



VCH-FC.  
Biotecnología  
022  
C.1



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE CIENCIAS - ESCUELA DE PREGRADO

## **EFFECTO DE LA COMPOSICIÓN DE RESERVORIOS EN EL CICLO SILVESTRE DEL PARÁSITO TRYPANOSOMA CRUZI**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Ingeniero en Biotecnología Molecular

Esteban Javier Oda Moreno

Director de Seminario de Título: Dra. Carezza Botto M.  
Co-Director de Seminario de Título: Dr. Aldo Solari I.

Abril, 2012  
Santiago - Chile



## INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por la Sr. Esteban Javier Oda Moreno

**“Efecto de la composición de reservorios en el ciclo silvestre del parásito  
*Trypanosoma cruzi*”**

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Ingeniero en Biotecnología Molecular.

*Dra. Carezza Botto*  
**Director Seminario de Título**

*Dr. Aldo Solari*  
**Co-Director Seminario de Título**

### Comisión de Evaluación

*Dr. David Véliz*  
**Presidente Comisión**

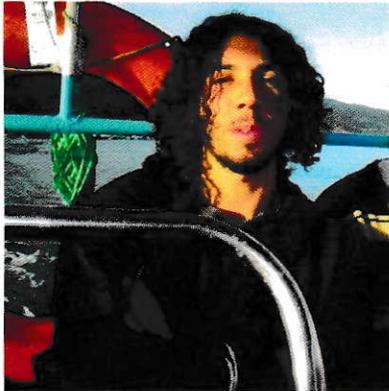
*Dr. Mauricio Canals*  
**Evaluador**

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'A. Solari', written over a horizontal line.



A handwritten signature in black ink, appearing to be 'David Véliz', written over a horizontal line.

## BIOGRAFÍA



Nací en Santiago en el año 1987. Estando en el colegio me di cuenta de que el área biológica era lo que me gustaba y entré a estudiar Ingeniería en Biotecnología Molecular casi sin saber nada de la carrera. En este momento me encuentro interesado en la ecología y conservación, utilizando cada vez más las herramientas moleculares que el programa me enseñó e intentando ser un aporte para que nuestros hijos no necesiten estudiar conservación.

*"A mis seres queridos"*

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco...

A mis tutores Carezza Botto y Aldo Solari.

A mis revisores David Veliz y Mauricio Canals.

A mi papá, mi mamá y mis hermanos.

A mis perros.

A mis amigos.

A la Marissa.

Al laboratorio de Ecología Evolutiva.

A los proyectos FONDECYT 11090086 y FONDECYT 1085154.

A todos los que me ayudaron en terreno.

A la Reserva Nacional Las Chinchillas y sus guardaparques.

A quienes me ayudaron a ser quien soy y a estar donde estoy.

## ÍNDICE

Índice general.....	v
Índice de figuras.....	vii
Índice de tablas.....	viii
Resumen.....	ix
Abstract.....	xi
Introducción.....	1
Objetivos.....	6
Métodos.....	7
Historia natural y área de estudio.....	7
Trampeo de <i>M. spinolai</i> y obtención de muestras de heces.....	9
Trampeo de micromamíferos y obtención de muestras de sangre.....	10
Detección de <i>T. cruzi</i> en muestras de sangre y heces mediante PCR.....	12
Obtención y procesamiento de datos.....	12
Análisis estadísticos.....	13
Resultados.....	15
Colonias de <i>M. spinolai</i> e infección con <i>T. cruzi</i> .....	15
Micromamíferos e infección con <i>T. cruzi</i> .....	16
Sobreposición de colonias de vinchucas y micromamíferos.....	16
Asociaciones a nivel comunitario.....	18
Asociaciones a nivel poblacional.....	20

Discusión.....	23
Asociaciones a nivel comunitario.....	23
Asociaciones a nivel poblacional.....	25
Conclusiones.....	28
Referencias.....	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica del sitio de estudio (Región de Coquimbo, Chile).....	7
Figura 2. Especies de micromamíferos capturados en la Reserva Nacional Las Chinchillas.....	8
Figura 3. Vector silvestre <i>Mepraia spinolai</i> : ninfa V (izquierda) y hembra adulta (derecha).....	9
Figura 4. Fisionomía de la zona de estudio incluyendo afloramiento rocoso, vegetación arbustiva y cactáceas.....	10
Figura 5. Regresión entre el número total de micromamíferos infectados por colonia y el porcentaje de infección en vinchucas estadio I y II.....	19
Figura 6. Regresión entre el número de micromamíferos infectados y el porcentaje de infección en el total de vinchucas.....	19
Figura 7. Regresión entre el porcentaje de hospederos infectados y el porcentaje de infección en el total de vinchucas.....	20
Figura 8. Regresión entre el número total de <i>P. darwini</i> y el porcentaje de infección en ninfas estadio I y II.....	21
Figura 9. Regresión entre el número de <i>P. darwini</i> infectados y el porcentaje de infección en vinchucas estadio I y II.....	21
Figura 10. Regresión entre el número de <i>P. darwini</i> infectados y el porcentaje de infección en el total de vinchucas de cada colonia.....	22

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Número de capturas por colonia, número de insectos infectados y prevalencia de <i>T. cruzi</i> por colonia.....	15
Tabla 2. Número total de micromamíferos capturados por especie, abundancia relativa, número de individuos con muestra de sangre, número de individuos positivos a <i>T. cruzi</i> y prevalencia de la infección por especie.....	16
Tabla 3. Radio de acción de las colonias del vector y hospederos micromamíferos.....	17
Tabla 4. Riqueza de especies, número de micromamíferos en contacto con cada colonia del vector, diversidad de hospederos ( $H'$ ), número de micromamíferos infectados y porcentaje de hospederos infectados por colonia.....	17
Tabla 5. Número de capturas, número de individuos infectados y porcentaje de infección para las dos especies de hospederos más abundantes .....	18
Tabla 6. Resumen de los análisis de regresión para los distintos parámetros comunitarios y niveles de riesgo, diferenciando los estadios I-II, III-IV-V y el total de vectores.....	18
Tabla 7. Resumen de los análisis de regresión para los distintos parámetros poblacionales de <i>P. darwini</i> y niveles de riesgo, diferenciando los estadios I-II, III-IV-V y el total de vectores.....	21
Tabla 8. Resumen de los análisis de regresión para los distintos parámetros poblacionales de <i>O. degus</i> y niveles de riesgo, diferenciando los estadios I-II, III-IV-V y el total de vectores.....	22

## RESUMEN

La dinámica de enfermedades infecciosas es afectada por la diversidad, abundancia y conducta de hospederos, vectores y parásitos. En el ciclo silvestre de transmisión de la enfermedad de Chagas participan mamíferos, vinchucas endémicas del género *Mepraia* y el parásito protozoo *Trypanosoma cruzi*. En vinchucas, la infección con *T. cruzi* es heterogénea espacialmente dependiendo probablemente de las características bióticas del área examinada. En este proyecto se evaluó la relación entre los niveles de infección en poblaciones de *Mepraia spinolai* y el ensamble de hospederos reservorios que sustentan a este vector. Para determinar el porcentaje de infección, se recolectaron y analizaron, mediante PCR, heces del vector y muestras de sangre de micromamíferos hospederos obtenidas en 2010 desde la Reserva Nacional Las Chinchillas (31°30' S; 71°09' W). Paralelamente, se montaron grillas de captura de micromamíferos con el fin de determinar variables comunitarias y poblacionales como diversidad de especies ( $H'$ ), niveles de infección y abundancia de determinadas especies. Con toda esta información, se examinó la asociación entre la prevalencia de *T. cruzi* en *M. spinolai* y los hospederos que sustentan a estas poblaciones de vectores. Los análisis indican que los niveles de infección en el vector se correlacionan con algunas de las variables comunitarias y poblacionales estudiadas del ensamble de hospederos, en particular las del roedor altricial *Phyllotis darwini*. Estas variables son (i) el porcentaje de hospederos infectados, (ii) el número de hospederos infectados, (iii) el número de *P. darwini* infectados y (iv) el número total de individuos de *P. darwini*, ajustándose estos resultados principalmente al modelo denso-dependiente de transmisión de enfermedades infecciosas.

Sin embargo, cuando se analizan separadamente los estadios de desarrollo mayores del vector (III-IV-V), no se detecta ningún patrón concluyente. Estos resultados indicarían una estrecha asociación entre el ciclo de transmisión silvestre de la Enfermedad de Chagas y el ensamble de hospederos reservorios que lo sustentan, siendo un avance en el entendimiento de esta zoonosis para su futuro monitoreo y control.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, *Mepraia spinolai*, *Phyllotis darwini*, *Octodon degus*, *Trypanosoma cruzi*

## ABSTRACT

Infectious diseases dynamics are affected by diversity, abundance and behavior of hosts, vectors, and parasites. In the wild cycle of transmission of Chagas disease participate mammals, endemic kissing bugs of the *Mepraia* genus and the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*. Among kissing bugs, the infection with *T. cruzi* is spatially heterogeneous depending upon the biotic characteristics of the examined area. In this project I examine the relationship between levels of infection in populations of *Mepraia spinolai* and the reservoir host assemblage that sustains this vector. To determine the percentage of infection, I analyzed, using PCR, feces from the vector and blood samples from small mammals, obtained in 2010 from the Reserva Nacional Las Chinchillas (31°30' S; 71°09' W). To this end, I set traps along grids to capture small mammals to quantify levels of infection, and community and population variables such as species diversity and abundance of each host species. With all this information, I examined the association between the prevalence of *T. cruzi* in *M. spinolai* and the hosts that sustain these vector populations. The analyses indicate that the levels of infection in the vector correlate to some of the community and population variables of the host assemblage, in particular those from the altricial rodent *Phyllotis darwini*. These variables are (i) the percentage of infected hosts, (ii) the number of infected hosts, (iii) the number of infected *P. darwini*, and (iv) the total number of *P. darwini*. These results fit to the density dependent model of transmission of infectious diseases. Nevertheless, when I analyze separately the more mature stages of development of the vector (III-IV-V), no conclusive patterns are detected. These results indicate a close association between the wild cycle of

transmission of Chagas disease and the reservoir host assemblage involved in this cycle. This is an advance in the understanding of this zoonosis that can be used in the future to monitoring and control programs of sylvatic Chagas disease.

Key words: Chagas disease, *Mepraia spinolai*, *Phyllotis darwini*, *Octodon degus*, *Trypanosoma cruzi*

## INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Chagas es una de las parasitosis más importantes de Sudamérica, en áreas tropicales y subtropicales del continente hay aproximadamente 200.000 casos nuevos por año (WHO, 2002). En Chile esta enfermedad ha sido detectada en áreas rurales y suburbanas, existiendo aproximadamente 142.000 personas infectadas y más de 1.000.000 en riesgo de infección (OPS/OMS, 2003). El agente responsable es el protozoo *Trypanosoma cruzi*. Este protozoo, un tripanosomátido, posee un ciclo de vida que involucra varias etapas morfológicamente diferentes tales como amastigote, epimastigote, tripomastigote y esferomastigote (Kollien y Schaub, 1997)

El vector responsable de la transmisión al hospedero definitivo es la vinchuca (Hemiptera: Reduviidae), un insecto hematófago que obtiene su alimento principalmente de mamíferos. La infección del hospedero ocurre por la contaminación directa del torrente sanguíneo o de la mucosa con heces u orina de un insecto portador del parásito en su estadio infeccioso, tripomastigote metacíclico (Kollien y Schaub, 1997). El insecto se infecta a su vez cuando ingiere sangre de algún mamífero infectado, una vez dentro del vector, *T. cruzi* se multiplica y diferencia en el tracto digestivo.

En Chile se encuentran presentes tanto el ciclo doméstico como silvestre de la Enfermedad de Chagas. En el primero, participa el vector *Triatoma infestans*, el cual habita en viviendas, principalmente de adobe, asociado a hospederos humanos y animales domésticos y peridomésticos. En este ciclo de transmisión, las vinchucas presentan hábitos nocturnos y atacan a presas diurnas como el humano mientras estos duermen.

Por estas características, *T. infestans* ha sido considerado el vector de *T. cruzi* de mayor importancia epidemiológica en Chile (Schenone *et al.*, 1980; Schofield, 1994). Sin embargo, sus poblaciones han decaído en las últimas dos décadas hasta el punto de considerarse una especie técnicamente erradicada en Chile (Rozas *et al.*, 2005).

En el ciclo silvestre participan vinchucas del género endémico *Mepraia* y distintos mamíferos silvestres como roedores, zorros, conejos y marsupiales. En este caso el vector presenta una actividad diurna y se alimenta principalmente durante el día (Schenone *et al.*, 1980; Apt y Reyes, 1990). *Mepraia spinolai* es uno de las dos especies de triatomos responsables de la transmisión de *T. cruzi* en las zona áridas y semi-áridas de Chile (Lent *et al.*, 1994), generalmente asociado a afloramientos rocosos y alimentándose mayoritariamente de micromamíferos nativos (Canals *et al.*, 1994; Sagua *et al.*, 2000). Recientemente, mediante técnicas moleculares (PCR) se ha encontrado evidencia de infección en un 46,2% de insectos muestreados, provenientes de la zona norte del país (Botto-Mahan *et al.*, 2005a). Sin embargo, los niveles de infección con *T. cruzi* son heterogéneos espacial y temporalmente dependiendo de las condiciones bióticas y abióticas del área de estudio (Órdenes *et al.*, 1996; Botto-Mahan *et al.*, 2010). Evidencia experimental de terreno indica que este insecto cambia su conducta de manera estacional, aumentando su ámbito de hogar en verano, por lo que se ha propuesto que las probabilidades de contacto con los hospederos también aumentan en estos meses y, consecuentemente, crece la probabilidad de transmisión de la enfermedad (Botto-Mahan *et al.*, 2005b). Evidencia experimental de laboratorio indica que la presencia del parásito en el tracto digestivo de *M. spinolai* se asociaba a un aumento en la mortalidad del insecto en sus estadios adultos, una disminución del tamaño corporal y un aumento del

tiempo de muda. Todos los efectos mencionados podrían traducirse en un aumento de la probabilidad de transmisión de *T. cruzi*, al inducir una mayor necesidad de contacto con los hospederos por parte del vector (Botto-Mahan, 2009).

En la última década, se ha descrito una variación en la prevalencia de enfermedades infecciosas dependiente de la biodiversidad (diversidad de especies hospederas) del ecosistema, debido al aumento o disminución de las probabilidades de contacto vector-hospedero (Keesing *et al.*, 2010). Dicho aumento o disminución de las probabilidades de infección depende de las características de cada ecosistema y del comportamiento de las especies que participan en el ciclo de infección de la enfermedad (Ostfeld *et al.*, 2008). Si el aumento en biodiversidad aumenta la probabilidad de contacto entre vector y hospedero y, por consiguiente, la probabilidad de infección, se llama *efecto de amplificación*. Si, por el contrario, la probabilidad es inversamente proporcional al índice de diversidad, se conoce como un *efecto de dilución*, siendo este último efecto el más común (Keesing *et al.*, 2010). Esta relación entre biodiversidad y prevalencia de enfermedades infecciosas abre un nuevo punto de discusión acerca de la importancia de conservar y proteger la biodiversidad en ambientes silvestres, ya que una disminución de la riqueza y abundancia de especies puede provocar un fuerte aumento de la prevalencia de enfermedades infecciosas que pueden ser perjudiciales para las poblaciones animales y, como es el caso de la (Enfermedad) de Chagas, potencialmente peligrosas para el ser humano (Keesing *et al.*, 2010). Sin embargo, se ha propuesto que las características específicas de cada comunidad, como el uso de los hospederos por parte del vector son los que determinan en cada caso la transmisión del parásito, por lo que la diversidad del ecosistema no sería suficiente como indicador de la prevalencia de la enfermedad y, en

este sentido, se ha propuesto incorporar en la evaluación la heterogeneidad de alimentación del vector y cuán competente es el hospedero (Hamer *et al.*, 2011).

Los ciclos de transmisión de enfermedades infecciosas se han caracterizado como denso-dependientes o frecuencia-dependientes (Ostfeld *et al.*, 2008). Un ciclo denso-dependiente se define como aquel que es afectado en su transmisión (lo que se refleja en los niveles de infección) por los cambios de densidad en la comunidad que lo sustentan, mientras que un ciclo frecuencia-dependiente es aquel que se ve afectado por cambios de prevalencia dentro de la comunidad que los sustenta. Las características propias de cada caso de estudio son las que determinan bajo qué modelo se rige el ciclo, por ejemplo, si la probabilidad de contacto vector-hospedero se mantiene constante a pesar de las variaciones en densidad de hospederos, es probable que la enfermedad siga el modelo frecuencia-dependiente.

Una enfermedad infecciosa ampliamente estudiada a nivel mundial es la enfermedad de Lyme, infección causada por la bacteria *Borrelia burgdorferi*, que afecta a distintas especies de mamíferos (entre ellas el ser humano) y es transmitida por varias especies de garrapatas (Ostfeld y Keesing, 2000). Presente mayoritariamente en el hemisferio norte, es el caso más investigado en cuanto al ciclo de transmisión de enfermedades infecciosas y el efecto de los hospederos presentes en cada ecosistema sobre este ciclo (Ostfeld y Keesing, 2000; Giery y Ostfeld, 2007; Keesing *et al.*, 2010). En ésta se ha encontrado un efecto de dilución asociado a la diversidad de hospederos, hospederos reservorios mucho más competentes que otros y especies de hospederos no reservorios que por si solas pueden o no provocar una disminución en la prevalencia de la

enfermedad, siendo en todos estos casos la densidad de individuos la que determina el ciclo de transmisión de la enfermedad (Giery y Ostfeld, 2007; Ostfeld y Keesing, 2000).

El presente estudio se focaliza en el ciclo silvestre de transmisión de *T. cruzi* en una zona hiperendémica de la enfermedad de Chagas en Chile (Reserva Nacional las Chinchillas, Región de Coquimbo), analizando los niveles de infección en nueve colonias del vector *Mepraia spinolai*, así como en los distintos hospederos micromamíferos asociados a estas colonias o focos vectoriales silvestres. Evaluaré si existe un efecto de la diversidad del ensamble de hospederos en el ciclo de transmisión del parásito o si es la composición de este ensamble la que produce un efecto, tomando en cuenta al estudiar la composición si hay denso-dependencia o frecuencia-dependencia de la enfermedad.

La importancia de este estudio es examinar cuáles son los factores que determinan la magnitud y persistencia del ciclo de transmisión de las enfermedades infecciosas, ya que conociendo estos factores se pueden monitorear y controlar adecuadamente y así poder disminuir el nivel de riesgo para la población humana. Si bien al realizar estudios de campo es muy difícil determinar relaciones de causalidad, sí se puede establecer relación entre distintos aspectos como lo es en este caso la composición del ensamble de hospederos y la prevalencia de una infección en el vector.

## OBJETIVOS

### *Objetivo General*

- Determinar el efecto de la diversidad y composición de especies de hospederos en los niveles de infección con *Trypanosoma cruzi* en el vector *Mepraia spinolai*.

### *Objetivos Específicos*

- Capturar vectores *M. spinolai* en nueve colonias de la Reserva Nacional las Chinchillas, Región de Coquimbo.
- Determinar molecularmente los niveles de infección con *T. cruzi* en los ejemplares de *M. spinolai* capturados.
- Capturar micromamíferos hospederos asociados a las colonias mencionadas anteriormente.
- Determinar molecularmente los niveles de infección con *T. cruzi* en los micromamíferos capturados.
- Estimar índices de diversidad de hospederos en las nueve colonias de estudio.
- Examinar la asociación entre niveles de infección con *T. cruzi* e (1) índices de diversidad, (2) densidad de hospederos infectados y sanos de cada especie y (3) frecuencia de individuos infectados y sanos de cada especie.

## MÉTODOS

### *Historia natural y área de estudio*

Este estudio se realizó en la Reserva Nacional Las Chinchillas ( $31^{\circ} 30' S$ ,  $71^{\circ} 06' W$ ; Fig. 1), una zona hiper-endémica de la enfermedad de Chagas en Chile, localizada a ~60 km al este de la costa del Pacífico (Botto-Mahan *et al.*, 2005a, 2010). El clima es de tipo semiárido-mediterráneo, con la mayor cantidad de precipitaciones concentradas entre los meses de junio a agosto. El promedio anual de precipitación es de 185 mm, con una amplia variación entre años, alternando largos períodos de sequía y años de precipitaciones inusualmente abundantes aparentemente asociados a eventos de El Niño (di Castri y Hajek, 1976; Lima y Jaksic, 1999). La vegetación está principalmente representada por especies arbustivas y cactáceas (Medel *et al.*, 2004).

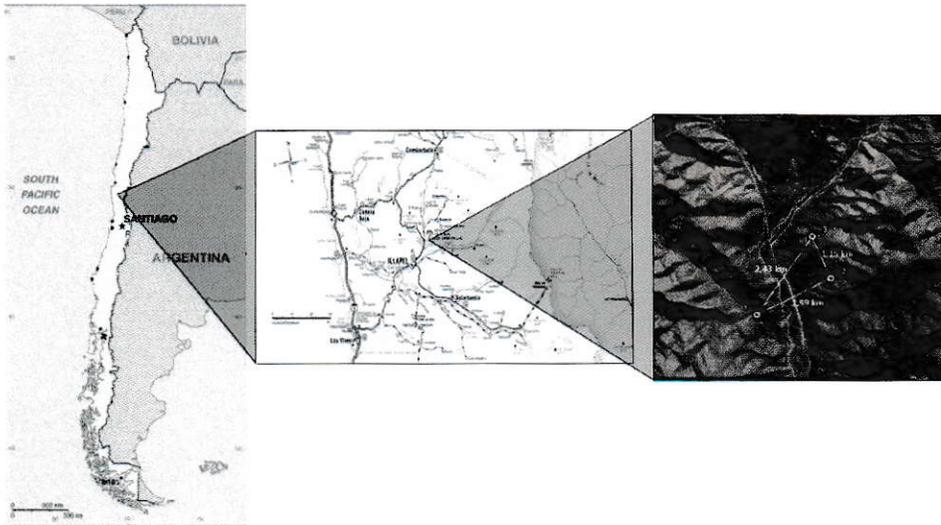


Figura 1. Ubicación geográfica del sitio de estudio (Región de Coquimbo, Chile).

Varias especies de mamíferos habitan la Reserva, representados en su mayoría por los roedores *Phyllotis darwini* (Cricetidae), *Octodon degus* (Octodontidae), *Abrothrix sp.* (Cricetidae), *Abrocoma bennetti* (Abrocomidae), *Oligorysomys longicaudatus* (Cricetidae), y el marsupial *Thylamys elegans* (Didelphidae) (Fig. 2). En estas especies los niveles de infección con *T. cruzi* varían entre un 46% y 71% (Rozas *et al.*, 2007), habiendo fluctuación temporal debido probablemente a variaciones climáticas (Botto-Mahan *et al.*, 2010). La vinchuca silvestre *M.borror epraia spinolai* es el vector más importante de la enfermedad de Chagas en la Reserva, pudiendo alcanzar hasta un 46,2% de infección con *T. cruzi* en sus poblaciones (Botto-Mahan *et al.*, 2005a) (Fig. 3). Estas especies muestran una variación estacional en su ámbito de hogar, aumentando de 6,2 m<sup>2</sup> en invierno a 47,2 m<sup>2</sup> en verano. Bajo condiciones cálidas, la máxima distancia promedio que este vector es capaz de desplazarse persiguiendo una potencial presa es 12,1 m (Botto-Mahan *et al.*, 2005b).



Figura 2. Especies de micromamíferos capturados en la Reserva Nacional Las Chinchillas.

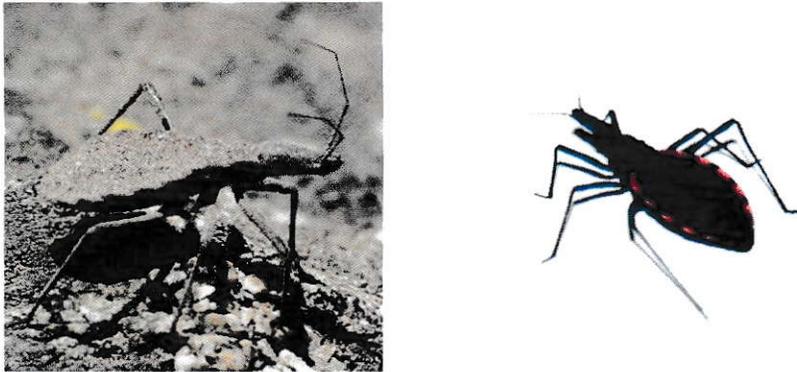


Figura 3. Vector silvestre *M. spinolai*: ninfa V (izquierda) y hembra adulta (derecha).

#### *Trampeo de Mepraia spinolai y obtención de muestras de heces*

Durante el verano de 2010, se georeferenciaron (GARMIN, eTrex Venture HC, precisión:  $\pm 3$  m) y muestrearon nueve poblaciones de *M. spinolai* (colonias, de aquí en adelante). Las colonias estaban localizadas en afloramientos rocosos compuestos por cientos de rocas de tamaño medio a grande expuestas a condiciones cálidas y secas (Temperatura  $\pm$  DE: mínima  $11.4 \pm 1.5^\circ \text{C}$ , máxima  $29.6 \pm 1.8^\circ \text{C}$ , y humedad relativa a las 14:00 h  $45 \pm 7\%$ ; datos para enero de 2010, Centro Meteorológico CONAF-Illapel) (Fig. 4). En cada colonia, una persona entrenada recolectó vinchucas manualmente durante una hora en días soleados entre las 1100 y 1600 h, período de máxima actividad de este insecto (Botto-Mahan *et al.*, 2002). Los individuos capturados fueron clasificados por estadio ninfal y mantenidos en forma individual para evitar contaminación cruzada.

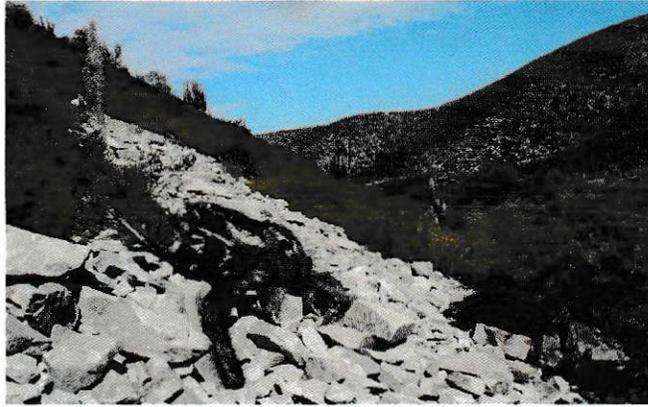


Figura 4. Fisionomía de la zona de estudio incluyendo afloramiento rocoso, vegetación arbustiva y cactáceas.

En el laboratorio, los insectos fueron sacrificados para obtener muestras de contenido intestinal mediante extrusión abdominal (Schenone, 1999). Cada muestra fue mezclada con 200  $\mu\text{L}$  de agua bidestilada, hervida por 10 min, centrifugada a 10.000 g/min y mantenida a  $-20^{\circ}\text{C}$  para el ensayo de PCR. Se utilizaron 5  $\mu\text{L}$  de este extracto como DNA complementario para el e(n)sayo de PCR en 50  $\mu\text{L}$  de volumen final. En general, el contenido intestinal se encontraba libre de sangre fresca, por lo cual no fue necesario realizar extracción de DNA.

#### *Trampeo de micromamíferos y obtención de muestras de sangre*

La captura de micromamíferos se realizó mediante la colocación de 300 trampas de captura viva (jaula colapsable de  $24 \times 8 \times 9$  cm; FORMA: Products and Services, Santiago, Chile) cebadas con avena y provistas de algodón para el eventual resguardo de los animales capturados. Las trampas se etiquetaron y dispusieron en grillas de 100 trampas cada una, cubriendo un área total de 3.39 ha donde las colonias de *M. spinolai*

bajo estudio estaban incluidas. Cada grilla a su vez se dispuso en dos líneas paralelas de 50 trampas georeferenciadas separadas por 10 m una de la otra y entre líneas. La captura se realizó durante cuatro noches entre las 1900 y 0900 h durante el verano de 2010.

Cada animal capturado fue sexado, medido (largo total y largo de la cola) y pesado bajo anestesia de isoflurano a corto plazo (Lee, 2004; Jekl *et al.*, 2011). Siguiendo la recomendación de las 3Rs en la experimentación animal (Russell y Burch, 1992; Goldberg, 2010), sólo en una fracción de los individuos capturados 0,2-1,0 ml de sangre fue extraída mediante (i) punción de la vena safena con aguja 21G en el caso de *O. degus* y *A. bennetti*, (ii) punción de la vena maseterina con aguja 21G para *P. darwini*, y (iii) extracción desde la vena yugular en el caso de *T. elegans* y *A. olivaceus*, utilizando una jeringa de tuberculina con aguja 27G (Morton *et al.*, 1993; Johnson-Delaney, 2006). Cada individuo fue marcado con crotales en ambas orejas con combinaciones únicas de números para su posterior identificación en caso de recaptura y así evitar pseudoreplicación. Luego de la recuperación total de la anestesia cada animal fue liberado en el punto exacto de captura. El procedimiento de extracción de sangre se realizó siguiendo las recomendaciones internacionales para extracción de sangre en mamíferos (Morton *et al.*, 1993; Johnson-Delaney, 2006) y con el permiso del Comité de Ética de la Facultad de Ciencias (Universidad de Chile), Servicio Agrícola y Ganadero resolución N° 7462 (SAG), y Corporación Nacional Forestal resolución N° 61/2010 (CONAF). El DNA genómico fue extraído de las muestras de sangre y guardado a -20° C hasta el momento del análisis (AXYGEN, AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit, California, USA).

### *Detección de T. cruzi en muestras de sangre y heces mediante PCR*

El PCR se realizó siguiendo el protocolo utilizado por Rozas y colegas (2005), utilizando los partidores 121 (5'-AAA TAA TGT ACG G(T/G) GAG ATG CAT GA-3') y 122 (5' GGG TTC GATTGG GGT TGG TGT-3') para amplificar la región de DNA variable presentes en los minicírculos. Cada experimento incluyó un control negativo y un control positivo. Cada muestra fue analizada en triplicado y se consideró como diagnóstico final un resultado que coincidiera al menos dos veces. El producto del PCR se analizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% y visualizado por tinción con bromuro de etidio, con un producto de 330 pb como indicativo de resultado positivo.

### *Obtención y procesamiento de datos*

Con el fin de establecer la interacción entre las especies hospederas y las colonias del vector, se utilizó un procedimiento de tres pasos. Primero, se utilizó la máxima distancia promedio que *M. spinolai* es capaz de recorrer en verano (Botto-Mahan *et al.*, 2005b) como el potencial radio de acción del insecto alrededor de cada colonia. En segundo lugar, para cada especie de micromamífero se calculó un ámbito de hogar promedio obtenido de aquellos individuos que fueron capturados al menos dos veces. Este procedimiento se realizó usando los programas Biotas y ArcGis 9.2 (con un buffer de 5 m). En tercer lugar, se ubicó espacialmente para cada día de trampeo los radios de acción de las colonias de vinchucas y las capturas de micromamíferos considerando los ámbitos de hogar específicos para cada especie. Todos los hospederos capturados cuyos ámbitos

de hogar se sobrepusieran con el radio de acción de alguna colonia de vinchucas se consideraron como potenciales fuentes de alimento para esa colonia específica. Los individuos recapturados dentro del radio de acción de una colonia no fueron considerados nuevamente para evitar una sobre-estimación de la abundancia de esa especie.

### *Análisis estadísticos*

Se realizaron análisis a nivel comunitario y poblacional para establecer la asociación entre hospederos reservorios y el nivel de riesgo de infección, este último medido como el porcentaje de infección con *T. cruzi* en cada colonia de *M. spinolai*. El riesgo de infección se analizó considerando (i) estadíos I-II, (ii) estadíos III-IV-V y (iii) todos los estadíos sumados incluyendo adultos. Se considera esta diferencia debido a la mortalidad diferencial que presentan los primeros estadíos del desarrollo respecto a los más avanzados (Botto-Mahan, 2009). Tanto el porcentaje de infección en las colonias y total en los hospederos asociados a las colonias fueron comparados por tests de chi-cuadrado (Sokal y Rohlf, 1995).

Para el análisis a nivel comunitario, se realizaron análisis de regresión utilizando la diversidad ( $H'$ ), la abundancia de micromamíferos (total e infectados) y el porcentaje de mamíferos infectados como variables predictoras y riesgo de infección como variable respuesta. La diversidad de mamíferos se estimó como el índice de Shannon  $H'$  (Gotelli y Colwell, 2001),

$$H' = \sum_{i=1}^S (p_i \ln p_i)$$

donde  $S$  es el número total de especies y  $p_i$  es la frecuencia de las  $i$  especies.

Para los análisis a nivel poblacional se realizaron análisis de regresión incluyendo la abundancia (total y sólo infectados) de las dos especies de micromamíferos más abundantes, el roedor nocturno *P. darwini* y el roedor diurno de hábito social *O. degus*. Comparaciones específicas de los niveles de infección con *T. cruzi* para estas dos especies de micromamíferos se realizaron con test de chi-cuadrado (Sokal y Rohlf, 1995).

Finalmente, se realizó un análisis de regresión múltiple con el número de *P. darwini*, *O. degus* y *A. olivaceus* infectados como variables independientes y la prevalencia de *T. cruzi* en *M. spinolai* como variable dependiente (Sokal y Rohlf, 1995).

## RESULTADOS

### *Colonias de M. spinolai e infección con T. cruzi*

En cada una de las nueve colonias se capturaron individuos de *M. spinolai* que emergían a la superficie atraídos por la presencia humana. Los resultados de este esfuerzo de muestreo así como la prevalencia del protozoo detectada por PCR se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Número de capturas por colonia (en paréntesis el número de ninfas I-II), número de insectos infectados (en paréntesis el número de ninfas I-II infectadas) y prevalencia de *T. cruzi* por colonia.

Colonia	Número de capturas	Número infectados	Porcentaje de infección
V1	27 (17)	3 (2)	11,11
V2	41 (15)	15 (5)	36,59
V3	70 (40)	37 (30)	52,86
V4	38 (27)	17 (13)	44,74
V5	39 (26)	22 (18)	56,41
V6	22 (17)	12 (11)	54,55
V7	55 (20)	26 (19)	47,27
V8	51 (38)	38 (32)	74,51
V9	76 (63)	50 (46)	65,79

Los análisis estadísticos indican que existen diferencias significativas en los niveles de infección de las colonias de vinchucas en estudio ( $\chi^2 = 39,8$ , g.l. = 8,  $p < 0.001$ ).

### *Micromamíferos e infección con T. cruzi*

Se capturaron un total de 457 micromamíferos pertenecientes a seis especies, y sólo en aquellos individuos que presentaban un peso  $\geq 20$  g se extrajo muestra de sangre para los análisis moleculares. La descripción de esta información se resume en la Tabla 2.

Tabla 2. Número total de micromamíferos capturados por especie, abundancia relativa, número de individuos con muestra de sangre, número de individuos positivos a *T. cruzi* y prevalencia de la infección por especie.

Especie	Capturas	Abundancia relativa	Individuos muestreados	Infectados	Porcentaje de infección
<i>Phyllotis darwini</i>	212	0,46	103	63	61,17
<i>Octodon degus</i>	184	0,40	98	69	70,41
<i>Abrothrix olivaceus</i>	41	0,09	32	20	62,50
<i>Abrocoma bennetti</i>	11	0,02	7	3	42,86
<i>Thylamys elegans</i>	8	0,02	1	1	-
<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	1	0,01	0	0	-
Total	457	1,00	241	156	64,73

### *Sobreposición de colonias de vinchucas y micromamíferos*

Los radios de acción de las colonias de vinchucas y los radios correspondientes a los ámbitos de hogar de cada una de las cinco especies de micromamíferos considerados en este estudio se presentan en la Tabla 3.

De esta forma, considerando estos radios y la posición geográfica de cada colonia de *M. spinolai* y micromamíferos capturados se obtuvo el número de micromamíferos en sobreposición (Tabla 4).

Tabla 3. Radio de acción de las colonias del vector y hospederos micromamíferos. N representa el número de réplicas utilizada para los cálculos y para el vector corresponde al número de colonias en el estudio de Botto-Mahan y colegas (2005b).

Especie	Radio (m)	N
Vector		
<i>Mepraia spinolai</i>	12,13	9
Hospederos		
<i>Phyllotis darwini</i>	13,73	53
<i>Octodon degus</i>	10,79	62
<i>Abrothix olivaceus</i>	12,22	31
<i>Thylamys elegans</i>	13,00	4
<i>Abrocoma bennetti</i>	13,87	1

Tabla 4. Riqueza de especies, número de micromamíferos en contacto con cada colonia del vector, diversidad de hospederos ( $H'$ ), número de micromamíferos infectados y porcentaje de hospederos infectados por colonia.

Colonia	Riqueza	Mamíferos asociados	Diversidad ( $H'$ )	Mamíferos asociados infectados	Porcentaje total de infección
V1	3	10	0,898	3	42,86
V2	3	12	0,888	5	62,50
V3	3	7	0,796	4	66,67
V4	3	22	0,837	6	50,00
V5	3	18	1,011	7	70,00
V6	5	33	1,194	8	61,54
V7	3	21	0,668	7	53,85
V8	2	22	0,625	9	64,29
V9	2	14	0,520	8	72,73

Los análisis estadísticos indican que no existen diferencias significativas en los niveles de infección del total de mamíferos asociados a las colonias de vinchucas ( $\chi^2 = 2,97$ , g.l. = 8,  $p = 0,936$ ). Para los análisis a nivel poblacional se utilizaron las dos especies más abundantes (*O. degus* y *P. darwini*; Tabla 5).

Tabla 5. Número de capturas, número de individuos infectados y porcentaje de infección para las dos especies de hospederos más abundantes.

Colonia	<i>Octodon degus</i>			<i>Phyllotis darwini</i>		
	Número	Porcentaje infectados	infectados	Número infectados	Porcentaje infectados	infectados
V1	3	1	50	6	2	50
V2	7	3	50	4	1	100
V3	1	0	0	5	3	75
V4	12	4	67	9	2	40
V5	6	2	67	9	4	67
V6	17	3	75	9	2	67
V7	4	1	50	16	5	50
V8	7	3	75	15	6	60
V9	3	3	100	11	5	63

#### *Asociaciones a nivel comunitario*

Los análisis de regresión no muestran una asociación estadísticamente significativa al utilizar el índice de diversidad ( $H'$ ) y el número total de micromamíferos como variables predictoras (Tabla 6).

Tabla 6. Resumen de los análisis de regresión ( $R^2$  y  $p$ ) para los distintos parámetros comunitarios y niveles de riesgo, diferenciando los estadios I-II, III-IV-V y el total de vectores.

Variable	I-II		III-IV-V		TOTAL	
	$R^2$	$p$	$R^2$	$p$	$R^2$	$p$
Diversidad ( $H'$ )	0,150	0,304	0,003	0,885	0,117	0,367
Nº total hospederos	0,114	0,375	0,017	0,740	0,141	0,320
Nº total hospederos infectados	0,477	<b>0,039</b>	0,222	0,200	0,706	<b>0,005</b>
Porcentaje total hospederos infectados	0,304	0,124	0,356	0,090	0,602	<b>0,014</b>

Sin embargo, el número total de micromamíferos infectados, si es un buen predictor de la prevalencia en vectores estadios I-II y en el total de vectores en una colonia (Figuras 5 y

6).

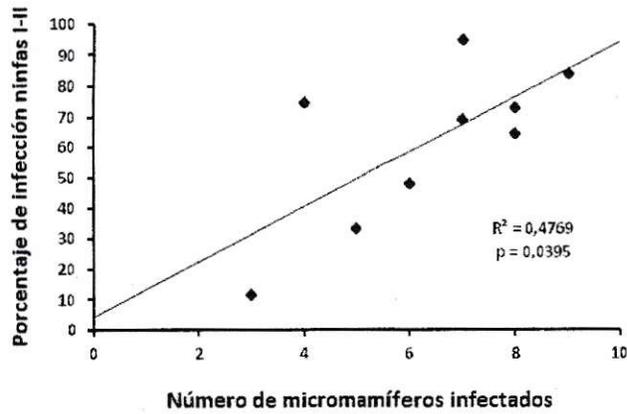


Figura 5. Regresión entre el número total de micromamíferos infectados por colonia y el porcentaje de infección en vinchucas estadio I y II. Cada rombo representa una colonia.

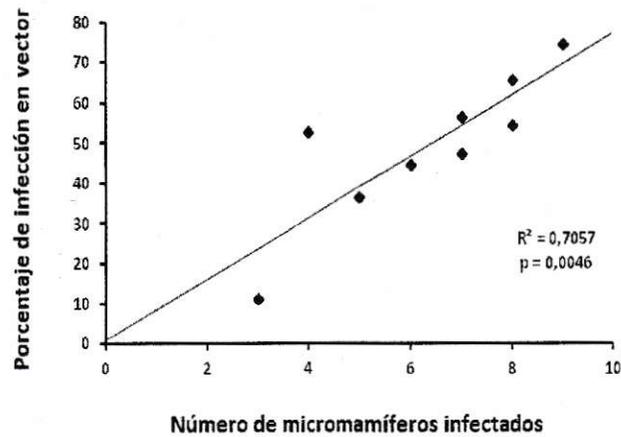


Figura 6. Regresión entre el número de micromamíferos infectados y el porcentaje de infección en el total de vinchucas. Cada rombo corresponde a una colonia.

El porcentaje de micromamíferos infectados también entrega resultados estadísticamente significativos al ser utilizado como variable predictora, pero sólo al hacer la comparación con el porcentaje de infección en la totalidad de los vectores de cada colonia (Figura 7).

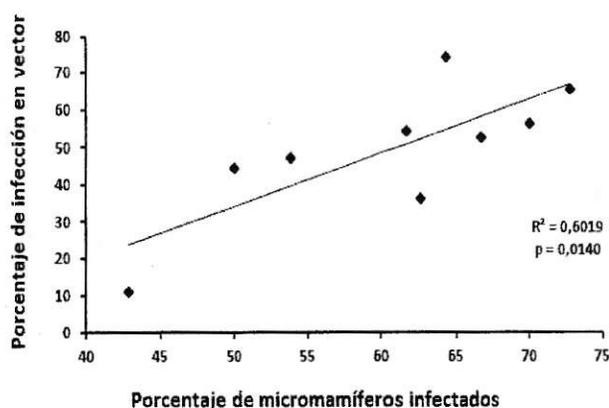


Figura 7. Regresión entre el porcentaje de hospederos infectados y el porcentaje de infección en el total de vinchucas.

El resultado del análisis de regresión múltiple utilizando el número de *A. olivaceus*, *O. degus* y *P. darwini* infectados como variables predictoras y el número total de vectores infectados por colonia fue marginalmente significativo ( $F_{3,5} = 4,18$ ;  $R^2 = 0,71$ ;  $p = 0,079$ ), con valores de  $\beta$ :  $0,32 \pm 0,24$  (*A. olivaceus*),  $0,42 \pm 0,24$  (*O. degus*) y  $0,79 \pm 0,24$  (*P. darwini*).

#### *Asociaciones a nivel poblacional*

Los análisis de regresión para el roedor *P. darwini* arrojaron resultados estadísticamente significativos al considerar el número total de individuos de esta especie comparado con la prevalencia del parásito en vectores en estadíos I y II (Tabla 7, Figura 8), así como al

considerar el número de roedores infectados y el total de vectores y aquellos de estadio I y II (Figuras 9 y 10).

Tabla 7. Resumen de los análisis de regresión ( $R^2$  y  $p$ ) para los distintos parámetros poblacionales de *P. darwini* y niveles de riesgo, diferenciando los estadios I-II, III-IV-V y el total de vectores.

Variable	I-II		III-IV-V		TOTAL	
	$R^2$	$p$	$R^2$	$p$	$R^2$	$p$
Nº total <i>P. darwini</i>	0,525	<b>0,027</b>	0,001	0,862	0,306	0,098
Nº <i>P. darwini</i> infectados	0,605	<b>0,014</b>	0,008	0,816	0,480	<b>0,039</b>
Abundancia relativa <i>P. darwini</i>	0,229	0,170	0,105	0,408	0,064	0,546
Porcentaje <i>P. darwini</i> infectados	0,011	0,768	0,277	0,139	0,005	0,801

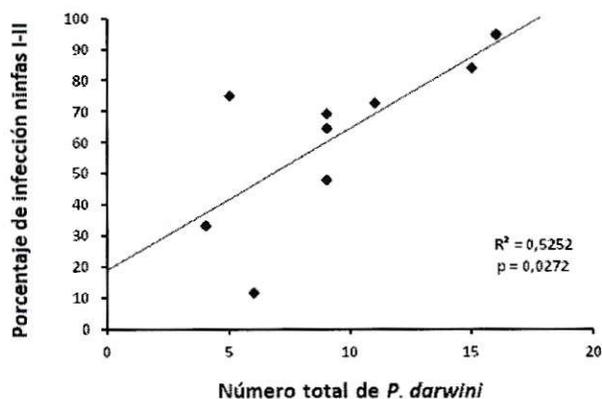


Figura 8. Regresión entre el número total de *P. darwini* y el porcentaje de infección en ninfas estadio I y II.

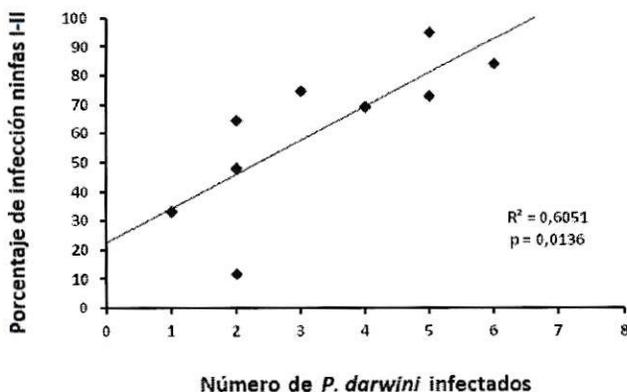


Figura 9. Regresión entre el número de *P. darwini* infectados y el porcentaje de infección en vinchucas estadio I y II.

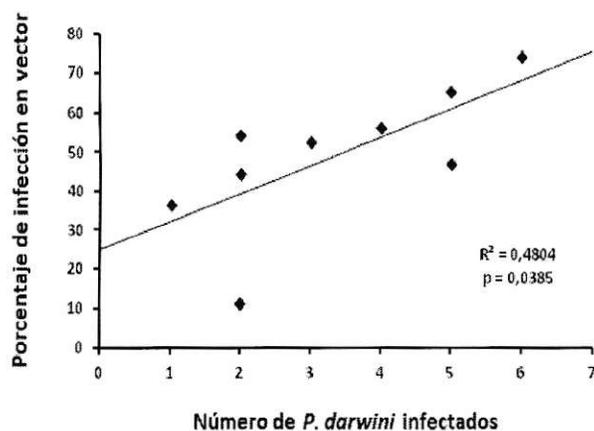


Figura 10. Regresión entre el número de *P. darwini* infectados y el porcentaje de infección en el total de vinchucas de cada colonia.

Resultados de los análisis de regresión en los que se consideró la especie de roedor *O. degus* no entregaron resultados estadísticamente significativos para ninguna de sus variables poblacionales predictoras (Tabla 8).

Tabla 8. Resumen de los análisis de regresión ( $R^2$  y  $p$ ) para los distintos parámetros poblacionales de *O. degus* y niveles de riesgo, diferenciando los estadios I-II, III-IV-V y el total de vectores.

Variable	I-II		III-IV-V		TOTAL	
	$R^2$	$p$	$R^2$	$p$	$R^2$	$p$
Nº total <i>O. degus</i>	0,005	0,836	0,054	0,590	0,017	0,767
Nº <i>O. degus</i> infectados	0,011	0,798	0,408	0,064	0,095	0,441
Abundancia relativa <i>O. degus</i>	0,243	0,154	0,224	0,176	0,039	0,655
Porcentaje <i>O. degus</i> infectados	0,006	0,794	0,137	0,342	0,132	0,354

## DISCUSIÓN

Este estudio permitió examinar el efecto de la diversidad y composición de especies de hospederos en los niveles de infección con *T. cruzi* en el vector *M. spinolai*, considerando distintas variables comunitarias y poblacionales. Se detectaron asociaciones que reflejan la naturaleza del ciclo silvestre de transmisión del parásito *T. cruzi* en zonas semiáridas.

### *Asociaciones a nivel comunitario*

Los resultados muestran que no existe una influencia directa de la diversidad de hospederos (*H*) sobre la prevalencia de la enfermedad, sino que existe una relación entre la composición de estos hospederos reservorios y el ciclo de transmisión del parásito, lo que se ve reflejado en la prevalencia del parásito en sus poblaciones. Cuando se utiliza la diversidad como variable predictora, se observa sólo una tendencia a disminuir los niveles de infección en el vector a medida que esta diversidad aumenta, lo que probablemente es un reflejo de la disminución de la probabilidad de contacto entre el vector *M. spinolai* y la o las especies de hospederos reservorios más competentes. En este caso, evidencia de estudios anteriores indica que *P. darwini* sería el mayor sustento alimenticio de las poblaciones del vector (E. Oda, datos no publicados; Rengifo, 2000) y por lo tanto, probablemente, un factor de vital importancia en el ciclo de transmisión del parásito, por lo que la disminución de la densidad de este hospedero cuando aumenta la diversidad del lugar podría ser lo que efectivamente esté produciendo el efecto sobre la prevalencia de *T. cruzi*.

Los resultados obtenidos concuerdan con estudios previos, en los que se ha propuesto una relación entre la composición del ensamble de hospederos y la prevalencia de enfermedades infecciosas en vectores (Hamer *et al.*, 2011), siendo crucial en esta relación la cantidad proporcional de alimento que obtenga el vector de cada especie de hospedero y la competencia como reservorio de cada una de estas especies. La diversidad también ha sido asociada con anterioridad al ciclo de transmisión de enfermedades infecciosas, encontrándose generalmente un efecto de dilución producto de la disminución de la probabilidad de contacto entre el vector y las especies de hospederos reservorios (Ostfeld *et al.*, 2008; Keesing *et al.* 2010). Sin embargo, este efecto de la diversidad no se observa de manera concluyente en este estudio.

Por otro lado, se encontraron asociaciones cuando utilizamos el número o porcentaje de micromamíferos infectados como variable predictora y la prevalencia del parásito en el vector, siendo el primero de estos análisis el que mejor ajuste presenta de todos los realizados. Este resultado es el reflejo del efecto inmediato que tiene un ensamble de hospederos parasitados sobre los vectores que se alimentan de ellos. Sin embargo, cuando se analizan separadamente los estadios de desarrollo mayores del vector (III-IV-V), no se encuentran asociaciones en ninguno de los análisis mencionados anteriormente. Esto podría deberse a la mayor capacidad de dispersión de estos individuos y a la incidencia diferencial de la enfermedad en la mortalidad de los individuos a medida que avanzan de estadio (C. Botto-Mahan, datos no publicados; Botto-Mahan, 2009).

### *Asociaciones a nivel poblacional*

Cuando se analiza la composición de hospederos a nivel poblacional, se detecta que el roedor *P. darwini* presenta una asociación positiva al considerar la densidad de individuos y los niveles de riesgo como variables. Tanto al utilizar el número total de individuos, como el número de infectados. La asociación tan estrecha entre este hospedero y el vector podría deberse a varias características de esta especie, como lo es su hábito nocturno (Muñoz y Yáñez, 2000), lo que permitiría que durante el día, momento en que la vinchuca se encuentra activa (Schenone *et al.*, 1980; Apt y Reyes, 1990) y el roedor en reposo, se torne una presa fácil para este insecto hematófago. Segundo, al ser una especie altricial, es decir una especie cuyas crías nacen muy poco desarrolladas, siendo ciegas, prácticamente sordas, careciendo de pelaje y teniendo casi nula movilidad durante los primeros días de vida, provoca que éstas sean especialmente vulnerables al momento de nacer, convirtiéndose en la presa ideal para *M. spinolai* y muy susceptibles a la infección con *T. cruzi*. Por último, otro aspecto a considerar es la longevidad de este roedor, concordante con la de *M. spinolai* (Canals *et al.*, 1998; Crespín y Lima, 2006), lo que podría evitar un efecto de acumulación en los niveles de infección del roedor y, por lo tanto, permitiría observar una asociación directa y robusta. Es interesante mencionar que en este caso el efecto se presenta cuando analizamos la densidad de roedores (total y sólo de infectados) y no su frecuencia, por lo que se puede suponer que el ciclo silvestre de esta enfermedad se ajusta a un modelo de transmisión denso-dependiente descrito con anterioridad en la literatura en relación a otras

enfermedades infecciosas transmitidas por vectores (Ostfeld *et al.*, 2008; Hamer *et al.*, 2011; Salkeld y Lane, 2010).

La otra especie hospedera más abundante en la Reserva, *Octodon degus*, no muestra asociación en ninguno de los análisis realizados, esto puede deberse a que es un roedor más longevo (Botto-Mahan *et al.*, 2012), por lo que podría haber un efecto de acumulación de la enfermedad. También su carácter diurno y precocial (sus crías nacen desarrolladas) podría evitar en gran parte la infección con *T. cruzi*, no pudiendo observarse una concordancia entre los niveles de infección de este hospedero reservorio y el vector en un momento determinado. Al igual que en el análisis a nivel comunitario, en este caso cuando se consideran por separado los estadios de desarrollo mayores del vector como variables, no se encuentra asociación alguna, tanto en el caso de *O. degus* como en el de *P. darwini*.

Por otra parte, el bajo tamaño muestral de las otras cuatro especies de micromamíferos capturados en el sitio de estudio no permite realizar los análisis poblacionales específicos, aunque por su baja abundancia natural en el sistema (10% del total de capturas), es probable que no influyan mayormente en el ciclo de transmisión del parásito.

La transmisión vertical del parásito, ya sea vía placentaria o por lactancia, es un fenómeno que se ha descrito en distintas especies de mamíferos, pero que en el caso de los hospederos silvestres considerados en este estudio, se desconoce completamente su incidencia (Ferreira *et al.*, 2001; Solana *et al.*, 2002; Moreno *et al.*, 2010). Podría ser un aspecto de importancia en el ciclo silvestre de transmisión de la enfermedad, aumentando

los niveles de infección, pero es necesario hacer estudios específicos para dilucidar este aspecto.

En resumen, los resultados muestran un efecto de la composición de hospederos reservorios sobre el ciclo silvestre de transmisión del parásito *T. cruzi*, lo que se refleja en la prevalencia de la enfermedad en el vector *M. spinolai*. En lugares en los que hay sobreposición de ámbitos de hogar, los niveles de infección en el vector varían en concordancia con distintas variables comunitarias y poblacionales del ensamble de hospederos. Estas variables, que tienen un efecto claro sobre la prevalencia de *T. cruzi* en el vector, son el porcentaje de hospederos infectados, el número de hospederos infectados, el número de *P. darwini* infectados y el número total de individuos de *P. darwini*.

Estos resultados son un avance en el entendimiento de la variación espacial de la prevalencia de *T. cruzi* en su ciclo silvestre, ya que se establece una relación directa entre la transmisión de la enfermedad y la composición del ensamble de hospederos que sustentan el ciclo a nivel local. Este efecto no se había descrito con anterioridad para la Enfermedad de Chagas y puede significar un aporte en el monitoreo y control de la enfermedad. Si bien la incidencia del ciclo silvestre de esta enfermedad en el contagio a la población humana se ha estimado históricamente como baja, este adquiere mayor importancia relativa al erradicarse la vinchuca doméstica y al haber cada vez más seres humanos habitando zonas rurales en las que abunda el vector silvestre, producto de un cambio permanente del uso del suelo. Futuras investigaciones en este tema deberían apuntar a evaluar la persistencia temporal del patrón detectado y ampliar la escala espacial de análisis a nivel regional.

## CONCLUSIONES

- Los niveles de infección en el ensamble de hospederos reservorios tienen un efecto directo sobre la prevalencia de la enfermedad en las colonias de vinchucas que sustentan.
- No se encuentra un efecto de la diversidad de especies hospederas sobre el ciclo silvestre de transmisión de *T. cruzi*.
- Las distintas especies de micromamíferos no tienen la misma incidencia en el ciclo de transmisión del parásito. La abundancia del roedor *P. darwini* - total y sólo infectados - sería determinante en el ciclo de transmisión de la enfermedad, mientras que el roedor *O. degus* no muestra un efecto significativo.
- Al analizar de forma separada los estadios de desarrollo mayores del vector (III-IV-V), no se encuentran asociaciones en ninguno de los análisis. Posiblemente debido a su mayor capacidad de dispersión y a la incidencia diferencial de la enfermedad en la mortalidad de los individuos a medida que avanzan de estadio.
- Las variaciones en la prevalencia de la enfermedad se ajustan al modelo densidad-dependiente de transmisión de enfermedades infecciosas.

## REFERENCIAS

- Apt, W. & Reyes, H. 1990. Algunos aspectos de la Enfermedad de Chagas en Latinoamérica. *Parasitología al día* **14**: 23–40.
- Botto-Mahan, C. 2009. *Trypanosoma cruzi* induces life-history trait changes in the wild kissing bug *Mepraia spinolai*: implications for parasite transmission. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **9**: 505–510.
- Botto-Mahan, C., Cattán, P. & Canals, M. 2002. Field tests of carbon dioxide and conspecifics as baits for *Mepraia spinolai*, vector of Chagas disease. *Acta Tropica* **82**: 377–380.
- Botto-Mahan, C., Ortiz, S., Rozas, M. & Cattán, P. 2005a. DNA evidence of *Trypanosoma cruzi* in the Chilean wild vector *Mepraia spinolai* (Hemiptera: Reduviidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **100**: 237–239.
- Botto-Mahan, C., Cattán, P.E., Canals, M. & Acuña, M. 2005b. Seasonal variation in the home range and host availability of the blood-sucking insect *Mepraia spinolai* in wild environment. *Acta Tropica* **95**: 160–163.
- Botto-Mahan, C., Campos, R., Acuña-Retamar, M. & Coronado, X. 2010. Temporal variation of *Trypanosoma cruzi* infection in native mammals in Chile. *Vector-borne and Zoonotic Diseases* **10**: 317–319.
- Botto-Mahan, C., Bacigalupo, A., Correa, J., Oda, E. & Solari, A. 2012. Field assessment of *Trypanosoma cruzi* infection and host survival in the native rodent *Octodon degus*. *Acta Tropica* **121**: 164–167.
- Canals, M., Cattán, P. & Ehrenfeld, M. 1994. Sobrevivencia de *Triatoma spinolai* en ambiente habitacional. *Parasitología al Día* **18**: 82–87.
- Canals, M., Ehrenfeld M., Solis R., Cruzat L., Pinochet A., Tapia C. & Cattán P. 1998. Biología comparada de *Mepraia spinolai* en condiciones de laboratorio y terreno: cinco años de estudio. *Parasitología al Día* **22**: 72–78.
- Crespin, L. & Lima, M. 2006. Supervivencia adulta y dinámica poblacional del lauchón orejudo *Phyllotis darwini* en Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural* **79**: 295–308.
- di Castri, F. & Hajek, E.R. 1976. *Bioclimatología de Chile*. Ediciones de la Universidad Católica de Chile, Santiago.
- Ferreira, C.S., Martinho, P.C., Amato Neto, V. & Cruz, R.R.B. 2001. Pasteurization of

human milk to prevent transmission of Chagas disease. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* **43**: 161–162.

Giery, S. & Ostfeld, R. 2007. The role of lizards in the ecology of Lyme Disease in two endemic zones of the northeastern United States. *Journal of Parasitology* **93**: 511–517.

Goldberg, A.M. 2010. The principles of humane experimental technique: is it relevant today? *ALTEX* **27**: 25–27.

Gotelli, N. & Colwell, R. 2001. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters* **4**: 379–391

Hamer, G., Chaves, L., Anderson, T., Kitron, U., Brawn, J., Ruiz, M., Loss, S., Walker, E. & Goldberg, T. 2011. Fine-scale variation in vector host use and force of infection drive localized patterns of West Nile Virus transmission. *PLoS ONE* **6**: e23767.

Jekl, V., Hauptman, K. & Knotek, Z. 2011. Diseases in pet degus: a retrospective study in 300 animals. *Journal of Small Animal Practice* **52**: 107–112.

Johnson-Delaney, C.A. 2006. Common procedures in hedgehogs, prairie dogs, exotic rodents and companion marsupials. *Veterinary Clinics of Exotic Animals* **9**: 415–435.

Kollien, A. & Schaub, G. 1997. *Trypanosoma cruzi* in the rectum of the bug *Triatoma infestans*: effects of blood ingestion of the vector and artificial diuresis. *Parasitology Research* **83**: 781–788.

Keesing, F., Belden, L., Daszak, P., Dobson, A., DrewHarvell, C., Holt, R., Hudson, P., Jolles, A., Jones, K., Mitchell, C., Myers, S., Bogich, T. & Ostfeld, T. 2010. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature* **468**: 647–652.

Lee, T.M. 2004. *Octodon degus*: A diurnal, social, and long-lived rodent. *ILAR Journal* **45**: 14–24.

Lent H, Jurberg J & Galvas C. 1994. Revalidacao de genero *Mepraia* Mazza, Gajardo and Jorg, 1940 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **89**: 347–352.

Lima, M. & Jaksic, F.M. 1999. El Niño events, precipitation patterns and rodent outbreaks are statistically associated in semiarid Chile. *Ecography* **22**: 213–218.

Medel, R., Vergara, E., Silva, A. & Kalin-Arroyo, M. 2004. Effects of vector behavior and host resistance on mistletoe aggregation. *Ecology* **85**: 120–126.

- Moreno, E.A., Ramírez, M., Alarcón, M.E., Lugo de Yarbuh, A., Villarreal, J., Araujo, S., Mogollón, N., González, A. & Premoli, G. 2010. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in second generation Wistar rats. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* **L**: 29–38.
- Morton, D.B., Abbot, D., Barclay, R. & Close, B.S. 1993. Removal of blood from laboratory mammals and birds. *Laboratory Animals* **27**: 1–22.
- Muñoz, A. & Yáñez, J. 2000. *Mamíferos de Chile*. CEA Ediciones, Santiago.
- OPS/OMS. 2003. XIIª Reunión de la comisión intergubernamental del cono sur para la eliminación de *Triatoma infestans* y la interrupción de la transmisión transfusional de la Tripanosomiasis americana (INCOSUR/Chagas). Santiago, Chile: World Health Organization.
- Órdenes, H., Ehrenfeld, M., Cattán, P. & Canals, M. 1996. Infección tripano-triatomina de *Triatoma spinolai* en una zona de riesgo epidemiológico. *Revista Médica de Chile* **124**: 1053–1057.
- Ostfeld, R. & Keesing, F. 2000. The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. *Canadian Journal of Zoology* **78**: 2061–2078.
- Ostfeld, R.S., Keesing, F. & Eviner, V.T. 2008. *Infectious disease ecology. Effects of ecosystems on disease and of disease on ecosystems*. Princeton: Princeton University.
- Rengifo, A. 2000. Preferencias alimentarias específicas de *Mepraia spinolai* por vertebrados frecuentes en su hábitat. Memoria de Título, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
- Rozas, M., Botto-Mahan, C., Coronado, X., Ortiz, S., Cattán, P. & Solari, A. 2005. Short report: *Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals from a chagasic area of Chile. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **73**: 517–519.
- Rozas, M., Botto-Mahan, C., Coronado, X. & Ortiz, S. 2007. Coexistence of *Trypanosoma cruzi* genotypes in wild and periodomestic mammals in Chile. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **77**: 647–653.
- Russell, W. & Burch, R. 1992. *The Principles of Humane Experimental Technique*. London: Methuen & Co. Special edition published by Universities Federation for Animal Welfare (UFAW).
- Sagua, H., Araya, J., González, J. & Neira, I. 2000. *Mepraia spinolai* in the Southeastern Pacific Ocean Cost (Chile) - First insular record and feeding pattern on the Pan de Azúcar Island. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **95**: 167–170.
- Salked, D. & Lane, R. 2010. Community ecology and disease risk: lizards, squirrels,

- and the Lyme disease spirochete in California, USA. *Ecology* **91**: 293–298.
- Schenone, H. 1999. Xenodiagnosis. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **94**: 289–294.
- Schenone, H., Villarroel, F., Rojas, A. & Alfaro, E. 1980. Factores biológicos y ecológicos en la epidemiología de la enfermedad de Chagas en Chile. *Boletín Chileno de Parasitología* **35**: 42–54.
- Schofield, C.J. 1994. *Triatominae, biología y control*. Eurocommunica Publications. West Sussex, England.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1995. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*. New York: WH Freeman and Co.
- Solana, M.E., Celentano, A.M., Tekiel, V., Jones, M. & González Cappa, S.M., 2002. *Trypanosoma cruzi*: effect of parasite subpopulation on murine pregnancy outcome. *Journal of Parasitology* **88**: 102–106.
- WHO. 2002. Control of Chagas disease. WHO Technical Report Series 905. World Health Organization, Geneva.