibles interacciones.

2- Enfermedad de Chagas

En el mundo, el 17% de todas las enfermedades infecciosas son transmitidas a través de vectores. Los vectores son organismos vivos capaces de transmitir determinados agentes patógenos desde un individuo enfermo a uno susceptible, sin necesidad de ser de la misma especie (OMS, 2017). Entre las enfermedades transmitidas por vectores se encuentra la enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*. Esta enfermedad se considera endémica en 21 países de América Latina (OMS, 2017).

3- Trypanosoma cruzi

Trypanosoma cruzi es un protozoo flagelado transmitido principalmente a través de las deyecciones de insectos triatomínicos, comúnmente conocidos como vinchucas. Este parásito es considerado como el tercero en importancia a nivel mundial, detrás de los agentes que causan la malaria y la esquistosomiasis (World Bank, 1993). En Chile, la infección chagásica se ha descrito entre los paralelos 18° 30'S y 34° 16'S, que corresponden principalmente a la zona centro-norte del país (Cabello y Cabello, 2008).

El ciclo biológico del parásito se puede describir desde el consumo de sangre de un mamífero infectado con tripomastigotes de *T. cruzi* por parte de triatomínicos. Una vez en el interior del intestino de los triatomínicos, el parásito se diferencia a la forma de epimastigote, los cuales se multiplican rápidamente. Luego de 15 días, éstos se diferencian en tripomastigotes metacíclicos, los que son evacuados por las deyecciones del triatomino infectado, posterior a la succión de sangre de otro mamífero. De esta forma puede ingresar *T. cruzi* al siguiente individuo susceptible a través del sitio de picadura, mucosas o vía oral. Finalmente, dentro del nuevo hospedero, los tripomastigotes perderán su flagelo y se transformarán en amastigotes, los cuales se multiplican intracelularmente, principalmente en células

musculares del corazón y aparato digestivo, destruyéndolas y liberándose en forma de tripomastigotes a circulación (Brenner *et al.*, 2000; OMS, 2017).

4- Vectores de *Trypanosoma cruzi*

Los insectos triatominos (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) son los vectores biológicos en la transmisión de *T. cruzi*. En el mundo, existen alrededor de 146 especies de triatominos, distribuidos en 18 géneros (Alevi *et al.*, 2013). Esta subfamilia presenta un ciclo vital hemimetábolo, que consta de un estado en forma de huevo, cinco estadios ninfales y el adulto. Las ninfas y adultos se caracterizan por su hábito hematófago, alimentándose de vertebrados (Canals *et al.*, 1997).

Las especies *Triatoma infestans* y *Mepraia spinolai* son los principales vectores del parásito en Chile, los cuales se distribuyen de forma simpátrica y han sido capaces de adaptarse a los ecotopos artificiales creados por el hombre (Canals *et al.*, 1997). *Triatoma infestans* se distribuye desde la Región de Arica y Parinacota hasta la Región Metropolitana, mientras que *M. spinolai* se describe desde la Región de Atacama a la Región de O'Higgins (Botto-Mahan *et al.*, 2015). Se ha reportado además a los triatominos *M. gajardoi* y *M. parapatrica*, especies silvestres de zonas costeras del norte de Chile (Carvajal *et al.*, 2007; Frías-Lasserre, 2010).

Los estudios respecto a la preferencia de hábitats de las distintas especies de triatominos han demostrado que se han convertido en especialistas de nichos; de hecho, así se explicaría su larga historia evolutiva (Gaunt y Miles, 2000). Por ejemplo, las especies del género *Rhodnius* se han asociado a árboles como las palmas; el género *Panstrongylus* a madrigueras y huecos de árboles; y el género *Triatoma*, asociado a hábitats terrestres rocosos o refugios de roedores (Gaunt y Miles, 2000). Para el caso de este estudio, el género *Mepraia* se ha adaptado a ecotopos tales como: canteras, grietas entre rocas, refugios de mamíferos, bromeliáceas (chaguales) y pircas (muros de piedra), entre otros (Botto-Mahan *et al.*, 2015).

4.1- *Mepraia spinolai*

Es una de las especies de triatomíneos endémica de Chile. Es un insecto de hábitos diurnos, teniendo mayor actividad al mediodía. Habita principalmente en zonas silvestres, cercano a sectores pedregosos, chaguales, pircas y lugares de descanso de mamíferos entre las latitudes 26° y 34° S (Bacigalupo *et al.*, 2006; Frías-Lasserre, 2010). Se caracteriza por ser relativamente sedentario en ausencia de alimento; sin embargo, cuando un animal se encuentra cercano a su refugio, es capaz de desplazarse varios metros (Botto-Mahan *et al.*, 2005a). El perfil dietario de esta especie es relativamente amplio, incluyendo desde animales domésticos tales como cerdos, perros, gatos, aves, vacas, cabras, entre otros (Chacón *et al.*, 2016); como también especies silvestres como roedores (*Phyllotis darwini* y *Octodon degus*), lagomorfos (*Oryctolagus cuniculus*), algunos marsupiales (*Thylamys elegans*), entre otros (Apt y Reyes, 1990; Rengifo, 2000). Adicionalmente, se considera que existe la alimentación por heces de otros triatomíneos (coprofagia) así como del consumo de otros individuos de su misma especie (canibalismo) (Schaub, 1988).

4.1.2- Infección por *Trypanosoma cruzi* en *Mepraia spinolai*

Existen varios estudios relacionados con la frecuencia de infección por *T. cruzi* en *M. spinolai* en la zona norte y centro-norte de Chile, mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Sin embargo, los resultados varían según el estudio. Por ejemplo, Botto-Mahan *et al.* (2005b) determinaron una tasa de infección entre estadios que varió desde 38,3% al 54%, siendo el promedio de infección en ninfas cercano al 46%. Coronado *et al.* (2009) compararon dos poblaciones en distintas áreas de la Reserva Nacional Las Chinchillas, Región de Coquimbo, evidenciando frecuencias de infección del 76,1% y 40,4%. En otro estudio relacionado, Toledo (2013) observó que la infección por *T. cruzi* en el género *Mepraia* alcanzó un 51%,

en la Región de Tarapacá. Finalmente, Bacigalupo *et al.* (2006) realizaron un análisis de infección en triatominos en sectores de Calera de Tango y Til-Til (Región Metropolitana), en donde se evidenció una tasa de infección por *T. cruzi* en *M. spinolai* cercano al 43%.

A pesar de los variados reportes de tasa de infección en esta especie, existen escasos datos sobre la carga parasitaria de *T. cruzi* en ésta y en otras especies de triatominos. Sin embargo, Barrera (2017) realizó un estudio en donde cuantificó carga parasitaria en *M. spinolai*, en la región de Coquimbo. En él, se detectaron dos grandes grupos, uno de alta carga parasitaria (>100 par-eq/ μ g de triatolino) y otro de baja carga parasitaria (<10 par-eq/ μ g de triatolino), evidenciándose un mayor número de casos en este último grupo.

4.2- Distribución espacial de vectores

Para estudiar la distribución espacial del parásito *T. cruzi* es necesario conocer la distribución espacial tanto de sus vectores como de sus hospederos. Existen estudios relacionados a la distribución que tienen los triatominos en un determinado territorio, que podrían dar indicios de la probabilidad de transmisión de *T. cruzi*. Así es como Wisnivesky-Colli *et al.* (1997) realizaron un estudio analizando distintos ecotopos en la ciudad Santiago del Estero, Argentina, en donde se evidencia que la distribución de la especie *Triatoma guasayana* es agregada (en inglés, *clusters*: individuos ubicados espacialmente más cerca de lo esperado unos de otros), en casi todos los hábitats analizados. Bacigalupo (2016) en su estudio, evaluó la distribución espacial de *M. spinolai* en Chile, evidenciando que, en dos de tres localidades evaluadas, estos insectos se comportaron de manera agregada en el espacio.

Otro antecedente es el trabajo de Botto-Mahan *et al.* (2005a), que realizaron un análisis en la Región de Coquimbo, en donde compararon el rango de hogar y máxima distancia recorrida por individuos de *M. spinolai* según estación del año. En aquel estudio se describe que, en verano, el rango de hogar promedio es

alrededor de 47 metros cuadrados (m²), mientras que en invierno, el rango de hogar promedio alcanza sólo los 6 m² aproximadamente. Respecto del segundo parámetro evaluado, la distancia máxima recorrida promedio sobrepasa los 12 m en verano, mientras que en invierno, no alcanza los 5 m en promedio.

Finalmente, datos que relacionan el nivel de infección y, en cierta medida, la distribución de estos vectores, lo establece Estadella (2012) quien describe una relación positiva entre la densidad relativa del triatomino *M. spinolai* con la tasa de infección de éstos. Otro estudio recientemente publicado por Ilhe-Soto *et al.* (2019) evidenció seis *clusters* puramente espaciales de triatominos infectados en distintas localidades en la zona centro-norte de Chile.

5- Hospederos de *Trypanosoma cruzi*

En América se han identificado más de 150 especies de mamíferos, tanto domésticos (perros, cerdos, cabras, humanos, entre otros) como silvestres (marsupiales, roedores, murciélagos, armadillos, entre otros), susceptibles a la infección por *T. cruzi*. Los mamíferos silvestres son fundamentales en su rol de posibles reservorios del parásito en ambientes rurales, peridomésticos y domésticos (Rozas *et al.*, 2005; Rassi *et al.*, 2010; Noireau *et al.*, 2009). En Chile, el orden Rodentia es el que aporta la mayor cantidad de especies de mamíferos terrestres (68 nativas y 6 introducidas), con una amplia distribución a lo largo del país (Iriarte, 2007). Este antecedente permite entender por qué la mayoría de los estudios realizados en nuestro país, respecto a la infección de *T. cruzi* en hospederos, se han enfocado principalmente en este tipo de especies.

5.1- Infección por *Trypanosoma cruzi* en mamíferos

En Chile, se han realizado varios estudios respecto a este tema, mediante el uso de la técnica PCR. Así es como Rozas *et al.* (2005) realizaron un estudio en la Región de Coquimbo, donde determinaron el porcentaje de infección en cuatro

especies de micromamíferos silvestres: *P. darwini* (45%), *O. degus* (51%), *Abrothrix olivaceus* (59%) y *T. elegans* (46%). En el mismo estudio, la especie doméstica *Capra hircus* tuvo un nivel de infección en torno al 36%. Por otro lado, Botto-Mahan *et al.* (2010) evaluaron los cambios en la frecuencia de infección entre la temporada 1999-2000 y 2005-2006 en la Región de Coquimbo, en poblaciones de micromamíferos silvestres, evidenciando niveles de infección de un 61% en el primer período, variando a 16% en el segundo, evidenciándose diferencias entre las especies analizadas, que fueron *P. darwini*, *O. degus*, *Abrothrix sp.* y *T. elegans*. Galuppo *et al.* (2009) adicionalmente, evidenciaron niveles de infección en torno al 13% en *O. degus*, 25% en *P. darwini* y 28% en *Rattus rattus*, en Calera de Tango, Región Metropolitana. Finalmente, Cornejo (2012) observó una tasa de infección, durante invierno, que varió entre 10,6% y 62,5% en micromamíferos de la zona centro-norte de Chile: *T. elegans*, *Oligoryzomys longicaudatus*, *Abrothrix longipilis*, *A. olivaceus*, *Octodon sp.*, *P. darwini*, *Abrocoma bennetti* y *Rattus rattus*.

En relación a la carga parasitaria, Rojo *et al.* (2017) evaluaron mediante qPCR (PCR cuantitativo) la parasitemia por *T. cruzi*, en 29 individuos de la especie *O. degus*, obteniendo en promedio 43 par-eq/mL, con una mediana de 6,2 par-eq/mL. La parasitemia más baja fue de 1 par-eq/mL, mientras que la más alta fue de 812 par-eq/mL. Por otra parte, Herrera *et al.* (2007) realizaron hemocultivo en seis especies de roedores de Brasil, evidenciando una alta parasitemia (presencia de parásitos en sangre) luego de cinco meses en el 15% de los individuos muestreados. Finalmente, Cumming y Tarleton (2003) mediante la técnica de PCR en tiempo real analizaron roedores de laboratorio (C3H/HeSnJ) infectados experimentalmente, evidenciando mayor carga parasitaria en sangre en individuos con infección aguda respecto a roedores con un estado de infección crónico.

5.2- Distribución espacial de hospederos

Como se mencionó anteriormente, para estudiar la distribución espacial del parásito *T. cruzi* es necesario conocer la distribución espacial tanto de vectores como hospederos de la infección. Para esto, es necesario conocer las conductas de movimiento, historia de vida, distribución espacial a nivel local y ámbito de hogar de algunas de estas especies de roedores para entender las posibles formas de transmisión del parásito *T. cruzi*. En primer lugar, Iriarte (2007) recopila información relevante respecto del ámbito de hogar e historia de vida de algunas especies nativas de Chile, de interés para este proyecto, resumidas a continuación. *A. olivaceus* presentan áreas de actividad que fluctúan entre los 730 y 2.530 m², además de una densidad bastante variable según localidad (desde 1 a 30 ind/Ha, en matorrales y praderas). A pesar de lo anterior, es considerada una especie con distribución agregada. *O. degus* presenta poblaciones muy abundantes y está caracterizado por formar colonias. Zunino *et al.* (1992) establece valores de ámbito de hogar de casi los 5.000 m². Asimismo, Hayes *et al.* (2007) realizaron un estudio en la Región Metropolitana, demostraron que a menor distancia de cobertura vegetal alta, los individuos de *O. degus* pueden llegar a moverse en un área mayor, mientras que, a una distancia mayor de la cobertura vegetal alta más cercana, el rango de hogar disminuye. *P. darwini* es una especie que presenta un rango de hogar que fluctúa entre los 1.100 a 3.700 m² (Muñoz-Pedrerros, 1992), que puede vivir de forma solitaria o en pequeñas colonias, sin embargo, es considerada la especie dominante de las “ratadas” en la zona norte y centro de Chile (Iriarte, 2007).

Por otra parte, algunos reportes han descrito las distancias máximas recorridas de algunas de las especies de interés (o del mismo género) presentes en la Región de Coquimbo. Un estudio en Perú con dos roedores del género *Phyllotis* (*P. amicus* y *P. andium*), se evidencia que su distancia de movimiento máxima se limita a los 90 m. A partir de estas observaciones, se indica que ambas especies mantienen una distribución agregada en el espacio, durante todo el año (Arana *et al.*, 2002). Por otro lado, las características de movimiento y distribución espacial

en especies introducidas también pueden ser interesantes de analizar. Whisson *et al.* (2007) realizaron un estudio en la especie *R. rattus*, en donde evidenciaron que el rango de hogar varió desde los 2.000 a los 12.000 m². Finalmente, Correa *et al.* (2015), evaluaron si la probabilidad de infección por *T. cruzi* en micromamíferos está explicada por la distancia de ellos a colonias de *M. spinolai* y los niveles de infección de los triatomíneos, en conjunto. Mediante el uso de un Índice Infección Distancia (IDI) evidenciaron un efecto significativo de este índice en explicar la probabilidad de encontrar micromamíferos infectados por el parásito; con una mayor probabilidad que un micromamífero se detectara infectado mientras más cerca estuviera de una colonia de vinchucas y/o cuando esta colonia tuviera mayor frecuencia de infección por *T. cruzi*. Por otra parte, Ilhe-Soto *et al.* (2019) no lograron evidenciar *clusters* puramente espaciales para roedores infectados en la zona centro-norte de Chile.

A partir de lo anteriormente expuesto, este proyecto evaluará la distribución espacial a escala local de la infección por *T. cruzi* en hospederos y vectores, asociados a ecotopos específicos, como son pircas y chaguales. Esto último en base principalmente a la disposición de *M. spinolai* en el espacio, su dispersión reducida y preferencia marcada por este tipo de hábitats. El hecho de que vectores y hospederos cohabiten en una misma zona geográfica (simpatría), la dieta, la adaptación de los triatomíneos a determinados ecotopos y la distribución espacial de estos dos grupos de especies, permite proponer la existencia de una alta probabilidad de encuentro, que favorecería una alta tasa de infección por parte del parásito *T. cruzi*. Por consiguiente, en zonas donde exista un gran número de individuos infectados, la infección y reinfección entre estos mismos individuos, provocaría variaciones en las cargas parasitarias de *T. cruzi*, en hábitats silvestres. Adicionalmente, el tipo de distribución espacial de la infección estaría relacionado positivamente a la forma agregada en que se distribuyen las especies involucradas en el ciclo biológico del parásito *T. cruzi*.

HIPÓTESIS

Dada la distribución espacialmente agrupada de vectores y hospederos de *Trypanosoma cruzi* a escala local, se espera que la distribución de la infección en triatomíneos y micromamíferos se presente de forma espacialmente agregada.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la distribución espacial de la infección por *Trypanosoma cruzi* a escala local, en ecotopos de la Región de Coquimbo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar la infección por *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos y micromamíferos en localidades de la Región de Coquimbo.
2. Evaluar la distribución espacial de la infección por *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos y micromamíferos a escala local.
3. Evaluar la distribución espacial de la carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos y micromamíferos a escala local.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y obtención de muestras biológicas

Las muestras que se analizaron en este estudio se obtuvieron durante el verano de 2016 (enero-febrero) y 2017 (enero-febrero), en 8 localidades rurales ubicadas en la Región de Coquimbo: Cochiguaz, Gualliguaica, Tulahuén, Rinconada de Punitaqui, Valle Hermoso, Matancilla, Tranquilla y Quelén, de las comunas de Paihuano, Vicuña, Monte Patria, Punitaqui, Combarbalá, Illapel y Salamanca (Fig. 1; Tabla 1). La Región de Coquimbo fue utilizada como sitio de muestreo por ser considerada una región hiper-endémica para la infección por *T. cruzi* (Canals *et al.*, 2017).

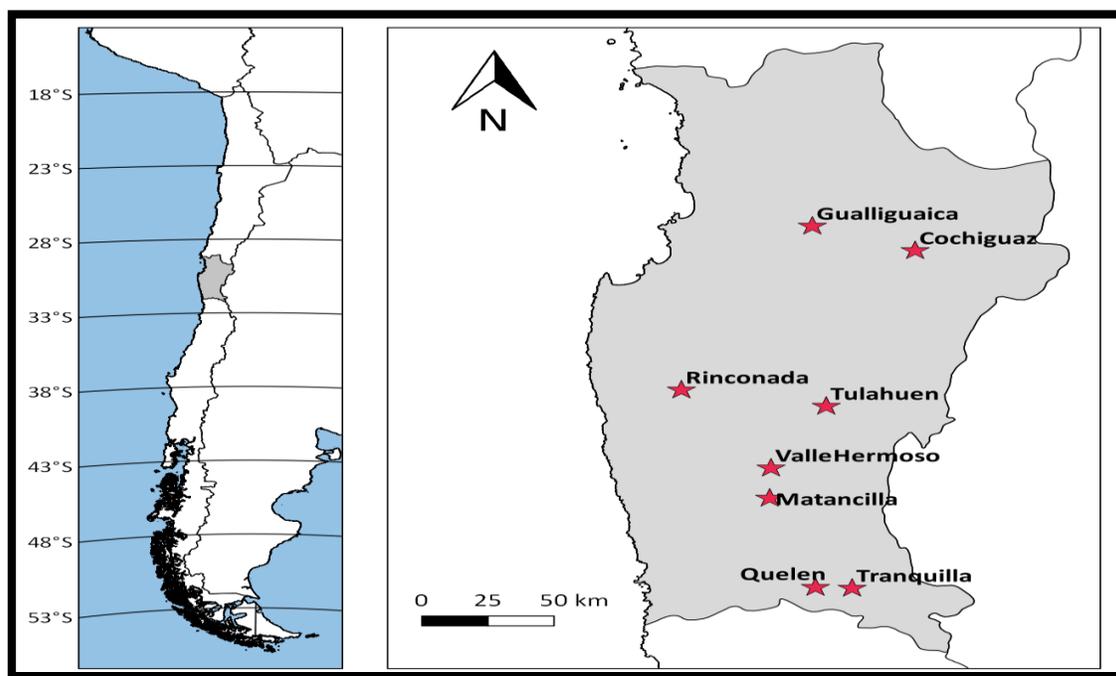


FIGURA 1. Izquierda: Mapa de Chile mostrando la ubicación de la Región de Coquimbo. Derecha: Ubicación de las localidades prospectadas, en la Región de Coquimbo.

TABLA 1. Características meteorológicas (T° media, T° mín. promedio, T° máx. promedio y precipitaciones anuales) y orográficas (altitud media) de los sitios de estudio, según localidad (Climate-Data.Org, 2018; Kottek *et al.*, 2006; Google Earth, 2019). (*m.s.n.m. = metros sobre el nivel del mar).

Localidad	Clima	Temperatura media (°C)	Precipitaciones anuales (mm)	Altitud media (m.s.n.m.)*	Temperatura mín. y máx. promedio (°C)
Gualliguaica	Semiárido frío	15,1	218	550	9,7 – 20,6
Cochiguaz	Semiárido frío	10,2	68	1.550	3,6 – 16,9
Rinconada	Semiárido frío	15,8	147	239	10,5 – 20,6
Tulahuén	Semiárido frío	12,5	159	1.130	6,2 – 18,8
Valle Hermoso	Semiárido frío	12,0	203	1.110	5,5 – 18,2
Matancilla	Semiárido frío	13,4	218	715	7,2 – 19,7
Tranquilla	Semiárido frío	14,2	230	986	7,1 – 21,3
Quelén	Semiárido frío	14,8	230	717	8 – 19,4

Para obtener las muestras biológicas, se capturaron los animales con trampas de captura viva, las que fueron colocadas en ecotopos específicos, asociadas a pircas y chaguales (muestreo por conglomerado) (Galway *et al.*, 2012). El diseño y distribución de las trampas se realizó a distancias constantes entre trampas por ecotopo (triatominos: 4 m aprox.; roedores: 10 m aprox.). La utilización de grillas u

otros métodos de trapeo no fueron necesarios, debido a la marcada preferencia de *M. spinolai* por los ecotopos seleccionados. Los triatominos se capturaron mediante trampas con levadura en fermentación como cebo (100 trampas/noche promedio por localidad). Luego de la captura fueron llevadas al laboratorio, donde se identificaron a nivel específico y se asignaron a un estadio de desarrollo. Los micromamíferos se capturaron con trampas de captura viva (Rodentrap®) cebadas con avena roleada (100 trampas/noche promedio por localidad). Los animales fueron identificados a nivel específico y en el laboratorio fueron anestesiados inhalatoriamente con isoflurano, para luego sexarlos, medirlos y tomarles una muestra de sangre periférica que no superó el 1% del peso vivo. La sangre fue preservada con Guanidina-EDTA (6 M y 0,2 M respectivamente; Rojo *et al.*, 2017). Las especies introducidas fueron eutanasiadas con sobredosis de anestesia, mientras que las nativas fueron liberadas en el mismo punto de captura.

El tamaño mínimo muestral se calculó mediante el software WinEpi (WinEpi, 2018), considerando un tamaño poblacional desconocido (n), 50% de proporción de infectados en la población (establecido por la alta variación temporal y espacial de reportes anteriores en la región y para la obtención de n poblacional mayor), 95% de confianza y 5% de error. Según esta estimación, se utilizaron todas las muestras de sangre disponibles ($n=136$), las que pertenecieron a cuatro especies nativas de roedores *Abrocoma bennetti* (familia *Abrocomidae*), *Abrothrix olivaceus* (familia *Cricetidae*), *Phyllotis darwini* (familia *Cricetidae*) y *Octodon degus* (familia *Octodontidae*), además de la especie introducida *Rattus rattus* (familia *Muridae*). En el caso de los triatominos, se utilizaron 385 abdómenes de la especie nativa *Mepraia spinolai*.

Extracción de ADN

Las muestras biológicas se co-extrajeran con 10 μ L de un control interno endógeno (IAC) con una concentración de 10 pg/ μ L, que correspondió a ADN de la especie *Arabidopsis thaliana*, incorporado luego de digestión enzimática de las

muestras analizadas (Duffy *et al.*, 2009). El ADN extraído se eluyó en 200 µL, y se conservó a -20°C hasta su uso.

Vectores

La extracción de ADN se realizó a partir del abdomen de cada insecto, previa maceración mecánica, utilizando un kit comercial (Analytik Jena, *InnuPREP DNA Mini Kit*) según recomendaciones del fabricante.

Mamíferos

Se extrajo ADN de las muestras de sangre, previa incubación a 60°C por 3 horas para muestras coaguladas, mediante un kit comercial (Analytik Jena, *InnuPREP Blood DNA Mini Kit*) según recomendaciones del fabricante.

Estimación del estado de infección y cuantificación de carga parasitaria

Se realizó mediante la técnica de PCR cuantitativo (qPCR), la cual amplificó una región nuclear satelital conservada. La mezcla de reacción estuvo compuesta por 2 µL de la muestra, 4 µL de Mix HOT FIREPol® EvaGreen® 5X, 0,6 µL de cada uno de los oligonucleótidos Cruzi 1 (5'-ASTCGGCTGATCGTTTTTCGA-3') y Cruzi 2 (5'-AATTCCTCCAAGCAGCGGATA-3') (0,3 µM de cada uno) (Piron *et al.*, 2007),, y 12,8 µL de agua libre de nucleasas para un volumen final de reacción de 20 µL. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador Rotor-Gene® Q. El perfil térmico constó de una incubación a 95°C por 15 min, continuando con 40 ciclos consistentes en: una etapa de desnaturalización a 95°C por 15 seg.; una etapa de hibridación a 60°C por 20 seg.; y una etapa de extensión a 72°C por 20 seg. El registro de la fluorescencia emitida se realizó en la etapa de extensión de cada ciclo (Piron *et al.*, 2007). Se realizó una curva de *melting* posterior a los ciclos de

amplificación. En todos los ensayos fueron incluidos: un control sin templado, en el cual se reemplazó la muestra por agua libre de nucleasas; un control positivo (un punto de la curva de cuantificación con ADN de *T. cruzi*); y un control negativo de la reacción (ADN extraído de *M. spinolai* de laboratorio libre de infección). Todas las muestras se realizaron por duplicado.

Debido a la variabilidad en la cantidad de copias de la región satelital de *T. cruzi*, la curva estándar para la cuantificación absoluta de *T. cruzi* se realizó a partir de una mezcla de ADN de *T. cruzi* cepa DM28c (Tcl) y cepa Y (Tcll) (Duffy *et al.*, 2009; Moreira, *et al.*, 2013). La curva estándar cubrió el rango de cuantificación de entre 1 a 10^6 parásito-equivalentes (par-eq). El cálculo del ADN equivalente se basó en considerar que un parásito contiene 200 fg o 0,0002 ng de ADN. Los seis puntos de la curva estándar se amplificaron por triplicado.

Para normalizar la cantidad de ADN cuantificada, se realizó la amplificación y cuantificación del IAC usando los oligonucleótidos: Fw (5' ACCGTCATGGAACAGCACGTA 3') y Rv (5' CTCCCGCAACAAACCCTATAAAT 3') (Duffy *et al.*, 2013), y una curva estándar de 5 puntos (rango de cuantificación: 2×10^{-4} a 2 pg/ μ L). El perfil térmico constó de una incubación a 95°C por 15 min, continuando con 40 ciclos consistentes en: una etapa de desnaturalización a 95°C por 15 seg.; una etapa de hibridación a 58°C por 20 seg.; y una etapa de extensión a 72°C por 20 seg. Una curva de *melting* fue corrida posterior a los ciclos de amplificación.

Análisis estadístico

Resolución del Objetivo 1

En este objetivo se determinaron dos parámetros: estado de infección, medido como presencia o ausencia de amplificación de ADN de *T. cruzi* en la muestra analizada por individuo; y carga parasitaria, que correspondió a la cantidad de parásitos presentes (par-eq/mL, en micromamíferos; par-eq/triatomino, en

triatominos) en la muestra. Se calculó la frecuencia de infección (% de infección, intervalo de confianza de 95%) y la carga parasitaria (mediana) según localidad y especie. Para evaluar diferencias en la frecuencia de infección entre hospederos (triatominos vs roedores), entre especies, entre localidades según años, se utilizó un Test Exacto de Fisher con una prueba *a posteriori*, mientras que, para comparar cargas parasitarias, y considerando que los datos no se ajustaron a una distribución normal aun luego de las transformaciones, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$), con la prueba *a posteriori* de Dunn ($\alpha=0,025$). En ambos casos, los análisis estadísticos se realizaron mediante el software RStudio (RStudio, 2019) usando el paquete “rcompanion”, para el primer caso, y “dunn.test” para el segundo tipo de análisis.

Resolución del Objetivo 2

Para evaluar la distribución espacial de vectores y hospederos según estado de infección, se ocupó la herramienta de detección de *clusters* (agrupamiento) puramente espaciales del software SatScan (Kulldorff, 2015). Considerando la naturaleza de los datos de infección (dicotómicas: infectado o no infectado), se utilizó el modelo de Bernoulli con los parámetros por defecto con la excepción de una ventana de escaneo de forma elíptica, una estimación del valor p con 9999 iteraciones del método de Montecarlo estándar, y detección de *cluster* de alta y baja tasa de infección. El software compara la relación de presencia/ausencia de infección en toda la localidad versus la relación existente en un determinado sector de la localidad. Si la frecuencia de infección de aquel sector analizado, resultó ser mayor a aquel de la localidad completa, se establece que esa zona presentó un *cluster* de alta tasa, mientras que en los sitios que existió una baja frecuencia de infección en comparación a la localidad completa, se identificó un *cluster* de baja tasa (Kulldorff, 1997). Finalmente, los resultados significativos se graficaron en mapas utilizando el software QGIS.

Resolución del Objetivo 3

Para evaluar la distribución de la carga parasitaria presente en vectores y hospederos, se ocupó la herramienta de detección de *clusters* (agrupamiento) puramente espaciales del software SatScan (Kulldorff, 2015). Considerando la naturaleza de los datos de carga parasitaria (datos cuantitativos continuos), se utilizó el modelo de Bernoulli con los parámetros por defecto, con la excepción de una ventana de escaneo de forma elíptica, y estimación del valor p con 9999 iteraciones del método de Montecarlo estándar. La carga parasitaria en triatominos fue clasificada en dos grupos: baja carga (≤ 1 par-eq/ind) y alta carga (> 1 par-eq/ind). Del mismo modo, para el caso de los roedores, se agruparon los animales por: de baja carga (≤ 1 par-eq/ml) y alta carga (> 1 par-eq/ml). Luego, se identificaron *clusters* de baja y alta tasa. Finalmente, los resultados significativos se graficaron en mapas utilizando el software QGIS.

RESULTADOS

Objetivo específico 1

En total, se identificaron 70 roedores de cinco especies (*Abrocoma bennetti*, *Abrothrix olivaceus*, *Octodon degus*, *Phyllotis darwini* y *Rattus rattus*) infectados con *T. cruzi* en las localidades estudiadas de la Región de Coquimbo, correspondiente al 51,5% de individuos analizados (n=136). Asimismo, se identificaron 266 triatominos infectados con *T. cruzi* en la zona de estudio, correspondiente al 69,1% de individuos analizados (n = 385) (Fig. 2). Se identificaron diferencias significativas en la proporción de roedores y triatominos infectados, siendo éstos últimos los que presentaron mayor frecuencia de infección por *T. cruzi* (Fisher p=0,0002).

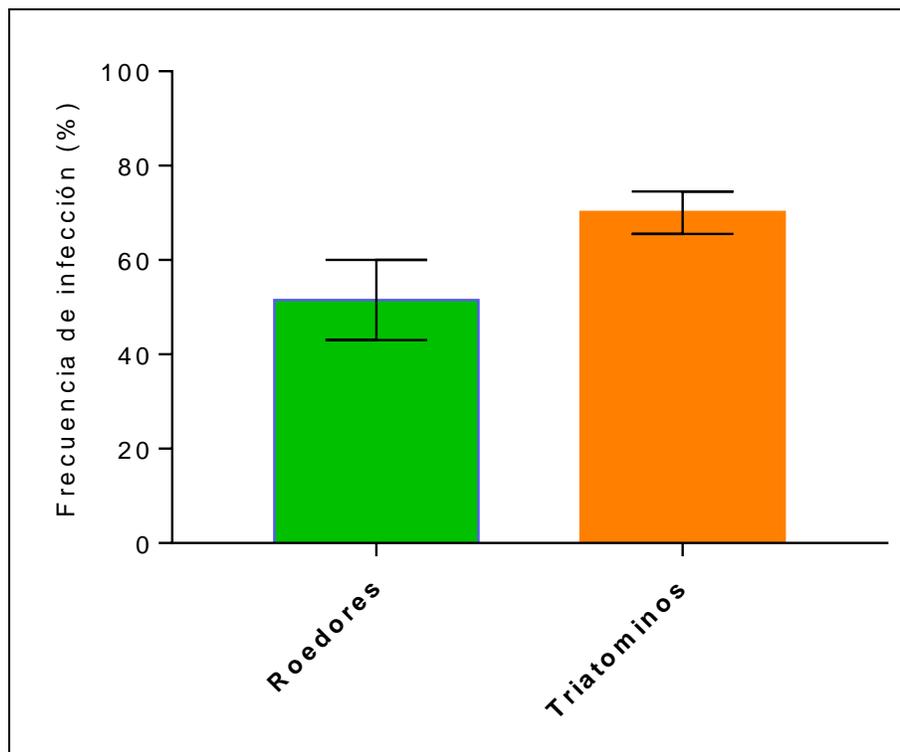


FIGURA 2. Frecuencia de infección e intervalo de confianza (IC95) según tipo de hospedero.

Roedores

En específico para el caso de roedores, se evidenció una frecuencia de infección por localidad superior al 50% en la mayoría de los casos, excepto para la localidad de Tranquilla, en donde sólo se capturó un individuo no infectado (Fig. 3). No se observaron diferencias significativas en la proporción de infectados entre localidades del año 2016, ni entre localidades de 2017 (Fisher ajustado $p > 0,05$; Fig. S3, Tabla S1, Anexo).

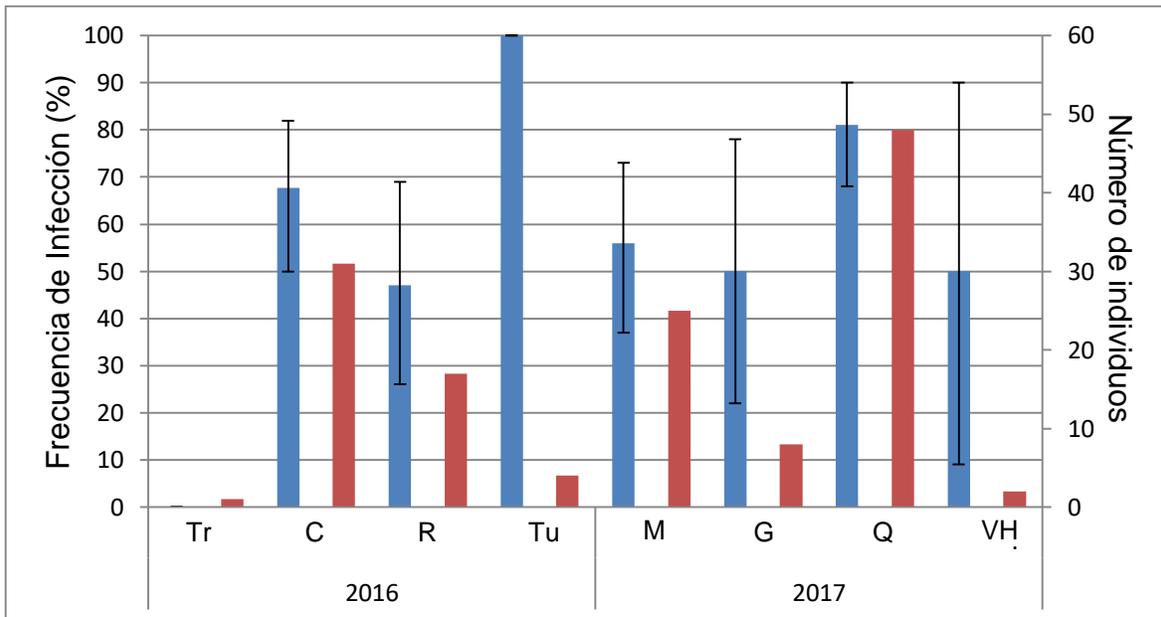


FIGURA 3. Caracterización de la infección por *Trypanosoma cruzi* en roedores, por localidad. En azul: frecuencia de infección, intervalo de confianza 95%; en rojo: tamaño muestral de roedores según localidad. Año 2016: Tr: Tranquilla; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tuluahuén. Año 2017: M= Matancilla; G= Gualliguica; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso.

El análisis comparando el nivel de infección según especie de roedor, evidenció una frecuencia de infección superior al 50% en todas las especies, excepto en el roedor nativo *O. degus* (25%). A pesar de esto último no se evidenciaron

diferencias significativas entre especies (Fisher ajustado $p > 0,05$; Tabla S2, Anexo) (Fig. 4).

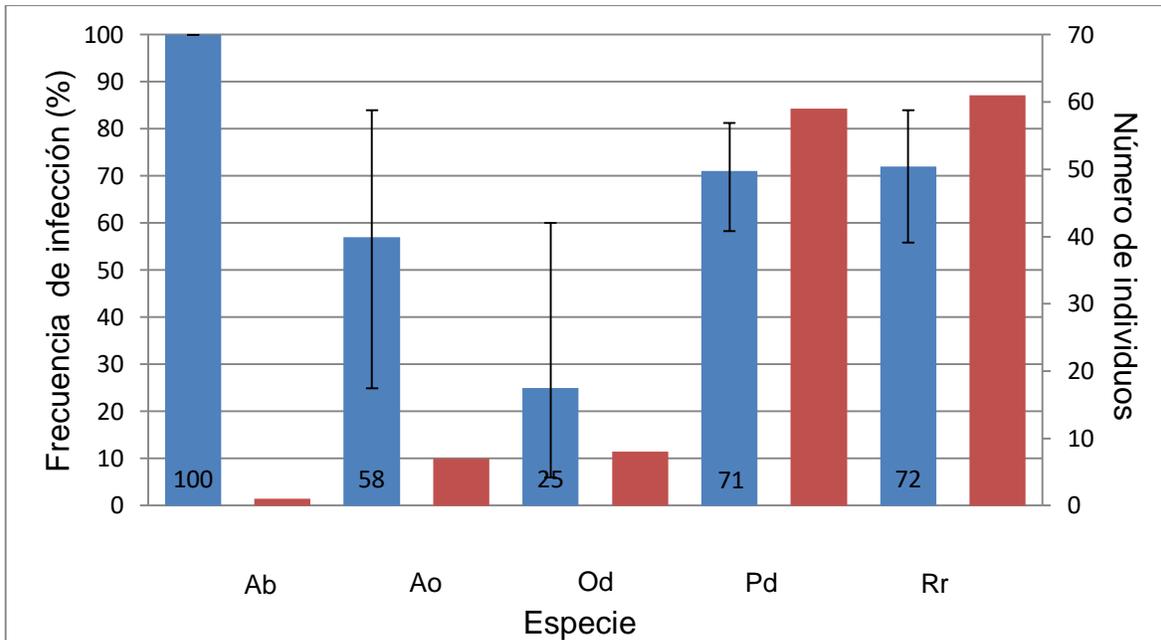


FIGURA 4. Frecuencia de infección por *Trypanosoma cruzi* según especie de roedor. En azul: frecuencia de infección e intervalo de confianza 95%; En rojo: tamaño muestral por especie de roedor. Ab= *A. bennettii*; Ao= *A. olivaceus*; Od = *O. degus*; Pd= *P. darwini*; Rr= *R. rattus*.

La distribución de datos de carga parasitaria en roedores no presentó una distribución normal, a pesar de los intentos de normalización con transformaciones a escala logarítmica y exponencial. La carga parasitaria en roedores se mantuvo en un rango entre 0,02 y 6646,92 par-eq/mL, y la mediana fue de 0,6 par-eq/mL.

El análisis comparando carga parasitaria entre localidades según años, evidenció diferencias significativas en 2016 y 2017 (Kruskal-Wallis: 2016, $p = 0,001$; 2017, $p = 0,003$; Fig. S4). El hallazgo más significativo del año 2016 ocurrió con la localidad de Cochiguaz, la cual tuvo una carga parasitaria estadísticamente menor en comparación con el resto de sitios del mismo año (Dunn $p < 0,025$; Tabla S3, Anexo). La localidad de Matancilla también evidenció cargas parasitarias

estadísticamente inferiores respecto del resto de localidades del año 2017 (Dunn $p < 0,025$; Tabla S3, Anexo) (Fig. 5).

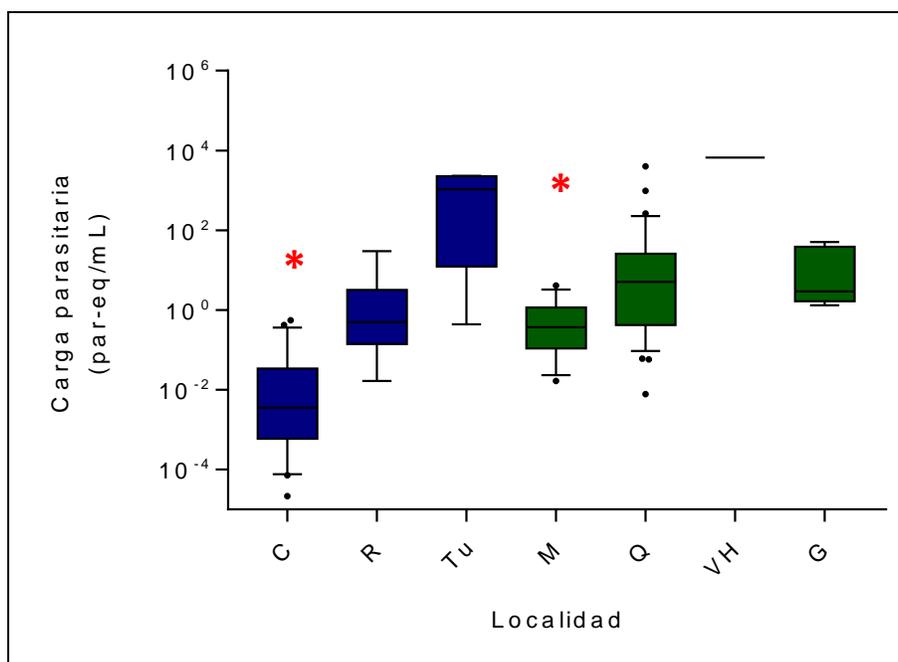


FIGURA 5. Caracterización de la carga parasitaria por *Trypanosoma cruzi* en roedores, según localidad. Mediana (línea interior), cuartiles inferior y superior (extensión de la caja) y los percentiles 10 y 90 (bigotes) de la carga parasitaria. En azul: localidades prospectadas el año 2016; en verde: localidades prospectadas el año 2017. C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso; G= Gualliguaica. * de color rojo= Carga parasitaria estadísticamente menor.

El análisis comparando carga parasitaria según especie de roedor, evidenció que existen diferencias significativas entre especies (Kruskal-Wallis $p < 0,001$). El hallazgo más significativo ocurrió entre las dos especies de roedores más abundantes en los sitios de muestreo (*P. darwini* y *R. rattus*), donde se observó que la carga parasitaria de la especie *R. rattus* fue estadísticamente mayor al observado en la especie *P. darwini* (Dunn $p < 0,001$; Tabla S4, Anexo) (Fig. 6).

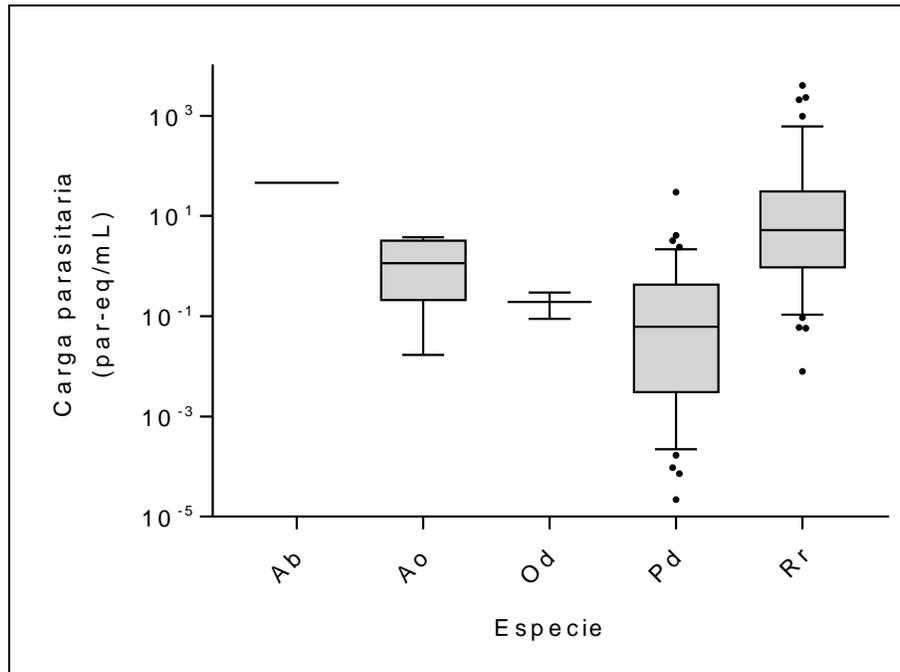


FIGURA 6. Caracterización de la carga parasitaria por *Trypanosoma cruzi* en roedores, según especie. Mediana (línea interior), cuartiles inferior y superior (extensión de la caja) y los percentiles 10 y 90 (bigotes) de la carga parasitaria. Ab= *A. bennettii*; Ao= *A. olivaceus*; Od = *O. degus*; Pd= *P. darwini*; Rr= *R. rattus*.

Triatominos

Se evidenció que en la mayoría de localidades el nivel de infección superó el 80% de los individuos analizados. Sin embargo, y a pesar del alto número de individuos capturados en la localidad de Rinconada, ésta obtuvo un valor cercano al 35% de infección (Fig. 7). Se observaron diferencias significativas en la proporción de infectados entre localidades del año 2016 (Fisher ajustado $p < 0,05$; Fig. S1, Tabla S5, Anexo), pero no entre localidades de 2017 (Fisher ajustado $p > 0,05$; Tabla S5, Anexo). Todas las localidades de 2016 presentaron diferencias significativas, excepto entre las localidades: Cochiguaz-Tulahuén (Fisher ajustado $p = 1,000$) y Rinconada-Tranquilla (Fisher ajustado $p = 0,330$).

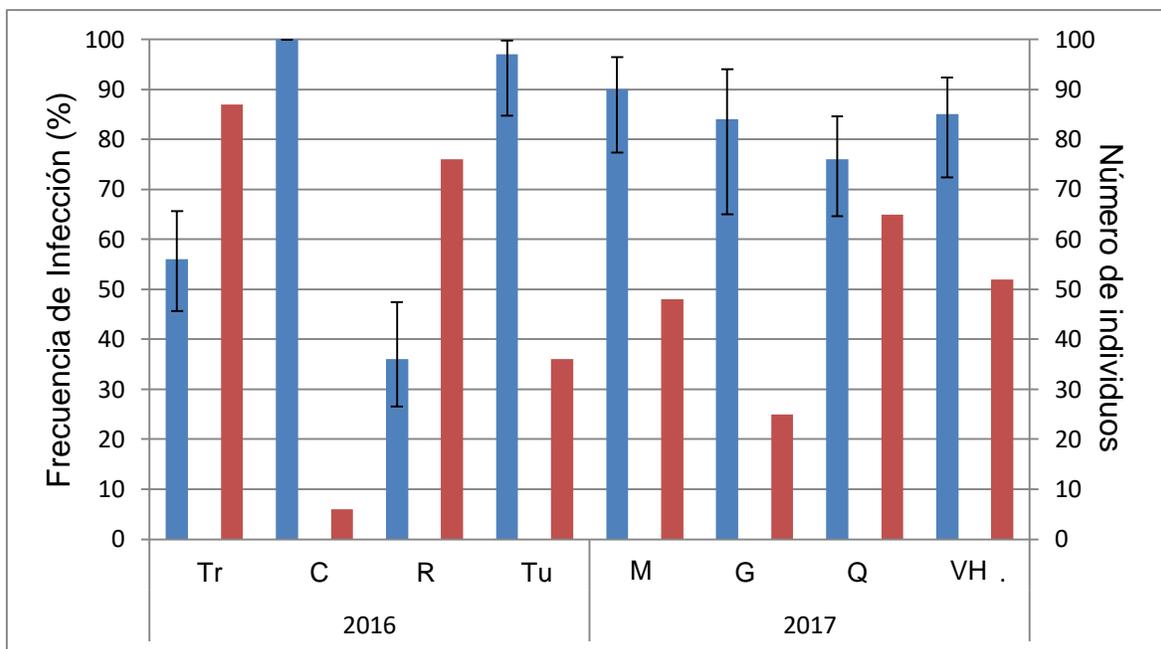


FIGURA 7. Caracterización de la infección por *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos, por localidad. En azul: frecuencia de infección, intervalo de Confianza 95%; en rojo: tamaño muestral de triatomíneos analizados según localidad. Año 2016: Tr= Tranquilla; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén. Año 2017: M= Matancilla; G= Gualliguaica; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso.

Al igual que el caso anterior, la distribución de datos de carga parasitaria en triatomíneos no presentó una distribución normal, a pesar de los intentos de normalización con transformaciones a escala logarítmica y exponencial. La carga parasitaria en triatomíneos se mantuvo en un rango entre $<0,001$ y $130.584,59$ par-eq/triatomino y la mediana fue de $0,02$ par-eq/triatomino.

El análisis comparando carga parasitaria entre localidades según años, evidenció diferencias significativas en 2016 y 2017 (Kruskal-Wallis: 2016, $p=0,018$; 2017, $p=0,011$). El hallazgo más significativo del año 2016 ocurrió con la localidad de Cochiguaz, la cual tuvo una carga parasitaria estadísticamente mayor en comparación con el resto de sitios del mismo año (Dunn $p<0,025$; Tabla S6, Anexo). La localidad de Gualliguaica también evidenció cargas parasitarias

estadísticamente superiores respecto del resto de localidades del año 2017 (Dunn $p < 0,025$; Tabla S6, Anexo) (Fig. 8).

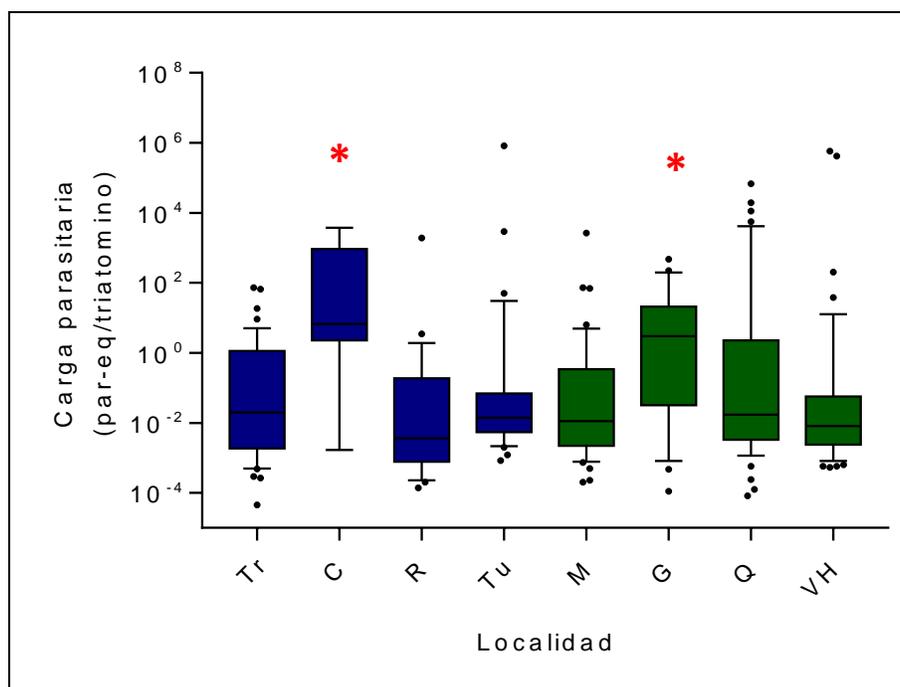


FIGURA 8. Caracterización de la carga parasitaria por *Trypanosoma cruzi* en triatominos, según localidad. Mediana (línea interior), cuartiles inferior y superior (extensión de la caja) y los percentiles 10 y 90 (bigotes) de la carga parasitaria. En azul: localidades prospectadas el año 2016; en verde: localidades prospectadas el año 2017. Tr= Tranquilla; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; G= Gualliguaica; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso. *Carga parasitaria estadísticamente mayor.

Objetivo específico 2

Para roedores, se identificó un *cluster* de alta tasa estadísticamente significativo ($p=0,01$), ubicado en la localidad de Cochiguaz (índice Observado/Esperado =1,48) (Fig. 9). El *cluster* estuvo compuesto, en su totalidad, por 16 individuos infectados de la especie *P. darwini*. Para el caso de triatominos, no se identificaron *clusters* estadísticamente significativos.

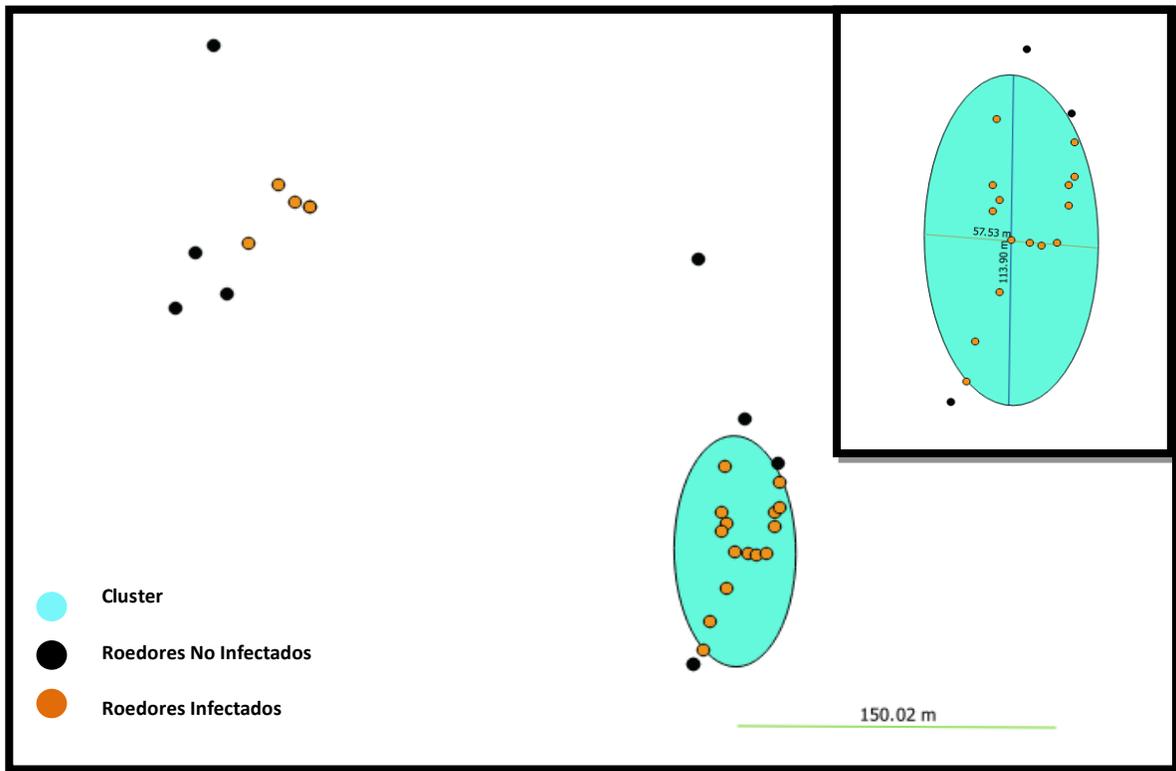


FIGURA 9. Mapa de ubicación de *cluster* de infección por *Trypanosoma cruzi* en roedores capturados en la localidad de Cochiguaz, mostrando ubicación de individuos analizados y *cluster* de infección detectado.

Objetivo específico 3

No se identificaron *clusters* estadísticamente significativos ni para roedores ni para triatomíneos, según carga parasitaria.

DISCUSIÓN

Este estudio se enfocó en evaluar la distribución espacial a escala local de la infección por *Trypanosoma cruzi* en vectores y roedores de la Región de Coquimbo. Para ello, se realizó un muestreo en ecotopos específicos, donde el vector silvestre *M. spinolai* muestra una mayor preferencia, como lo son pircas y chaguales.

Una vez realizado el muestreo en esos sectores, se comparó la frecuencia de infección entre roedores y triatomíneos, la cual resultó mayor en vectores de *T. cruzi*. Al respecto, es posible suponer que los triatomíneos presenten una mayor proporción de individuos infectados, debido a la existencia de formas de transmisión triatómino-triatómino, como son la coprofagia y el canibalismo (Schaub, 1988). En cambio en los roedores, no se han descrito vías de transmisión horizontal de *T. cruzi*, describiéndose solo la transmisión debido a la picadura y posterior deyección con *T. cruzi* por parte de triatomíneos (vía vectorial), el consumo directo de estos insectos (vía oral) y por vía transplacentaria (Moreno *et al.*, 2003; Botto-Mahan *et al.*, 2015). Por lo tanto, es esperable que exista un porcentaje de infección menor en estos micromamíferos. Adicionalmente, al considerar que, por un lado, el número de muestras analizadas para triatomíneos fue superior que para roedores, y por otro, que el tipo de muestra obtenida en roedores corresponde solo una pequeña cantidad de sangre, y no incluye el análisis de otros tejidos en donde puede llegar a alojarse el parásito en su forma replicativa; se podría explicar en parte, la menor frecuencia de infección encontrada en roedores.

Siguiendo esta misma línea, el nivel de infección general obtenido en roedores de las poblaciones estudiadas fue de 51,5%, valor dentro del rango esperado según lo obtenido por Botto-Mahan *et al.* (2010), quienes describieron fluctuaciones temporales de la infección entre 16 y 61%, y por Cornejo (2012), quien describió variaciones espaciales entre 10 y 62%, utilizando PCR convencional. A pesar de

esto, en este estudio no se evidenciaron diferencias significativas en la frecuencia de infección entre localidades según año de muestreo.

Otro factor que se consideró fue la abundancia y riqueza de las especies de roedores capturadas en los distintos sitios de muestreos. En relación a esto, se observó el predominio de dos especies: *P. darwini* (nativa, abundancia relativa: 0,43) y *R. rattus* (introducida, abundancia relativa: 0,45). Ambas presentaron un alta frecuencia de infección (alrededor del 70%), porcentaje superior al 45% observado utilizando PCR convencional por Rozas *et al.* (2005) en la Región de Coquimbo para *P. darwini*, y por Galuppo *et al.* (2009), para *R. rattus* (28%) en la Región Metropolitana; pero inferior a lo reportado por Yefi-Quinteros *et al.* (2018) para poblaciones de la Región de Coquimbo utilizando PCR en tiempo real (*R. rattus* 83,6%, *P. darwini* 100%). Finalmente, la abundante presencia de una especie exótica como *R. rattus* podría ser explicada por lo expuesto en el trabajo de Aplin *et al.* (2003), en donde se establece que esta especie es considerada como un verdadero comensal, y que esta condición permite que tengan una marcada habilidad de adaptación a variados ambientes y recursos. Así lo demuestra el estudio de Lobos *et al.* (2005), quienes evidenciaron la presencia de *R. rattus* a sectores silvestres.

La carga parasitaria en roedores se estimó en todos los individuos que resultaron positivos a la infección por *T. cruzi*. Alrededor del 80% de los roedores infectados presentaron baja carga parasitaria (<1 par-eq/mL), lo cual se encuentra cercano a lo obtenido por el trabajo de Yefi-Quinteros *et al.* (2018) que evidenció que más del 50% de los individuos estudiados se encontraron entre valores de 1 a 10 par-eq/mL. Esto concuerda por lo planteado por Anderson y Gordon (1982) y Boxshall (1974) sobre el comportamiento de las poblaciones de parásitos dentro de sus hospederos, quienes describen que un gran número de hospederos presentan una baja cantidad de parásitos, en contraposición a otros pocos individuos, que presentan una alta carga parasitaria.

Sumado a lo anterior, se comparó la carga parasitaria entre especies de roedor, en donde se evidenciaron diferencias significativas entre las dos especies más

abundantes (*P. darwini* y *R. rattus*), siendo mayor la carga parasitaria en la especie introducida *R. rattus* (mediana: 5,4 par-eq/mL). Esto podría deberse a lo considerado por Whisson *et al.* (2007), que establece que *R. rattus* presenta un rango de hogar de entre 2.000-12.000 m², valor mayor a los descrito por Muñoz-Pedrerros (1992) para la especie nativa *P. darwini* (1.100-3.700 m²). Este dato podría suponer que a una mayor capacidad de movimiento, los individuos de la especie *R. rattus* tienen una probabilidad mayor de contacto con ejemplares infectados de *M. spinolai*. Adicionalmente, el hecho de *R. rattus* sea una especie exótica en estas localidades, supone una menor adaptación del sistema inmune a infecciones por *T. cruzi*, especie para la cual existen registros de infección en América en mamíferos de cerca de 4.000 años de antigüedad (Ghul *et al.*, 1999), mientras *Rattus* se describe llegando a América solo en siglo XVII (Jaksic, 1998). A partir de esto surgen dos hipótesis respecto de las estrategias que ocuparían este tipo de especies frente a nuevos parásitos, que serían: por un lado, evitar fuertes respuestas inmunes para utilizar ese gasto energético en mejorar su *fitness* (White y Perkins, 2012); y por otro, no intentar erradicar el parásito sino más bien reducir las consecuencias del posible daño provocado por el patógeno (Raberg *et al.*, 2009). Esto podría explicar que la carga parasitaria en *R. rattus* sea mayor que en *P. darwini*. Otro aspecto interesante de considerar, es que las distintas subpoblaciones de *T. cruzi* (*Discrete Typing Units* o DTU por sus siglas en inglés) presentan dinámicas muy variadas en sus hospederos, por lo que a pesar de inocular grandes dosis del parásito de forma experimental, no todos son capaces de producir una alta carga parasitaria o la muerte del hospedero (Macedo y Pena, 1998). Considerando lo anterior, otra posible explicación a las altas cargas parasitarias detectadas en *R. rattus*, sería la infección en ellos por un DTU particular de *T. cruzi* que tenga el potencial de replicarse a mayor tasa dentro de este hospedero.

En lo que respecta a los vectores, el nivel de infección obtenido en triatominos de las poblaciones estudiadas fue de 69,1%, concordante con el estudio reportado por Coronado *et al.* (2009) en 2 sitios de muestreo de la Región de Coquimbo (40% y 74%), pero superior a lo observado por Botto-Mahan *et al.* (2005b),

quienes obtuvieron valores entre 38% y 54% en la misma región, con PCR convencional. Respecto de las variaciones temporales y espaciales de infección en triatomíneos, se observaron diferencias significativas entre las localidades del año 2016. Las localidades con mayor frecuencia de infección (Cochiguaz y Tuluahuén), fueron también las que contaron con baja temperatura media y mayor altitud dentro de las prospectadas ese año (ver Tabla 1). Para entender este hallazgo, hay que considerar los siguientes elementos: por un lado, una menor temperatura media podría explicar que estos insectos presenten una menor actividad motora en estas localidades, debido a que la temperatura ideal para *M. spinolai* es de 24,8°C (Canals *et al.*, 1998). Por otro lado, el hecho de que los chaguales (uno de los ecotopos utilizados por los vectores), presenten una distribución geográfica asociada principalmente a zonas costeras y la Cordillera de la Costa (Zizka *et al.*, 2009), permite suponer que localidades más cercanas a la Cordillera de los Andes (y a mayor altura, como por ejemplo Cochiguaz), presenten una menor abundancia de este tipo de especies vegetales, disminuyendo así el número de áreas disponibles para *M. spinolai*. Estos dos aspectos podrían favorecer que los individuos de *M. spinolai* se encuentren restringidos espacialmente y que en ellos aumente la probabilidad de transmisión del parásito, debido a fenómenos de coprofagia o canibalismo, (Schaub, 1988).

Finalmente, para la evaluación de la carga parasitaria en triatomíneos, ésta fue caracterizada en todos aquellos individuos que resultaron positivos a la infección por *T. cruzi*. De igual manera que para roedores, el 80% de los triatomíneos infectados presentaron bajas cargas parasitarias (<1 par-eq/triatomino), similar a lo observado por Barrera (2017) y concordante con lo planteado por Anderson y Gordon (1982) y Boxshall (1974).

Pasando al análisis del segundo objetivo específico, referido a la determinación de *clusters* según estado de infección (infectado o no infectado), se identificó un *cluster* de alta tasa en la localidad de Cochiguaz para roedores, mientras que, en triatomíneos no se identificaron *clusters* significativos. Este resultado es distinto a lo obtenido por Ilhe-Soto *et al.* (2019), quienes analizando poblaciones de vectores y

micromamíferos entre las regiones de Coquimbo y Metropolitana, detectaron seis *clusters* de infección puramente espaciales para triatomíneos, pero ninguno para roedores. Sin embargo, los estudios no son comparables, pues la metodología fue distinta, en cuanto al tipo de análisis molecular utilizado en ese estudio (PCR convencional), a los sitios de muestreos evaluados, y la estrategia de muestreo utilizada (por conveniencia).

El *cluster* de roedores estuvo compuesto en su totalidad por individuos de la especie *P. darwini*, lo cual permitiría suponer que en esta especie y localidad, el parásito *T. cruzi* se puede mantener de forma agregada en el espacio. Este hallazgo podría sustentarse por el hecho que en la localidad de Cochiguaz fue donde se evidenció la mayor abundancia relativa de *P. darwini* (abundancia relativa: 0,80) (Tabla S7, Anexo). Las condiciones ambientales propias de la localidad de Cochiguaz derivadas de su mayor altitud (Tabla 1), podrían estar afectando la abundancia relativa de las comunidades de roedores. El hecho de que *P. darwini* esté influyendo en la distribución espacial de la infección por *T. cruzi* podría estar explicada debido a que los individuos identificados en el *cluster* tengan algún grado de parentesco, con lo cual pudiera haber algún tipo de transmisión vertical del parásito, desde las madres a las crías (Moreno *et al.*, 2003).

La localidad de Cochiguaz presentó además dos particularidades: la mayor carga parasitaria en triatomíneos y la menor carga parasitaria en roedores. Lo primero podría ser explicado por la gran cantidad de roedores que tienen los triatomíneos para alimentarse (en el *cluster* y alrededores). Así, cada vez que se alimenta el triatomíneo, se favorece un aumento en la carga parasitaria, y el desarrollo de nuevos epimastigotes y tripomastigotes metacíclicos (Perlowagora-Szumlewicz y Muller, 1987; Asin y Catalá, 1995). Y lo segundo, se podría explicar por la menor probabilidad que tienen esos roedores de sufrir reinfecciones en el tiempo, debido al escaso número de triatomíneos en la localidad. Bajo esta condición, se permitiría que el sistema inmune de *P. darwini* mantenga bajas cargas parasitarias (Rodríguez *et al.*, 2009; Rosenberg *et al.*, 2010).

Para el caso de triatominos, una posible explicación de la no identificación de *clusters* es la alta frecuencia de infección observada en la mayoría de las localidades. Esta situación estaría indicando que *T. cruzi* se encuentra infectando a un gran número de individuos, posiblemente debido a las múltiples vías en que estos insectos pueden infectarse (Botto-Mahan *et al.*, 2005a; Schaub, 1988), incidiendo de manera directa en cómo se distribuye el parásito, a escala local.

Llegando al objetivo específico 3, se realizó un análisis espacial similar al anterior, pero esta vez subdividiendo al grupo de individuos infectados, en grupos de baja y alta carga parasitaria. La determinación de separar individuos según carga parasitaria podría ser entendida por la potencialidad de esos individuos de transmitir tripomastigotes infectivos de *T. cruzi* a otro posible hospedero. De esta forma, es de esperar que individuos con alta carga parasitaria tengan una mayor cantidad de tripomastigotes infectivos al momento de alimentarse, mientras que, individuos con baja carga parasitaria tengan una menor cantidad. A pesar de lo anterior, el hecho de no identificar *clusters* significativos según carga parasitaria, podría explicarse por la gran cantidad de individuos que presentaron una baja carga parasitaria (sobre un 80% de los individuos), tanto para roedores como para triatominos. Otro aspecto a considerar, es que una de las limitaciones de este estudio fue que para la determinación de carga parasitaria se utilizó el ADN extraído de todo el abdomen de los triatominos. Este hecho es relevante de considerar al momento de separar triatominos según su potencialidad de infectar a otro hospedero, ya que en la porción anterior del tracto digestivo se encuentran formas replicativas del parásito y en la posterior, formas infectivas (Kollien y Schaub, 2000). Este dato no implicaría necesariamente que todos los parásitos caracterizados en un individuo sean capaces de infectar a otro animal. Sin embargo, para este estudio, se simplificó el análisis considerando la carga parasitaria independiente del estatus infectivo del patógeno.

CONCLUSIONES

En este estudio no se pudo probar que la infección por *T. cruzi* se mantiene en el ambiente de forma espacialmente agrupada debido a que sus hospederos lo hacen de esa manera. Si bien se identificó un *cluster* para roedores, integrado por ejemplares de la especie *P. darwini*, que pudiera hacer suponer que *T. cruzi* se agrupa en el espacio gracias a esta especie o a una circunstancia propia de zonas que se encuentran a mayor altitud, esta hipótesis debería ser colocada a prueba utilizando un diseño muestral enfocado en resolver esta pregunta.

El número de individuos capturados y la proporción de infectados en triatominos, fue mayor que los valores obtenidos para roedores, en los mismos sitios de captura. En específico para el caso de roedores, hubo un claro predominio de dos especies, *P. darwini* (nativa) y *R. rattus* (introducida), con frecuencias de infección similares. En general, la carga parasitaria presente en roedores y triatominos fue baja (<1par/eq) en la mayoría de los casos (>80%). Para el caso de roedores, la especie *R. rattus* presentó una carga parasitaria estadísticamente mayor a la observada en *P. darwini*.

BIBLIOGRAFÍA

ALEVI, K.; ROSA, J.; AZEREDO-OLIVEIRA, M. 2013. Mini review: karyotypic survey in Triatominae subfamily (Hemiptera, Heteroptera). *Entomol. Ornithol. Herpetol.* 2 (2): 106-107.

ANDERSON, R.; GORDON, D. 1982. Processes influencing the distribution of parasite numbers within host populations with special emphasis on parasite-induced host mortalities. *Parasitol.* 85: 373-398.

APLIN, K.; CHESSER, T.; HAVE, J. 2003. Evolutionary biology of the genus *Rattus*: profile of an archetypal rodent pest. En: **SINGLETON, G.; HINDS, L.; KREBS, C.; SPRATT, D. RATS.** Mice and people: rodent biology and management. ACIAR, Canberra, pp 487–498.

APT, W.; REYES, H. 1990. Algunos aspectos de la Enfermedad de Chagas en Latinoamérica. *Parasitol. Día.* 14: 23-40.

ARANA, M.; RAMÍREZ, O.; SANTA MARÍA, S.; KUNIMOTO, C.; VELARDE, R.; DE LA CRUZ, C.; RUÍZ, M. 2002. Population density and reproduction of two peruvian leaf-eared mice (*Phyllotis* spp.). *Rev. Chil. Hist. Nat.* 75: 751-756.

ASIN, S.; CATALA, S. 1995. Development of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma infestans*: influence of temperature and blood consumption. *J. Parasitol.* 81: 1-7.

BACIGALUPO, A. 2016. Modelo predictivo de la distribución de triatomíneos a escala local. Tesis de Magíster. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. 113 pp.

BACIGALUPO, A.; SEGURA, J.; GARCÍA, A.; HIDALGO, J.; GALUPPO, S.; CATTAN, P. 2006. Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile. *Rev. Med. Chil.* 134: 1230-1236.

BARRERA, M. 2017. Relación de la carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* con el estado de desarrollo, peso abdominal y tamaño del vector silvestre *Mepraia spinolai*. Tesis de Magíster. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

BOTTO-MAHAN, C.; CATTAN, P.; CANALS, M.; ACUÑA, M. 2005a. Seasonal variation in the home range and host availability of the blood sucking insect *Mepraia spinolai* in wild environment. *Acta Trop.* 95: 160-163.

BOTTO-MAHAN, C.; ORTIZ, S.; ROZAS, M.; CATTAN P.; SOLARI, A. 2005b. DNA evidence of *Trypanosoma cruzi* in the Chilean wild vector *Mepraia spinolai* (Hemiptera: Reduviidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 100 (3): 237-239.

BOTTO-MAHAN, C.; CAMPOS, R.; ACUÑA-RETAMAR, M.; CORONADO, X.; CATTAN, P.; SOLARI, A. 2010. Temporal variation of *Trypanosoma cruzi* infection in native mammals in Chile. *Vector-Borne. Zoonot. Dis.* 10 (3): 317-320.

BOTTO-MAHAN, C.; CORREA, J.; BACIGALUPO, A.; CAMPOS-SOTO, R.; CATTAN, P.; SOLARI, A. 2015. Ecology of the endemic sylvatic triatomines of Chile. *Parasitol. Latinoam.* 64 (3): 12-19.

BRENER, Z.; ANDRADE, Z.; BARRAL-NETO, M. 2000. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. 2º Edição. Guanabara Koogan Ed. Rio de Janeiro, Brasil. 431.

BOXSHALL G. 1974. The population dynamics of *Lepeophtheirus pectoralis* (Miiller): dispersion pattern. *Parasitol.* 69: 373-390.

CABELLO C.; CABELLO C. 2008. Zoonosis con reservorios silvestres: Amenazas a la salud pública y a la economía. *Rev. Med. Chil.* 136 (3): 385-393.

CANALS, M.; SOLÍS, R.; VALDERAS, J.; EHRENFELD, M.; CATTAN, P. 1997. Preliminary studies on temperature selection and activity cycles of *Triatoma infestans* and *M. spinolai* (Heteroptera: Reduviidae), Chilean vectors of Chagas disease. *J. Med. Entomol.* 34: 11-17.

CANALS, M.; EHRENFELD, M.; SOLÍS, R.; CRUZAT, L.; PINOCHET, A.; TAPIA, C.; CATTAN, P. 1998. Biología comparada de *Mepraia spinolai* en condiciones de laboratorio y terreno: cinco años de estudio. *Parasitol. Día.* 22 (3-4): 72-78.

CANALS, M.; GONZÁLEZ, C.; CANALS, L.; CANALS, A.; CÁCERES, D.; ALVARADO, S.; CATTAN, P.; SAAVEDRA, M.; ZULANTAY, I.; APT, W. 2017. ¿Qué dicen los números de la evolución temporal de la enfermedad de Chagas? *Rev. Chil. Infectol.* 34(2): 120-127.

CARVAJAL, A.; ORELLANA, J.; WIGANT, W.; BÓRQUEZ, C.; LOBATO, I. 2007. Prevalence of Triatomines infected with *Trypanosoma cruzi* in the coast of Arica City. *Parasitol. Latinoam.* 62: 118-121.

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

CLAVIJO, S. 1993. Fundamentos de manejo de plagas. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas, Venezuela. Anauco Ediciones. 205 p.

CLIMATE-DATA.ORG. 2018. ClimateData.org. <<https://en.climate-data.org/>>.

CORNEJO, B. 2012. Abundancia de vectores y reservorios de la enfermedad de Chagas y sus prevalencias a *Trypanosoma cruzi* en época invernal. Tesis de Pregrado. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

CORONADO, X.; ROZAS, M.; BOTTO-HAMAN, C.; ORTÍZ, S.; CATTÁN, P.; SOLARI, A. 2009. Molecular Epidemiology of Chagas Disease in the Wild Transmission Cycle: The Evaluation in the Sylvatic Vector *Mepraia spinolai* from an Endemic Area of Chile. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 81 (4): 656-659.

CORREA, J.; BACIGALUPO, A.; FONTÚRBEL, F.; ODA, E.; CATTAN, P.; SOLARI, A.; BOTTO-MAHAN, C. 2015. Spatial distribution of an infectious disease in small mammal community. *Sci. Nat.* 102 (51): 1-4.

CUMMING, K.; TARLETON, R. 2003. Rapid quantitation of *Trypanosoma cruzi* in host tissue by real-time PCR. *Mol. Biochem. Parasit.* 129: 53-59.

DUFFY, T.; BISIO, M.; ALTICHEH, J.; BURGOS, J.; DIEZ, M.; LEVIN, M.; FAVALORO, R.; FREILIJ, H.; SCHIJMAN, A. 2009. Accurate real-time PCR strategy for monitoring bloodstream parasitic loads in Chagas disease patients. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 3, e419.

DUFFY, T.; CURA, C.; RAMIREZ, J.; ABATE, T.; CAYO, N.; PARRADO, R.; BELLO, Z.; VELAZQUEZ, E.; MUNOZ-CALDERON, A.; JUIZ, N.; BASILE, J.; GARCIA, L.; RIASTE, A.; NASSER, J.; OCAMPO, S.; YADON, Z.; TORRICO, F.; 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. Negl. Trop. Dis.* 7: e2000.

ESTADELLA, V. 2012. Densidad relativa de *Mepraia spinolai* y prevalencia de *Trypanosoma cruzi*, en focos de las regiones de Coquimbo, Valparaíso y Metropolitana. Tesis de Pregrado. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

FRÍAS, D.; ATRIA, J. 1998. Chromosomal variation, macroevolution and possible parapatric speciation in *Mepraia spinolai* (Porter) (Hemiptera:Reduviidae). *Gen. Mol. Biol.* 21: 179-184.

FRÍAS-LASSERRE D. 2010. A New species and karyotype variation in the bordering distribution of *Mepraia spinolai* (Porter) and *Mepraia gajardoi* Frías et al (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Chile and its parapatric model of speciation. *Neotrop. Entomol.* 39: 572-583.

GALUPPO, S.; BACIGALUPO, A.; GARCÍA, A.; ORTIZ, S.; CORONADO, X.; CATTAN, P.; SOLARI, A. 2009. Predominance of *Trypanosoma cruzi* genotypes in two reservoirs infected by sylvatic *Triatoma infestans* of an endemic area of Chile. *Acta Trop.* 111: 90-93.

GALWAY, L.; BELL, N.; AL SHATARI, S.; HAGOPIAN, A.; BURNHAM, G.; FLAXMAN, A.; WEISS, W.; RAJARATNAM, J.; TAKARO, T. 2012. A two-stage cluster sampling method using gridded population data, a GIS, and Google Earth™ imagery in population-base mortality survey in Iraq. *Int. J. Health Geogr.* 11: 12-20.

GAUNT, M.; MILES, M. 2000. The ecotopes and evolution of triatomine bugs (Triatominae) and their associated Trypanosomes. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 95 (4): 557-565.

GOOGLE EARTH. 2019. Mapa Región de Coquimbo. <<https://earth.app.goo.gl/?apn=com.google.earth&ibi=com.google.b612&isi=293622097&ius=googleearth&link=https%3a%2f%2fearth.google.com%2fweb%2f%40-30.63778966,-70.64337413,2696.49869264a,950428.56942326d,35y,3.02708759h,0t,0r>> (En línea: 18-03-2019).

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

HAYES, L.; CHESH, A.; EBENSPERGER, L. 2007. Ecological predictors of range areas and use of burrow systems in the diurnal rodent, *Octodon degus*. Ethology. 113: 155-165.

HERRERA, H.; RADEMAKER, V.; ABREU, U.; D`ANDREA, P.; JANSEN, A. 2007. Variables that modulate the spatial distribution of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* in the Brazilian Pantanal. Acta Trop. 102: 55-62.

ILHE-SOTO, C.; COSTOYA, E.; CORREA, J.; BACIGALUPO, A.; CORNEJO-VILLAR, B.; ESTADELLA, V.; SOLARI, A.; ORTIZ, S.; HERNÁNDEZ, H.; BOTTO-MAHAN, C.; GORLA, D.; CATTAN, P. 2019. Spatio-temporal characterization of *Trypanosoma cruzi* infection and discrete typing units infecting hosts and vectors from non-domestic foci of Chile. PLoS. Negl. Trop. Dis. 13(2): e0007170.

IRIARTE, A. 2007. Mamíferos de Chile. Lynx Edicions. 420 pp.

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

KOLLIEN, A.; SCHAUB, G. 2000. The development of *Trypanosoma cruzi* in triatominae. Parasitol. Today. 16(9): 381-387.

KOTTEK, M.; GRIESER, J.; BECK, C.; RUDOLF, B.; RUBEL, F. 2006. World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. Meteorol. Z., 15: 259-263.

KREBS, C. 1999. Ecological Methodology. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 2.

KULLDORFF, M. 1997. A spatial scan statistic. Commun. Statist-Theory Meth. 26: 1481-1496.

KULLDORFF, M. 2015. SaTScan™ User Guide. V9.4.

LOBOS, G.; FERRES, M.; PALMA, E. 2005. Presencia de los géneros invasores *Mus* y *Rattus* en áreas naturales de Chile: un riesgo ambiental y epidemiológico. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 78: 113-124.

MACEDO, A.; PENA, S. 1998. Genetic variability of *Trypanosoma cruzi*: implications for the pathogenesis of Chagas disease. *Parasitol. Today.* 14: 119-124.

MOREIRA, O.; RAMIREZ, J.; VELAZQUEZ, 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.

MORENO, E.; RIVERA, I.; MORENO, S.; ALARCÓN, M.; LUGO-YARBUH, A. 2003. Transmisión vertical de *Trypanosoma cruzi* en ratas Wistar durante la fase aguda de la infección. *Invest. Clín.* 44 (3): 241-254.

MUÑOZ-PEDREROS, A. 1992. Ecología del ensamble de micromamíferos en un agroecosistema forestal de Chile central: una comparación latitudinal. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 65: 417-428.

NOIREAU, F.; DIOSQUE, P.; JANSEN, A. 2009. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. *Vet. Res.* 40 (2): 26-65.

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2017. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>>

PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A.; MULLER, C. 1987. Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of hosts with Chagas' disease. 2. Attempts to upgrade the reliability and the efficacy of xenodiagnosis in chronic Chagas' disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 82: 259-272.

PIRON, M.; FISA, R.; CASAMITJANA, N.; LÓPEZ-CHEJADE, P.; PUIG, L.; VERGÉS, M.; GASCÓN, J.; GÓMEZ I PRAT, J.; PORTÚS, M.; SAULEDA, S. 2007. Development of a real-time PCR assay for *Trypanosoma cruzi* detection in blood samples. *Acta Trop.* 103: 195-200.

PIZZIMENTI, J.; SALLE, R. 1981. Factors influencing the distributional abundance of two trophic guilds of Peruvian cricetid rodents. *Biol. J. Linn. Soc.* 15: 339-354.

RABERG, L.; GRAHAM, A.; READ, A. 2009. Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.* 364: 37-49.

RASSI, A.; RASSI, A.; MARÍN-NETO, J. 2010. Chagas disease. *Lancet.* 375: 1388-1402.

RENGIFO, A. 2000. Preferencias alimentarias específicas de *Mepraia spinolai* por vertebrados frecuentes en su hábitat. Tesis de Pregrado. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

- RODRIGUES, M.; ALENCAR, B.; CLASER, C.; TZELEPIS, F.** 2009. Immunodominance: a new hypothesis to explain parasite escape and host/parasite equilibrium leading to the chronic phase of Chagas' disease? *Braz. J. Med. Biol. Res.* 42(3): 220-223.
- ROJO, G.; SANDOVAL-RODRÍGUEZ, A.; LÓPEZ, A.; ORTIZ, S.; CORREA, J.; SAAVEDRA, M.; BOTTO-MAHAN, C.; CATTAN, P.; SOLARI, A.** 2017. Within-host temporal fluctuations of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units: the case of the wild reservoir rodent *Octodon degus*. *Parasit. Vectors.* 10: 380.
- ROSENBERG, C.; MARTIN, D.; TARLETON R.** 2010. CD8+ T cells specific for immunodominant trans-sialidase epitopes contribute to control of *Trypanosoma cruzi* infection but are not required for resistance. *J. Immunol.* 185(1): 560–568.
- ROZAS, M.; BOTTO-MAHAN, C.; CORONADO, X.; ORTIZ, S.; CATTAN, P.; SOLARI, A.** 2005. Short Report: *Trypanosoma cruzi* Infection in Wild Mammals from a Chagasic Area of Chile. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 73 (3): 517-519.
- RSTUDIO.** 2019. RStudio: integrated development environment for R (Version 1.2.1335). [Computer software]. Boston, MA. <www.rstudio.org>
- SCHAUB, G.** 1988. Direct transmission of *Trypanosoma cruzi* between vectors of Chagas disease. *Acta Trop.* 45: 11-9.
- TAYLOR, L.** 1986. Synoptic dynamics, migration and the Rothamsted Insect Survey. *J. Anim. Ecol.* 55: 1-38.
- TOLEDO, A.** 2013. Detección y genotificación de *Trypanosoma cruzi* en insectos vectores silvestres del género *Mepraia*. Tesis de Pregrado. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
- WHISSON, D.; QUINN, J.; COLLINS, K.** 2007. Home ranges and movements of roof rats (*Rattus rattus*) in an old-growth riparian forest, California. *J. Mammal.* 88 (3): 589-594.
- WHITE, T.; PERKINS, S.** 2012. The ecoimmunology of invasive species. *Funct. Ecol.* 26: 1313-1323.
- WINEPI (Working in Epidemiology).** 2018. <<http://www.winepi.net/f102.php>>.
- WISNIVESKY-COLLI, C.; SCHWEIGMANN, N.; PIETROKOVSKY, S.; BOTTAZZI, V.; RABINOVICH, J.** 1997. Spatial distribution of *Triatoma guasayana* (Hemiptera: Reduviidae) in Hardwood Forest biotopes in Santiago del Estero, Argentina. *J. Med. Entomol.* 34 (2): 102-109.
- WORLD BANK.** 1993. World Development Report 1993: investing in health, Oxford University Press. 329.

YEFI-QUINTEROS, E.; MUÑOZ-SAN MARTÍN, C.; BACIGALUPO, A.; CORREA, J.; CATTAN, P. 2018. *Trypanosoma cruzi* load in synanthropic rodents from rural areas in Chile. *Parasit. Vectors.* 11: 171-176.

ZIZKA, G.; SCHMIDT, M.; SCHULTE, K.; NOVOA, P.; PINTO, R.; KONIG, K. 2009. Chilean bromeliaceae: diversity, distribution and evaluation of conservation status. *Biodivers. Conserv.* 18: 2449-2471.

ZUNINO, S.; SAIZ, F.; YATES, L. 1992. Uso del espacio, densidad de *Octodon degus* y oferta de recursos en Ocoa, Parque Nacional La Campana, Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 65: 343-355.

ANEXOS

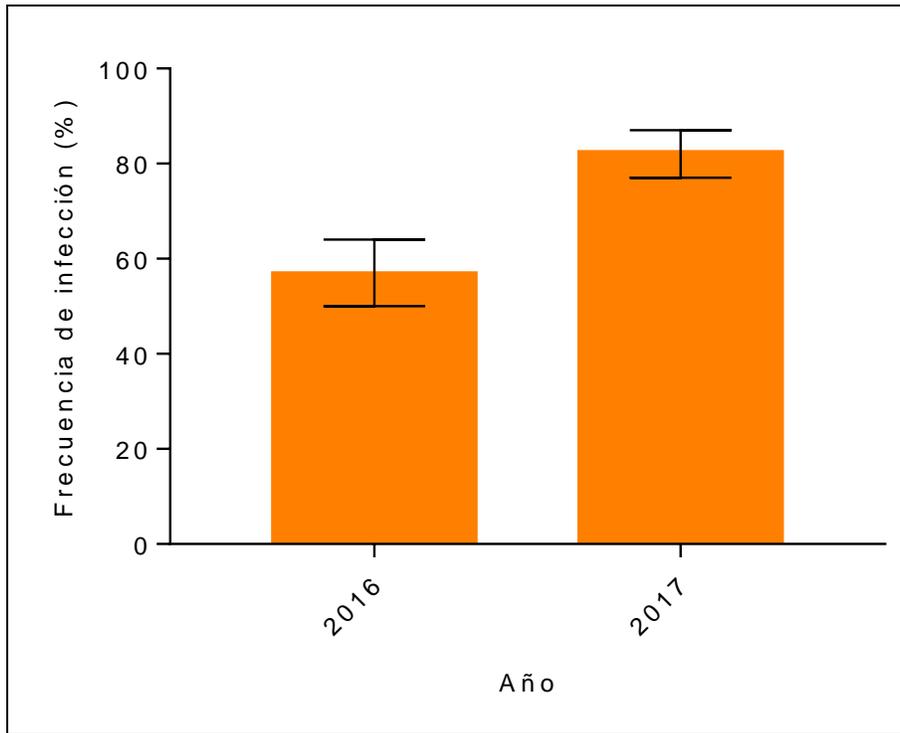


FIGURA S1. Frecuencia de infección e intervalo de confianza (IC95) en triatominos, según año de muestreo.

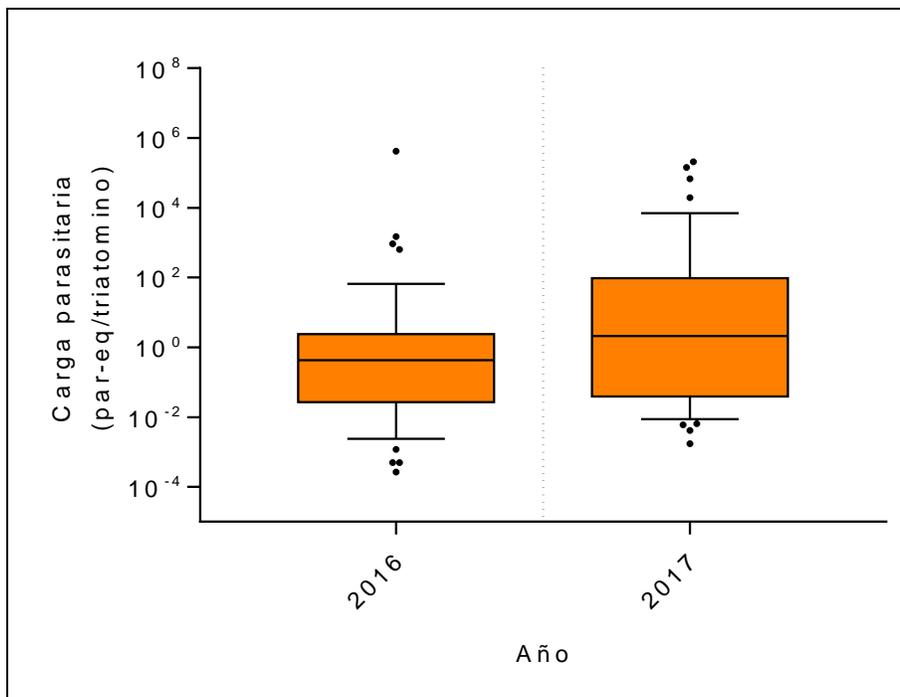


FIGURA S2. Mediana (línea interior), cuartiles inferior y superior (extensión de la caja) y los percentiles 10 y 90 (bigotes) de la carga parasitaria de triatominos, según año de muestreo.

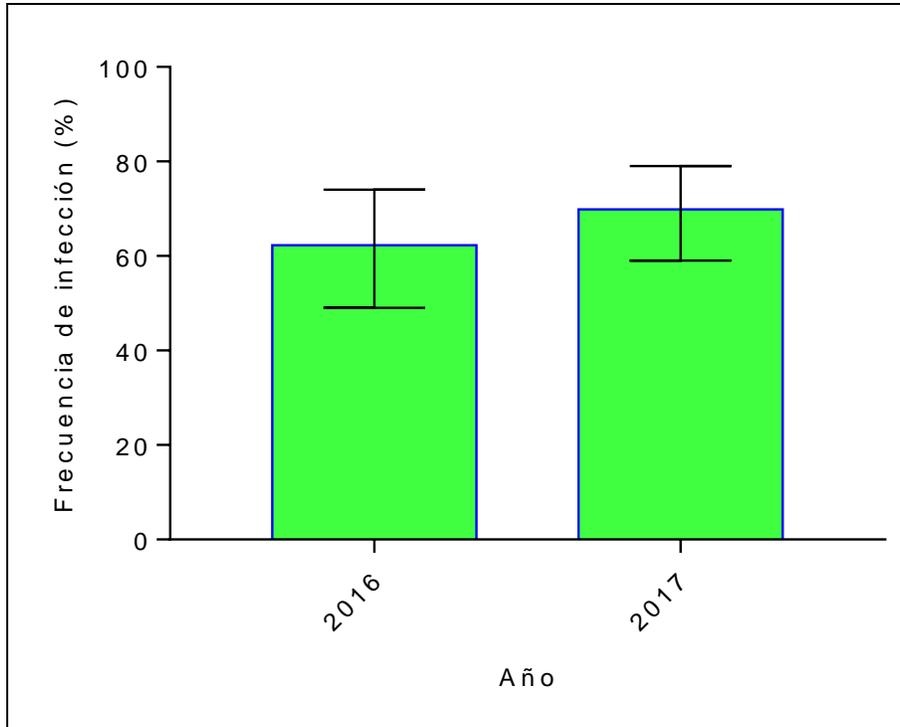


FIGURA S3. Frecuencia de infección e intervalo de confianza (IC95) en roedores, según año de muestreo.

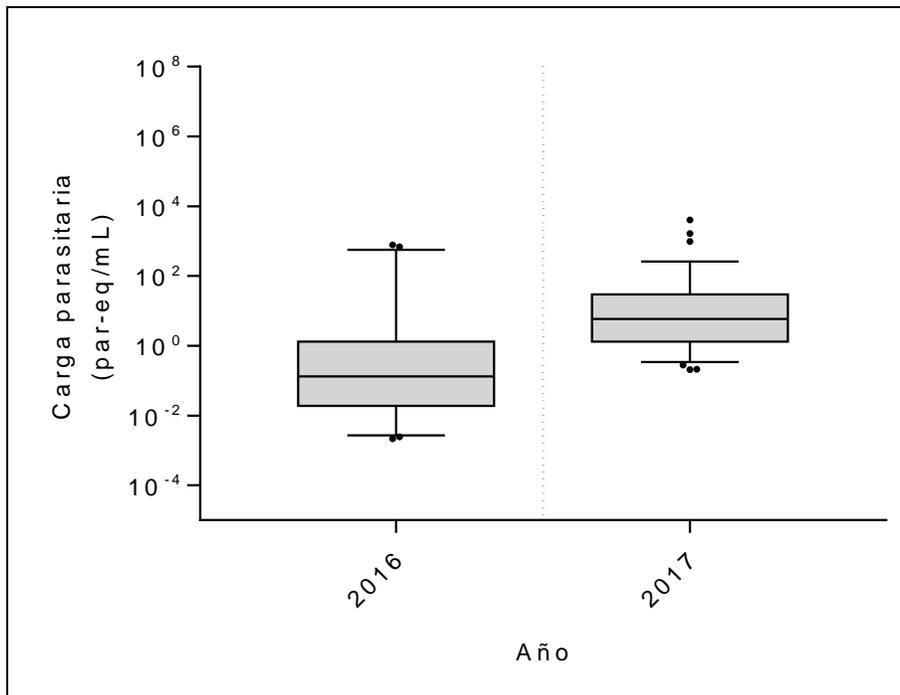


FIGURA S4. Mediana (línea interior), cuartiles inferior y superior (extensión de la caja) y los percentiles 10 y 90 (bigotes) de la carga parasitaria de roedores, según año de muestreo

TABLA S1. Valores de p según prueba *a posteriori* de Fisher (ajustado) al comparar frecuencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en roedores, entre localidades y dentro de año. G= Gualliguaica; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; Tr= Tranquilla; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso.

Año	Localidad	2016				2017			
		C	R	Tr	Tu	G	M	VH	Q
2016	C								
	R	0,413							
	Tr	0,413	1,000						
	Tu	0,413	0,413	0,413					
2017	G								
	M					1,000			
	VH					1,000	1,000		
	Q					0,223	0,173	0,726	

TABLA S2. Valores de p según prueba *a posteriori* de Fisher (ajustado) al comparar frecuencia de infección por *Trypanosoma cruzi* entre especies de roedor.

Especie	<i>A. bennetti</i>	<i>A. olivaceus</i>	<i>O. degus</i>	<i>P. darwini</i>	<i>R. rattus</i>
<i>A. bennetti</i>					
<i>A. olivaceus</i>	1,000				
<i>O. degus</i>	0,822	0,822			
<i>P. darwini</i>	1,000	1,000	0,105		
<i>R. rattus</i>	1,000	0,822	0,105	1,000	

TABLA S3. Valores de p según prueba *a posteriori* de Dunn al comparar carga parasitaria en roedores entre localidades y dentro de año. G= Gualliguaica; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso. Se rechaza Ho con alfa/2 (alfa=0,05). KW= 0,001 (2016) KW=0,003 (2017).

Año	Localidad	2016			2017			
		C	R	Tu	G	M	VH	Q
2016	C							
	R	0,001						
	Tu	0,001	0,140					
2017	G							
	M				0,034			
	VH				0,097	0,008		
	Q				0,485	0,001	0,073	

TABLA S4. Valores de p según prueba *a posteriori* de Dunn al comparar carga parasitaria entre especies de roedores. Se rechaza Ho con alfa/2 (alfa=0,05).

Especie	<i>A. bennetti</i>	<i>A. olivaceus</i>	<i>O. degus</i>	<i>P. darwini</i>	<i>R. rattus</i>
<i>A. bennetti</i>					
<i>A. olivaceus</i>	0,114				
<i>O. degus</i>	0,059	0,258			
<i>P. darwini</i>	0,0238	0,105	0,448		
<i>R. rattus</i>	0,244	0,108	0,047	<0,001	

TABLA S5. Valores de p según prueba *a posteriori* de Fisher (ajustado) al comparar frecuencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en triatominos, entre localidades y dentro de año. G= Gualliguaica; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; Tr= Tranquilla; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso.

Año	Localidad	2016				2017			
		C	R	Tr	Tu	G	M	VH	Q
2016	C								
	R	0,004							
	Tr	0,011	0,330						
	Tu	1,000	<0,0001	<0,0001					
2017	G								
	M					0,686			
	VH					1,000	0,686		
	Q					0,686	0,512	0,686	

TABLA S6. Valores de p según prueba *a posteriori* de Dunn al comparar carga parasitaria en triatominos entre localidades dentro de año. G= Gualliguaica; C= Cochiguaz; R= Rinconada; Tu= Tulahuén; M= Matancilla; Tr= Tranquilla; Q= Quelén; VH= Valle Hermoso. Se rechaza Ho con alfa/2 (alfa=0,05). KW=0,018 (2016) KW=0,011 (2017).

Año	Localidad	2016				2017			
		C	R	Tr	Tu	G	M	VH	Q
2016	C								
	R	0,001							
	Tr	0,011	0,051						
	Tu	0,020	0,033	0,036					
2017	G								
	M					0,003			
	VH					0,001	0,331		
	Q					0,016	0,198	0,093	

TABLA S7. Número de roedores capturados según especie y localidad.

Especie/Localidad	G	C	R	Tu	M	Tr	Q	VH
<i>A. bennetti</i>	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>A. olivaceus</i>	0	0	5	0	1	0	0	0
<i>O. degus</i>	0	0	0	0	7	0	0	0
<i>P. darwini</i>	2	25	12	1	16	1	1	2
<i>R. rattus</i>	6	6	0	3	0	0	46	0
Abundancia relativa Pd en %	25	80	70	20	70	100	2	100

