

Caracterización ecoepidemiológica de la
transmisión peridoméstica de *Trypanosoma cruzi* en el municipio de Talaigua
Nuevo, Departamento de Bolívar, Costa Caribe Colombiana

Edilson Yamid Garces Quintero

Tesis de pregrado para optar el título de Biólogo

Asesor:

Omar Cantillo Barraza, BsC, MsC

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
Medellín 2012

Tabla de contenido

1	Resumen	7
2	Introducción	8
2.1	Reservorios y Vector	10
2.2	Planteamiento del problema.....	12
3	Objetivo	14
3.1	Objetivo general	14
3.2	Objetivos específicos	14
4	Materiales y métodos	14
4.1	Área de estudio	14
4.2	Trabajo entomológico.....	16
4.2.1	Búsqueda activa en casas que devolvieron los recipientes con triatominos.....	17
4.2.2	Captura de insectos silvestres	17
4.3	Taxonomía	18
4.4	Examen parasitológico de los triatominos recolectados.....	18
4.4.1	Extracción de DNA.....	18
4.4.2	Diagnóstico molecular de <i>T. cruzi</i>	19
4.4.3	Aislamiento de parásitos desde insectos	19
4.4.4	Análisis HRM del gen citocromo B (CytB) para la identificación de fuentes alimenticias usando PCR en tiempo real	20
4.5	Estudios con la población humana.....	21
4.5.1	Diagnóstico serológico en la población humana	21
4.6	Reservorios	22

4.6.1	Estudio con Reservorios Silvestres	22
4.6.2	Toma de muestras de reservorios silvestres y xenodiagnóstico	22
4.6.3	Captura de mamíferos al interior de las viviendas	23
4.6.4	Estudios con Reservorios Domésticos(perros)	23
4.6.5	Encuesta epidemiológica de caninos	24
4.6.6	Diagnóstico serológico de los perros	24
4.6.7	Xenodiagnóstico de Animales Domésticos	24
4.7	Análisis geoespacial.....	25
5	Resultados	26
5.1	Capacitaciones jornadas de sensibilización de la comunidad, para la creación del programa de vigilancia.....	26
5.2	Insectos recolectados por la comunidad	26
5.3	Búsqueda Activa de Triatomínos.....	27
5.4	Insectos entregados por la comunidad.....	28
5.4.1	Infección por <i>T. cruzi</i> en los insectos recolectados en cada comunidad.....	29
5.4.2	Preferencia alimenticia de <i>T. maculata</i> en la zona de estudio	31
5.5	Captura de vectores silvestres	32
5.5.1	Estudio Parasitológico de Insectos Silvestres	32
5.5.2	Aislamiento de parásitos de insectos silvestres	33
5.5.3	Aislamiento de parásitos en triatomínos recolectados por la población al interior de las viviendas	33
5.6	Estudios con la población humana.....	33
5.7	Estudio con reservorios silvestres y peridomésticos	35
5.7.1	Reservorios silvestres	35
5.7.2	Reservorios domésticos	36

5.7.3	Factores de riesgo para la prevalencia de infección en perros de Talaigua Nuevo	38
5.7.4	Relación de la infección en perros con los factores de riesgo.....	41
5.7.5	Xenodiagnóstico a perros positivos de Talaigua Nuevo y sus municipios	42
5.8	Análisis geoespacial.....	43
6	Discusión.....	45
6.1	Insectos entregados por la comunidad.....	46
6.1.1	Preferencia alimenticia de los insectos recolectados	50
6.2	Insectos silvestres	51
6.3	Estudio con la población humana.....	52
6.4	Reservorios	53
6.4.1	Reservorios silvestres y con cercanía a las viviendas	53
6.5	Reservorios domésticos	54
6.6	Análisis geoespacial.....	59
7	Conclusiones.....	61
8	Perspectivas.....	63
9	Agradecimientos.....	64
10	Bibliografía	64
11	Anexos	76

Lista de figuras

Figura 1.	Municipio de Talaigua Nuevo y sus corregimientos.....	15
Figura 2.	Composición poblacional de los insectos recolectados por la comunidad en Talaigua Nuevo y sus corregimientos.....	27
Figura 3.	Búsqueda del ecotopo de <i>T. maculata</i> en Talaigua Nuevo	28
Figura 4.	Número de insectos recolectados por la comunidad	28

Figura 5. Producto de la amplificación por PCR de la región satélite de <i>T. cruzi</i> de muestras de heces de insectos capturados en el interior de las viviendas del Municipio de Talaigua Nuevo.	30
Figura 6. Producto de la amplificación por PCR del kDNA de <i>T. cruzi</i> de muestras de heces de insectos capturados en el interior de las viviendas del Municipio de Talaigua Nuevo.	31
Figura 7. Número de insectos alimentados con diferentes tipos de animal.....	32
Figura 8. Insectos silvestres positivos en la zona de estudio	33
Figura 9. Distribución de niños muestreados por edad	34
Figura 10. Punción cardiaca a mamíferos peridomésticos	35
Figura 11. Producto de la amplificación del DNA satélite de <i>T. cruzi</i> extraído de glándulas odoríferas de zarigüeya.....	36
Figura 12. Seroprevalencia en perros de Talaigua Nuevo y sus corregimientos...	37
Figura 13. Seroprevalencia por barrios en el casco urbano de Talaigua Nuevo. .	37
Figura 14. Distribución de la infección de acuerdo a la edad de los perros.....	38
Figura 15. Frecuencia de perros infectados cuando hay presencia y ausencia de nidos en el peridomicilio.	40
Figura 16. Frecuencia de perros infectados cuando hay ausencia y presencia de palomares en los peridomicilios.....	40
Figura 17. Frecuencia de perros infectados teniendo en cuenta si están o no vacunados	41
Figura 18. Producto de la amplificación del DNA satélite de <i>T. cruzi</i> a partir de heces extraídas de insectos alimentados de perros positivos.	42
Figura 19. Municipio de Talaigua Nuevo (Mompós, Bolívar)	44

Lista de tablas

Tabla 1. Insectos infectados en barrios y corregimientos de Talaigua Nuevo.	29
Tabla 2. Número de personas tamizadas por localidad.....	33
Tabla 3. Valores P y OR para los principales factores de riesgo con un nivel de confianza del 95% de acuerdo a las tablas de contingencia.	39

1 Resumen

Talaigua Nuevo es un municipio ubicado en el departamento de Bolívar, en una región denominada la depresión momposina, que ha sido considerada un área de bajo riesgo para la enfermedad de Chagas. Sin embargo en estudios realizados en la zona reportaron la presencia de tres insectos vectores de la enfermedad: *Rhodnius pallescens*, *Eratyrus cuspidatus* y *Triatoma maculata* todos extradomesticos y con altos índices de infección por *Trypanosoma cruzi*, igualmente se detecto niños menores de 10 años positivos para *T. cruzi*. Debido a este escenario se planteo la necesidad de caracterizar ecoepidemiologicamente la transmisión del parásito en la zona, con el fin de diseñar estrategias de intervención adecuadas para el municipio. Para lograr esto se realizaron capacitaciones a la comunidad acerca de la enfermedad, al final de las charlas se entregó recipientes para la recolección de los insectos triatominos. También se realizó un tamizaje en niños menores de 15 años de las diferentes instituciones educativas del casco urbano y rural del municipio con el fin de detectar la seroprevalencia en esta población. Para la detección de *T. cruzi* en mamíferos se realizó capturas de estos al interior de las viviendas (ratas), animales domésticos (perros) a los dueños de estos se les realizó una encuesta de factores de riesgo y por último se capturo animales silvestres (zarigüeyas).

Como resultado se encontró que el vector que visita con más frecuencia las viviendas del municipio de Talaigua Nuevo es *T. maculata* con índices de infección del 75% al analizar 82 insectos de esta especie, los otros triatominos entregados por la comunidad fueron 3 *R. pallescens* solo uno resultó positivo a *T. cruzi* y un *E. cuspidatus*, el cual se encontró positivo. Además con el análisis HRM de fuentes alimenticias se encontró que la principal fuente de alimento de *T. maculata* son las gallinas, seguida por los perros y en menor medida los humanos. De los vectores del área silvestre capturados 21 (55,2%) correspondieron a la especie *R. pallescens* y 17 (44.7%) a *Eratyrus cuspidatus*, con índices de infección del 62% y 5% respectivamente.

De las 440 muestras analizadas de sueros de niños ninguna resulto positiva por *T. cruzi* a ambas pruebas diagnósticas. Sin embargo de los 164 perros evaluados 18,9% (31/164) resultaron positivos a las pruebas diagnosticas evaluadas, el 25% de los perros positivos tenían menos de 2 años de edad, mostrando infección reciente en los perros del municipio.

El análisis de los factores de riesgo mostró el riesgo de infección de un perro que habita en la zona urbana de Talaigua Nuevo es 3.28 veces el riesgo de infección en la zona rural. La variable Vacunación, resultó asociada con la infección OR =7,29; Chi= 4,58; IC95% ,98-150 P= 0,027. La presencia de Palomares en las viviendas, estuvo también asociada a la infección: OR=11.27; Chi=15.25 ;IC95%2.26 - 62.39 p=0.00009. Estos resultados demuestran que la transmisión de *T. cruzi* se está presentando a nivel del peridomicilio y que los perros en el municipio de Talaigua Nuevo se están comportando como reservorios ya que los resultados arrojados por los xenodiagnosticos realizados sobre los perros positivos mostraron que tiene parásitos circulando en sangre. Con ayuda de los análisis geoespaciales se logró determinar las zonas del municipio que presentan mayor riesgo de infección por *T. cruzi* a las cuales se les debe prestar mayor atención al momento de realizar estrategias de intervención.

2 Introducción

La Enfermedad de Chagas es una dolencia parasitaria causada por el protozoo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. El parásito, su ciclo de vida y la patología que ocasiona, fue descubierta en 1909 por el médico brasilero Carlos Justiniano Ribeiro Chagas en el estado de Minas Gerais, Brasil (Chagas 1909, Malafaia y Rodrigues 2010). En la actualidad, la infección con *T. cruzi* se estima en cerca de 10 millones de personas y cerca de 21000 muertes anuales (Moncayo y Silveira 2009) en 21 países donde la enfermedad es endémica. La transmisión del parásito se corresponde con la distribución de los vectores triatominos, aproximadamente desde 40° N (Sur de los Estados Unidos) hasta los 46° S (Patagonia Argentina)

(Carcavallo et al. 1999). *T. cruzi* perteneciente a la familia Tripanosomatidae, se caracteriza por tener una estructura sub celular llamada kinetoplasto la cual se localiza en un punto específico de la mitocondria (Schoijet 2009). Este protozoo circula en la naturaleza hace aproximadamente 80 millones de años. Antes que la hematofagia de los insectos triatominos apareciera, el parásito circulaba en el ciclo silvestre probablemente de dos formas: (I) por depredación de mamíferos infectados y (II) por ingestión o por entrar en contacto con líquido de las glándulas odoríferas de zarigüeyas ya sea por una herida o mucosas (Telleria J y Tibayrenc M 2010), se sabe que las zarigüeyas pueden mantener la división extracelular de *T. cruzi* y liberar formas metacíclicas infectivas del parásito (Deane et al. 1986, Schofield 2000). A medida que otros mamíferos e insectos entraron al ciclo de vida del parásito fueron generando fuertes presiones selectivas sobre las poblaciones de *T. cruzi*, lo que resultó en la gran variedad de sub poblaciones del parásito que se conocen en la actualidad con patrones biológicos y moleculares diferentes (Telleria J y Tibayrenc M 2010). Esta gran diversidad biológica, genética y bioquímica que presenta *T. cruzi* se han relacionado en muchos estudios con sus características ecoepidemiológicas.

Los primeros intentos de clasificación de la variabilidad del parásito se enfocaron en determinar las diferencias entre las cepas que circulan en los ciclos de transmisión doméstico y silvestre, encontrando diferencias entre las cepas evaluadas, las cuales fueron llamadas zimodemas I y II (ZI y ZII) del ciclo silvestre y doméstico respectivamente (Miles et al. 1977). Sin embargo en estudios realizados en Venezuela se encontró que el zimodema I es el grupo predominante en casos humanos de la enfermedad de Chagas (Miles et al. 1981). En los años siguientes con ayuda de otros marcadores moleculares se encontró que los zimodemas ya establecidos presentaban mayor diversidad, debido a esto se decidió reconocer dos principales grupos Tc I y Tc II (Anon 1999). Sin embargo, en estudios adelantados por Brisse et al (2001), se encontró aún mayor diversidad al interior de Tc II, clasificados Tc IIa – e. Finalmente, gracias al consenso de expertos en el 2009 se reclasificó a los diferentes grupos del

parásito en seis Unidades de Tipificación Discreta DTUs, *T. cruzi* I – VI, terminología utilizada actualmente (Zingales et al. 2009).

2.1 Reservorios y Vector

El agente etiológico de la enfermedad de Chagas circula en una gran variedad de mamíferos. Alrededor de 180 especies, agrupados en 9 ordenes: Didelphidomorphia, Lagomorpha, Chiroptera, Rodentia, Pilosa, Cingulata, Carnivora, Primata, Perisodactyla (Herrera et al. 2010). De estos nueve órdenes se destacan por su importancia en la epidemiología los ordenes Marsupialia, Rodentia y Carnívora, los cuales son especies con alto grado de adaptabilidad a los peridomicilios, con la capacidad de mantener el ciclo del parásito en determinada área (PAHO 2009). Las aves y los reptiles son refractarios al parásito, sin embargo son importantes en la ecoepidemiología de la enfermedad de Chagas ya que pueden servir de alimento a los vectores y sus sitios de descanso como punto de dispersión de los insectos a los domicilios. (Hoare 1972, Urdaneta-Morales y Mc Lure 1981, Noireau et al. 2009).

Los vectores de *T. cruzi* pertenecen al orden hemíptera de la sub familia triatominae, la cual presenta 5 tribus y 15 géneros de los cuales se han descrito 143 especies hasta el momento. (Schofield CJ y Galvão C 2009, Jurberg J et al. 2009, Ayala JM 2009; Frías-Lasserre D 2010). Una de las características que distinguen a la sub familia es la hematofagia que presentan sus individuos, también características morfológicas como la probóscide que presenta tres segmentos con el último de estos móvil (Telleria J & Tibayrenc M 2010). Esta definición no es enteramente satisfactoria debido a que algunos de los individuos de la familia pueden ser fitófagos otros depredadores y succionar en ocasiones sangre de vertebrados (Schofield and Dolling, 1993). Las principales especies vectores de *T. cruzi* en Colombia son *Rhodnius prolixus*, *Triatoma dimidiata* y en menor medida especies de segunda importancia como *Triatoma maculata*, *Triatoma venosa*, *Panstrongylus geniculatus*, *Rhodnius pallescens*, *Eratyrus cuspidatus* (Cantillo – Gómez 2010).

Rhodnius prolixus es el vector doméstico de mayor importancia en Colombia y Venezuela. Se considera una especie de primera importancia y responsable de la mayoría casos de transmisión en Colombia. Usualmente se encuentra desarrollando todo su ciclo de vida al interior de las viviendas, aunque ha sido encontrado en hábitats silvestre, en palmas y nidos de aves desde los cuales puede colonizar las casas de forma activa o pasiva (Guhl et al. 2007). *Triatoma dimidiata* también es otra especie de primera importancia en Colombia, se lo ha encontrado en 16 departamentos tanto en viviendas como en ecotopos silvestres, como: corteza de árboles muertos, árboles huecos, palmeras, montones de rocas, ruinas, las cuevas ocupadas por murciélagos y los nidos de varios mamíferos (zarigüeyas y armadillos) (Cantillo-Gómez 2010). En otros lugares como el centro de México, la península de Yucatán, América Central y Ecuador *T. dimidiata* es el principal vector de la enfermedad de Chagas (Galvao et al. 2003).

Debido a especies vectoras de segunda importancia se han generado nuevos escenarios de transmisión mediados por vectores peridomesticos o silvestres. En Colombia se encuentran especies vectores de segunda importancia como *T. maculata* la cual se encuentra distribuida por todo la Costa Caribe, Boyacá, Santander y los llanos orientales (Guhl et al. 2007). También se ha encontrado a *T. maculata* en ambientes peridomésticos y silvestres en el estado de Roraima Brasil, en Guayana, Guayana Francesa y Surinam (Galvao et al. 2003). En estudios realizados en la Costa Caribe Colombiana fue relacionada epidemiológicamente con algunos casos de Chagas en menores de 9 años (Cortés y Suárez 2005, Cantillo B 2009).

La ocurrencia de estos nuevos escenarios, plantea la necesidad de conocer el comportamiento biológico de dichas especies, con el fin de diseñar estrategias de intervención adecuadas y particulares para determinado lugar (WHO 2007). Para lograr dicho objetivo se hace necesaria la caracterización técnica del riesgo de transmisión; conocer el ciclo silvestre de transmisión de determinado lugar, la capacidad de desplazamiento de los insectos vectores, su plasticidad genética etc.

De igual forma también es necesario conocer las variables culturales, socioeconómicas, políticas y epidemiológicas, todo con el fin de dilucidar efectivamente los factores implicados en la transmisión de dicho patógeno en un ecosistema específico (Romaña et al. 2003). Cuando se integran estos factores al ciclo de vida de determinado parásito se habla de diferentes conceptos como: complejo eco – patógeno, ecología del paisaje, paisaje epidemiógeno y dinámica de los agro – ecosistemas (Romaña et al. 2003). En el caso de la tripanosomiasis Americana cuando se detecta la coexistencia de mamíferos e insectos infectados con *T. cruzi* y se conoce con detalle su ecología se habla de focos de transmisión o unidades ecológicas de transmisión (Telleria J y Tibayrenc M 2010).

En lugares donde las pesquisas entomológicas con los métodos tradicionales son infructuosas debido a que los insectos peridomésticos que visitan las viviendas tienen bajas densidades, se hace de vital importancia la participación de la comunidad en la denuncia de los focos de infestación todo con el fin de conocer la epidemiología y los diferentes factores involucrados en la aparición de nuevos brotes de transmisión de *T. cruzi* (Silveira AC 2010).

2.2 Planteamiento del problema

La enfermedad de Chagas continúa siendo un factor restrictivo para el pleno desarrollo de las comunidades rurales, semirurales y urbanas de todo el continente. Es una enfermedad del atraso socioeconómico, que hasta el momento no tiene una vacuna que permita inmunizar a las personas de zonas endémicas. Sumado a esto, los medicamentos existentes causan reacciones secundarias en un 60% de los pacientes tratados, con muy poca efectividad (Silveira AC 2010). Por tal motivo el control químico del vector continúa siendo el medio más efectivo para la interrupción de la transmisión. Sin embargo, los problemas de efectividad que presentan los programas de control tradicional sobre especies nativas y/o de importancia epidemiológica secundaria, demandan la creación de estrategias diseñadas para las características de las especies locales (Silveira AC 2010).

Para este propósito, se hace necesario la caracterización ecoepidemiológica de los focos de transmisión en la zona de interés a través de: la incriminación vectorial de la(s) especie(s) presentes, la identificación de los integrantes del ciclo de transmisión, la ubicación espacial de los microfocos activos y la caracterización del riesgo de infección que cada especie representa a las poblaciones susceptibles. De esta manera, se podrá definir y establecer las medidas de vigilancia e intervención para las diferentes especies nativas de una zona particular.

Para el caso de la enfermedad de Chagas, la identificación de focos activos se hace por la detección de casos agudos de infección y/o por el desarrollo de estudios epidemiológicos sobre niños menores de 14 años (WHO 2007). Sin embargo, la sintomatología inespecífica que caracteriza la fase aguda conlleva a que la mayoría de los casos pasen desapercibidos, aun más, en zona con especies nativas no domiciliadas, de menor capacidad vectorial y con comportamiento electico en su alimentación, los focos de infección que involucran humanos se hacen un poco más esporádicos, por lo que la vigilancia de los mismos tiende a desaparecer. Por lo tanto, para este tipo de escenario es necesaria la implementación de metodologías más sensibles que identifique los focos activos de transmisión.

En el municipio de Talaigua Nuevo ubicado en el departamento de Bolívar presenta la situación anteriormente descrita. Estudios recientes reportaron la presencia de tres especies vectores: *R. pallescens*, *E. cuspidatus* y *T. maculata*, todos extradomésticos e infectados con *T. cruzi* (Cantillo et al 2010). Sumado a lo anterior, la detección de seroprevalencia en menores de 10 años y el fallecimiento de dos menores con cardiopatías compatible con enfermedad de Chagas, confirman la transmisión en el municipio (Cantillo et al. 2010; Cortés y Suarez 2005). A pesar de esta situación, las medidas de intervención que se han realizado sobre el municipio, no han logrado la interrupción de la transmisión en menores de 14 años (Cantillo 2009). Por tal razón, se requiere de la implementación de un programa de prevención y control adecuado para la

interrupción de la transmisión local construido mediante la caracterización de los focos de activos de transmisión que podrían involucrar a la población humana.

3 Objetivo

3.1 Objetivo general

Determinar si hay focos activos de transmisión de la Enfermedad de Chagas, en el municipio de Talaigua Nuevo, departamento de Bolívar.

3.2 Objetivos específicos

- Definir los índices de infestación y colonización de triatomíneos en las viviendas rurales y urbanas.
- Determinar el índice de infección por *T. cruzi* en reservorios doméstico, triatomíneos silvestres, peridomésticos y domiciliados del municipio.
- Caracterizar los integrantes de los focos de transmisión mediante la identificación de fuentes alimenticias de triatominos.
- Establecer y estratificar el riesgo de infección de la población canina del municipio.
- Establecer y estratificar el riesgo de infección por vectores en el municipio.

4 Materiales y métodos

4.1 Área de estudio

La investigación se llevó a cabo en el municipio de Talaigua Nuevo, departamento de Bolívar, ubicado entre los brazos de Mompós y de Loba del río Magdalena entre 9°18'31.54"N, 74°34'23.04"O y 9°17'51.34"N, 74°33'44.97"O. El municipio se encuentra a 250 km de Cartagena de Indias, limita al norte con el departamento del Magdalena, al sur con el municipio de Mompox, al este con el municipio de Cicuco y al oeste con el municipio de Magangué. El municipio hace parte de la Isla de Mompox o más concretamente Isla Margarita, la cual se encuentra a su vez en

un territorio geográficamente llamado la Depresión Momposina, considerada la zona más inundable del país. El municipio está a una altura de 36 m sobre el nivel del mar, la vegetación circundante corresponde a bosque seco tropical (bs-t) según las zonas de vida de Holdridge, esta zona se encuentra en una cuenca hidrográfica de aproximadamente 24.650 km² presenta una temperatura promedio anual de 24°C y una precipitación que oscila entre 1.500 mm y 2.000 mm anuales (<http://www.bolivar.gov.co/>).

De los 10 corregimientos que posee el municipio de Talaigua Nuevo, se seleccionaron los 3 que presentaron mayor población y facilidades para acceder a los mismos: Talaigua Viejo, El Vesubio y Patíco con lo que se cubrió el 80% de la población (Dane 2005). Figura 1.

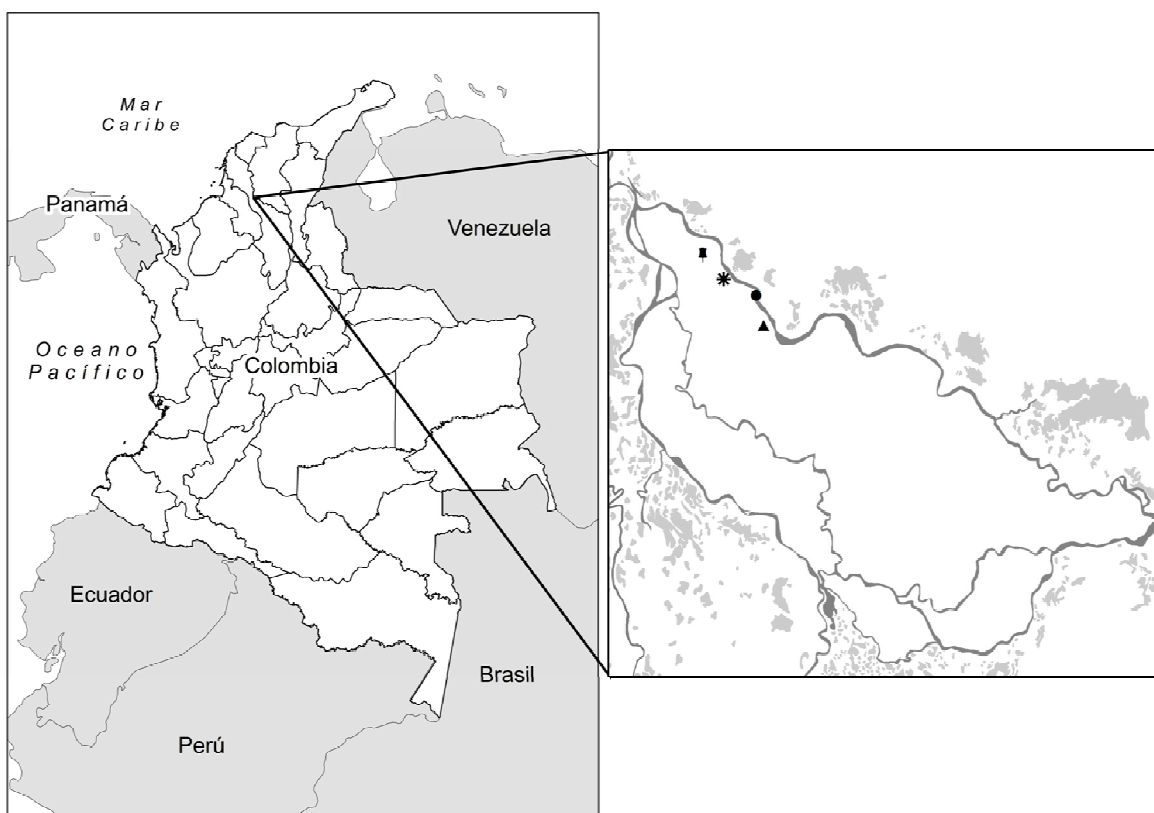


Figura 1. Municipio de Talaigua Nuevo y sus corregimientos

▲ Vesubio, ● Talaigua Nuevo, * Talaigua Viejo, ■ Patíco

4.2 Trabajo entomológico

De acuerdo con trabajos previos realizados en la zona, la estrategia de recolección de insectos con participación comunitaria presenta buenos resultados para la recolección de los insectos (Cantillo-Barraza 2009). Para lograr este cometido se contó con la ayuda de la secretaria de salud quienes facilitaron la concentración de: miembros de Juntas de acción comunal, líderes del programa familias en acción, Asociación de Madres Comunitarias y población escolar. Las capacitaciones estaban enfocadas en los siguientes ítems.

1. Nociones de entomología básica, que permitieran reconocer triatomíneos de otros chinches.
2. Reconocimiento de especies de triatomíneos locales, con énfasis en características morfológicas y ecológicas de cada una.
3. Captura y correcta manipulación de los individuos, con normas de bioseguridad.

Al final de cada sesión se les entregaban recipientes para el almacenamiento del material entomológico a recolectar en los hogares. Como estrategia de divulgación y multiplicación de la información, se entregaron afiches elaborados en el laboratorio BCEI, con información relevante acerca de vectores locales y nociones básicas sobre la enfermedad de Chagas. (Anexo 1). Esta labor de promoción se realizó con el propósito de comenzar con el empoderamiento de las personas con mayor riesgo de exposición. Por último, a cada líder capacitado era entregado un paquete de tarros entomológicos para distribución en su comunidad de influencia.

Para el personal que labora en el hospital local, se realizó una actualización sobre temas epidemiológicos, formas de transmisión, historia natural de la enfermedad, sintomatología etc. El desarrollo de esta fase, se realizó con ayuda del personal de laboratorio departamental de salud pública de Bolívar.

Como acciones complementarias y con el propósito de aumentar el número de pobladores que participaban en el programa de vigilancia, se realizó un recorrido

por 129 casas en el casco urbano del municipio. A cada persona se le entregó un recipiente en el cual almacenarían los triatominos en caso de ser observado.

4.2.1 Búsqueda activa en casas que devolvieron los recipientes con triatominos

Con el fin de comprobar o descartar la colonización de triatominos, se realizó búsqueda exhaustiva al interior de las viviendas que entregaron insectos. La búsqueda activa se adelantó durante un tiempo de 40 a 60 minutos, enfocado el esfuerzo en lugares como camas, detrás de objetos colgados en la pared, acúmulos de ropa, zapatos y documentos, escaparates, grietas en la pared, cocina, cuartos de almacenamiento o de “San Alejo”. Posteriormente se buscó en peridomicilio una hora y media, mediante búsqueda razonada, comenzando por los sitios de reposos de animales domésticos: palomares, gallineros, palmas de coco, palos de jobo (*Spondias mombin*), cercas, montículos de madera, acúmulos de piedra o ladrillos y techos construidos con hojas de palmas.

Los insectos capturados por la comunidad fueron entregados personalmente a los investigadores o eran llevados a la secretaria de salud del municipio, desde donde fueron enviados al laboratorio BCEI de la Universidad de Antioquia, para posteriormente ser procesados.

4.2.2 Captura de insectos silvestres

La captura de los insectos silvestres se realizó mediante la disecación de una palma de la especie *Attalea buyracea* la cual se encontraba aproximadamente a 1.5 km del casco urbano del municipio. La disecación fue realizada por un ayudante de campo, posteriormente se procedió a buscar los insectos desde las primeras hasta las últimas brácteas, las cuales eran desprendidas de la palma con mucho cuidado para evitar que los insectos se escaparan.

4.3 Taxonomía

Los insectos capturados se clasificaron de acuerdo a la clave de Lent y Wygodzinsky (1979).

4.4 Examen parasitológico de los triatominos recolectados

Los triatominos capturados, se transportaron al laboratorio BCEI de la Universidad de Antioquia, donde se alimentaron con rata o gallina, posterior a esto se recolectaron las heces y se observaron al microscopio para evaluar la infección por flagelados. A los insectos muertos se les extrajo el contenido intestinal, si era posible se revisaba en busca de flagelados con ayuda del microscopio. Las heces de todos los insectos fueron colectadas en 100µL de PBS 7.2, para la extracción del ADN.

4.4.1 Extracción de DNA

La extracción del ADN de las heces se realizó mediante el método fenol – cloroformo (Ávila et al 1990). Para realizar el procedimiento se tomaron de 40-50 µL de heces, las cuales se mezclaron con un volumen de 500 µL de Buffer de Digestión (Tris-HCl pH 7.5 0.01M, EDTA 0.01M, NaCl 0.05M, SDS 1%) y 4 µL de proteinasa K, se incuban a 37°C aproximadamente 12 horas. La extracción del DNA se realizó con fenol – cloroformo, se precipitó con alcohol absoluto. Posteriormente se lavó con alcohol al 70% y finalmente se diluyó en 30 µL de agua destilada.

El ADN fue cuantificado en el espectrofotómetro Nanodrop 2000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA) y almacenado a -20°C en freezer hasta su empleo.

4.4.2 Diagnóstico molecular de *T. cruzi*

La confirmación de la presencia del parásito en las heces se determinó por medio del método de PCR utilizando dos marcadores diferentes: amplificación del ADN satélite y amplificación de la región variable de los minicírculos del kinetoplasto de *T. cruzi*. Para la primera reacción se utilizó los cebadores TcZ1 (5'-GCT CTT GCC CAC AMG GGT GC-3') y TcZ2 (5'-CAA GCA GCG GAT AGT TCA GG-3') los cuales amplifican una banda de 188 pb (Moser D et al. 1989). El volumen final de reacción fue 25 µL, el cual contenía 1x de TaqBuffer fermentas®, 1.5 mM de MgCl₂, 0.04 mM de cada dNTP, 0.2 µM de cada cebador, 1.25 U de Taq polimerasa y 1 µl de ADN molde. Los pasos de la PCR fueron: un primer paso de desnaturalización a 94°C por 3 minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C por 45 segundos, 63°C por 45 segundos y 72°C por 45 segundos; finalmente se dejó 10 minutos a 72°C para evitar su desnaturalización.

Para la amplificación de la región hiper variable del Kinetoplasto del parásito se utilizaron los cebadores 121 5'-AAATAATGTACGGG(T/G)GAGATGCATGA-3 y 122 5'GGTTGCATTGGGTTGGTGTAAATATA-3, los cuales amplifican un fragmento de 330 pb (Avila H. et al 1990), que corresponde a la región hipervariable de los minicírculos del kinetoplasto. Los pasos de la amplificación fueron: un primer paso de desnaturalización a 95°C por 10 minutos, seguido de 35 ciclos de 95°C por 45 segundos, 64°C por 45 segundos y 72°C por 45 segundos.

Para visualizar el producto de PCR se realizó un gel de agarosa al 1.5%, teñido con 5 µl de bromuro de etidio y visualizado con radiación UV.

4.4.3 Aislamiento de parásitos desde insectos

A todos los insectos con resultado positivo a flagelados por microscopia, capturados en diferentes ambientes, se alimentaron para obtener las heces, posteriormente estas fueron resuspendidas en 500 µL de PBS pH 7,2 estéril. Una alícuota se utilizó para aislamientos, mediante la inoculación intraperitoneal en ratones Balb/c y suizos de experimentación.

Posteriormente, los ratones eran revisados hasta observar parasitemia, la revisión se hizo mediante la técnica de microhematocrito. Al momento de detectar infección se procedía a sacrificar los ratones con CO₂, para luego realizar la extracción de sangre por punción cardíaca, la cual era utilizada para realizar hemocultivos en medios (LIT + NNN) siguiendo los protocolos del laboratorio BCEI de la Universidad de Antioquia. De esta misma manera se aislaron las cepas de los insectos utilizados en xenodiagnósticos de animales domésticos y silvestres.

4.4.4 Análisis HRM del gen citocromo B (CytB) para la identificación de fuentes alimenticias usando PCR en tiempo real

El gen CytB fue amplificado utilizando los siguientes primers 5' – CCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA –3'y 5' CCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA 3', la PCR fue realizada en un volumen final de 10 uL, conteniendo 0.5 uM de cada primer, 0.25mM de cada dNTP, 3.5mM MgCl₂, 0.5U TrueStart Hot Start polymerase y 1.5x del colorante SYBR green (Invitrogen). Un total de 15 ng de DNA genómico fue utilizado en cada tubo, las muestras problema y las estándares fueron amplificadas por en duplicado. Las condiciones en el termociclador fueron las siguientes: una desnaturalización a 95°C por 5 minutos, 35 ciclos realizando los siguientes pasos: 30 segundos desnaturalizando a 95°C, seguida del alineamiento por 30 segundos a 60°C y un paso de extensión a 72°C por 30 segundos en el termociclador Rotor Gene Q system (Qiagen, Germany). Después de la amplificación se analizó la curva melting, incrementando la temperatura de 72°C a 92°C aumentando gradualmente la temperatura 0.1°C/s registrando los cambios en la fluorescencia. El análisis HRM se llevó a cabo en el Rotor Gene Q Software v2.2. Los genotipos fueron seleccionados de un grupo de especies estándar, zarigüeya (*Didelphis marsupialis*), ratón (*Mus musculus*), vaca (*Bos taurus*), perro (*Canis lupus familiaris*), caballo (*Equus caballus*), humano (*Homo sapiens*), conejo (*Oryctolagus*

cuniculus), cat (*Felis catus*), gallina (*Gallus gallus*), burro (*Equus asinus*), rata (*Rattus norvegicus*), cerdo (*Sus scrofa*) y oveja (*Ovis aries*).

4.5 Estudios con la población humana

Con el propósito de detectar infección reciente en la población de la zona de estudio, se realizó una toma de muestra en las escuelas de la cabecera municipal y tres corregimientos de Talaigua Nuevo. Para el cálculo del tamaño poblacional se tuvo en cuenta los siguientes parámetros estadísticos: Para Talaigua Nuevo: universo 10.973 (5.100 zona urbana y 5.873 zona rural). Prevalencia 4%, error de muestreo 3%, nivel de confianza del 95%.

Para realizar el procedimiento (con previa autorización de los padres), se tomó un volumen de 4-5 ml de sangre por venopunción. La toma de las muestras fue realizada por una enfermera del hospital local, posteriormente el suero fue almacenado en frío hasta la realización del diagnóstico. Para el casco urbano de Talaigua Nuevo se tomó una muestra total de 290 niños de las instituciones educativas de Escuela Urbana Mixta Barrio Norte, Escuela Urbana Mixta Segundo Benigno y Primera Escuela Urbana de Talaigua Nuevo las cuales están localizadas en barrios donde en este trabajo o trabajos anteriores se reportó la presencia de triatominos. En el Caso de Talaigua Viejo se muestrearon 69 niños, en el Vesubio 41 y en Patico 40 niños. Acta de aprobación del proyecto 08-012-185 Fecha 27 de agosto de 2008.

4.5.1 Diagnóstico serológico en la población humana

Para el diagnóstico de la infección con *T. cruzi*, se realizaron las pruebas de ensayo inmunoenzimático (ELISA) e inmunofluorescencia indirecta (IFI), como prueba confirmatoria. La prueba ELISA se le realizó al total de personas que participaron en el estudio con el fin de detectar anticuerpos tipo IgG, el ensayo fue realizado siguiendo el protocolo estandarizado en el grupo BCEI de la Universidad

de Antioquia, con las siguientes condiciones: la sensibilización se hizo con un lisado de parásitos obtenido por frío, el cual fue utilizado a una dilución de 1:50. El bloqueo de la placa se realizó con una solución de leche descremada al 3%. El conjugado anti-human IgG (γ -chain specific) marcada con peroxidasa (SIGMA, A-6029), se utilizó a una dilución de 1:2000. El sustrato consistió de peróxido de hidrogeno disuelto en una solución de OPD (Ortho-phenil-endiamina). La lectura de la placa se realizó en un lector de ELISA con filtro de lectura de 490nm.

La prueba IFI fue utilizada como prueba confirmatoria de las muestras positivas por ELISA, se utilizó el protocolo propuesto por Guhl y Nicholls en el 2001. La dilución 1:40 se utilizó como punto de corte para establecer las muestras negativas y positivas.

4.6 Reservorios

4.6.1 Estudio con Reservorios Silvestres

Para la captura de reservorios se utilizó cebo universal. Un total de cuatro trampas se colocaban por noche en patios de viviendas ubicadas en barrios donde residían perros con diagnóstico positivo para *T. cruzi* (una trampa por cada patio). Las trampas, fueron georeferenciadas con GPS.

4.6.2 Toma de muestras de reservorios silvestres y xenodiagnóstico

Después de sedar al animal se procedió a tomar una muestra de sangre por punción cardíaca (0.2 a 3 mL dependiendo el tamaño del animal).

Para realizar el xenodiagnóstico, se emplearon dos recipientes con 5 ninfas de IV y/o V estadio de *R. prolixus* trasladadas desde el laboratorio BCEI. Para la prueba, las ninfas se alimentaron del mamífero, por un tiempo aproximado de 15 minutos hasta plenitud. Estos insectos fueron posteriormente llevados al laboratorio donde se revisaron las heces cada 8 días por dos meses, en busca de presencia de flagelados.

4.6.3 Captura de mamíferos al interior de las viviendas

Se muestrearon reservorios peridomésticos - domésticos (ratones). Para la captura de estos se utilizaron trampas Sherman las cuales se cebaron con sardina. Las trampas, fueron ubicadas al interior de las viviendas durante toda la noche, al día siguiente, se revisaban y los especímenes capturados se les tomaron muestra de sangre por punción cardiaca. Posteriormente esa muestra fue utilizada para realizar hemocultivos, los cuales se revisaron periódicamente cada 8 días por dos meses, con el fin de detectar la presencia del parásito.

4.6.4 Estudios con Reservorios Domésticos(perros)

El cálculo del tamaño muestral se realizó con una confianza del 95% y un error del 5% (Londoño 2004): con un universo de 1000 perros (Dato suministrado por la Secretaria de Salud Municipal, unidad de zoonosis), para determinar la prevalencia se revisó literatura con el fin de encontrar una zona con características epidemiológicas similares a la zona de estudio (Londoño 2004). De esta forma se consideró una prevalencia esperada del 15% de acuerdo con trabajos realizados en Panamá y Venezuela, zonas con presencia de *R. pallescens* y *T. maculata* respectivamente (Pineda et al 2010; Rojas et al 2008). Con los datos suministrados se determinó un tamaño muestral de 164 perros, repartidos de acuerdo al censo municipal en 56% para la zona urbana y 44% para la rural.

Se consideró muestrear otros mamíferos como gatos, pero debido a que la toma de muestras no es fácil ya que no son dóciles, generalmente no se mantienen en las casas y además los registros no estaban actualizados. Se tomaron muestras aleatorias de los perros de los diferentes barrios de Talaigua Nuevo y sus corregimientos.

La toma de muestra se logró inmovilizando el perro con ayuda del personal de la Secretaria de Salud o con ayudantes de campo, posteriormente se localizó la vena Safena la cual se encuentra con más facilidad en el tarso de la pata trasera, de allí

se tomó una muestra de sangre de aproximadamente 3-4 mL. Una parte de la muestra se mezcló con un volumen igual de Cloruro de guanidina 6M - EDTA 0.2 M pH 8.0, de la otra porción se obtuvo el suero, el cual fue llevado al laboratorio BCEI para los análisis serológicos.

4.6.5 Encuesta epidemiológica de caninos

A los dueños de los perros se les realizó una encuesta, hecha por el investigador principal o por lo ayudantes de campo, igualmente algunas de las observaciones fueron hechas por el encuestador en el momento de realizar la encuesta. Se preguntó por factores de riesgo presentes en el domicilio y en el peridomicilio como la presencia de gallineros, palomares, palmas de coco, palos de jobo, el lugar donde el perro pasa la noche entre otros (anexo 19). La encuesta fue adquirida de estudios realizados por Cardinal en Argentina por lo que ya había sido validada en ese lugar y modificada al lenguaje de la zona.

4.6.6 Diagnóstico serológico de los perros

La prueba ELISA para los perros tuvo las siguientes modificaciones: el título de antígeno fue de 1:25. El conjugado anti-dog se utilizó a una concentración de 1:5000, los siguientes pasos del protocolo fueron exactamente igual al utilizado en el diagnóstico en los humanos. La confirmación por IFI de todos los perros diagnosticados por ELISA se realizó con la siguiente modificación del conjugado: el conjugado utilizado en la IFI se trabajó a una dilución de 1:200.

4.6.7 Xenodiagnóstico de Animales Domésticos

Para determinar la presencia del parásito circulando en sangre se realizaron xenodiagnósticos a aquellos perros que resultaron positivos por las técnicas serológicas ELISA e IFI. Para lograr esto se sedó el perro con 5 mg/kg de peso con Ketamina-Xilacina 9:1 intramuscular, posteriormente se utilizaron 15 ninfas de III, IV y V estadio de colonias de laboratorio de *R. prolixus*, las cuales se alimentaron del perro aproximadamente 20 minutos a plenitud. Las heces de los

insectos fueron revisados al microscopio periódicamente cada 8 días por al menos 3 meses en búsqueda de flagelados.

4.7 Análisis geoespacial

La búsqueda de perros infectados se realizó en siete de los 10 barrios que tienen el municipio de Talaigua Nuevo, mientras que la entrega de los triatominos por parte de la comunidad se hizo en la totalidad de los barrios. Tanto el perímetro municipal como los barrios se digitalizaron como polígonos sobre una imagen de Google Earth capturada el dos de marzo de 2010.

Los polígonos construidos en Google Earth fueron digitalizados en el programa ArcGIS (Figura 19A; ESRI 2006) utilizando como guía una imagen Landsat 7 ETM+, ya que en dicho programa se iban a realizar los análisis posteriores. Las coordenadas de los datos biológicos fueron capturadas mediante un dispositivo GPS (Global Positioning System) utilizando el sistema de coordenadas geodésicas WGS-84 (World Geodetic System 1984).

El mapa que representa la distribución espacial de los perros e insectos infectados con el parásito se generó utilizando el método de interpolación con ponderación por distancia IDW (Inverse Distance Weighted) en ArcGIS (ESRI 2006), seleccionando un radio variable para especificar el número de puntos muestrales más cercanos ($n = 12$).

Para la superficie de riesgo de ocurrencia de perros infectados construida con IDW, se asignó como peso el porcentaje de perros infectados teniendo en cuenta la población total de perros en cada barrio; mientras que para los triatominos se asignó como peso la tasa de insectos infectados con respecto a los capturados.

Finalmente, los mapas de riesgo de infección de perros y de insectos se sumaron mediante álgebra de mapas para obtener una superficie que muestre las áreas en donde puede haber mayor riesgo de infección para los humanos.

5 Resultados

5.1 Capacitaciones jornadas de sensibilización de la comunidad, para la creación del programa de vigilancia

Las jornadas de sensibilización se realizaron a nivel municipal sobre dos grupos con roles sociales diferentes, como se describe a continuación:

El primer grupo estuvo conformado por líderes comunitarios de la zona urbana y rural. Hicieron parte de este grupo, cerca de 30 integrantes del programa familias en acción, 20 integrantes de las juntas de acción comunal y líderes del municipio. Esta sensibilización de cerca de 80 personas, tuvo como propósito buscar medios de multiplicación de la información en la población base y de esta manera sumar adeptos al programa de vigilancia entomológica que requería el proyecto.

El segundo grupo, estuvo conformado por población escolar de escuelas urbanas y rurales. Para esto, se realizaron visitas y charlas de sensibilización a los estudiantes de las escuelas primarias y secundarias de Patico, Talaigua Viejo, El Vesubio, por la parte rural; y las escuelas Escuela Urbana Mixta Barrio Norte, Primera Escuela Urbana de Talaigua Nuevo y Escuela Urbana Mixta Segundo Benigno de la zona urbana. En total se trabajó con cerca de 500 estudiantes de todo el municipio. La sensibilización en la población escolar, se realizó con ayuda de material divulgativo como: afiches y volantes, construidos para esta investigación con informaciones previas en la zona desarrollada. De igual forma, se llevaron montajes de triatominos nativos, para ser utilizados como material didáctico en el reconocimiento y diferenciación de triatominos. Como estrategia de comunicación, se colgaron afiches en lugares visibles de las instituciones, con el fin de mantener fresca la información adquirida en las charlas. (Anexo 1).

5.2 Insectos recolectados por la comunidad

Como resultado del programa de vigilancia desarrollado, se logró la captura de 86 insectos, todos capturados por la comunidad al interior de las viviendas. De estos el 95.3% (82/86) pertenecen a la especie *T. maculata*, 3.5% (3/86) a *R. pallens* y 1.16 (1/86) a la especie *E. cuspidatus*. (Figura 2).

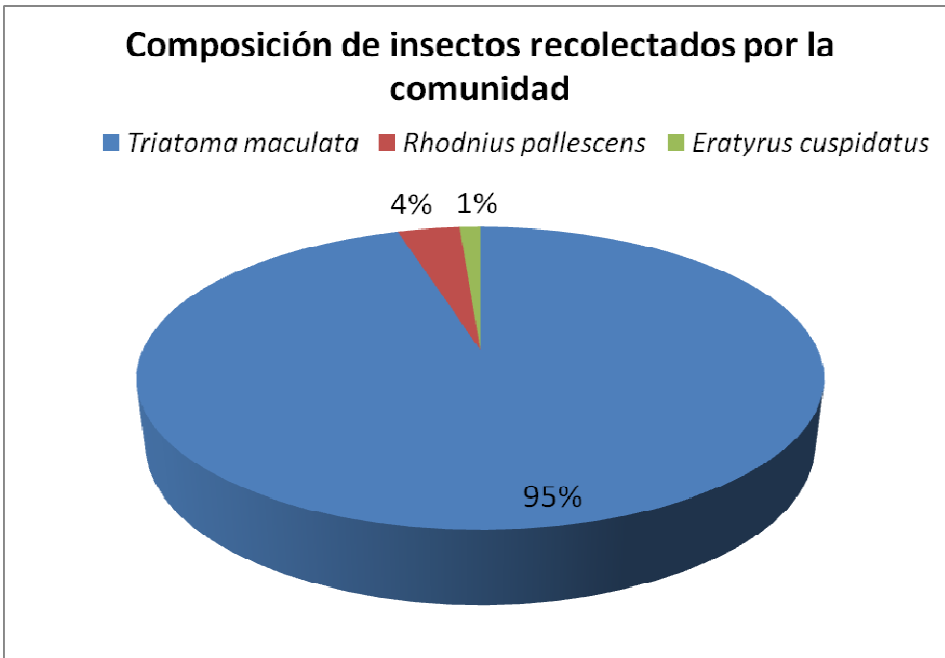


Figura 2. Composición poblacional de los insectos recolectados por la comunidad en Talaigua Nuevo y sus corregimientos.

Del total de insectos recolectados por la comunidad 77 (89.5%) fueron adultos y 9 (10.5%) fueron ninfas de *T. maculata* de IV y V estadio.

5.3 Búsqueda Activa de Triatominos

Con el propósito de conocer el ecopoto de *T. maculata*, determinar su punto de dispersión y comprobar colonización de la misma, se realizó una búsqueda exhaustiva en las viviendas donde los residentes recolectaron triatominos. La búsqueda que se realizó en los diferentes hogares del municipio no produjo resultados de presencia de los insectos triatominos en las viviendas. Figura 3.



Figura 3. Búsqueda del ecotopo de *T. maculata* en Talaigua Nuevo

5.4 Insectos entregados por la comunidad

De 10 barrios que conforman la cabecera municipal de Talaigua Nuevo, en 9 se registró la captura de insectos triatominos al interior de las viviendas. Figura 4.

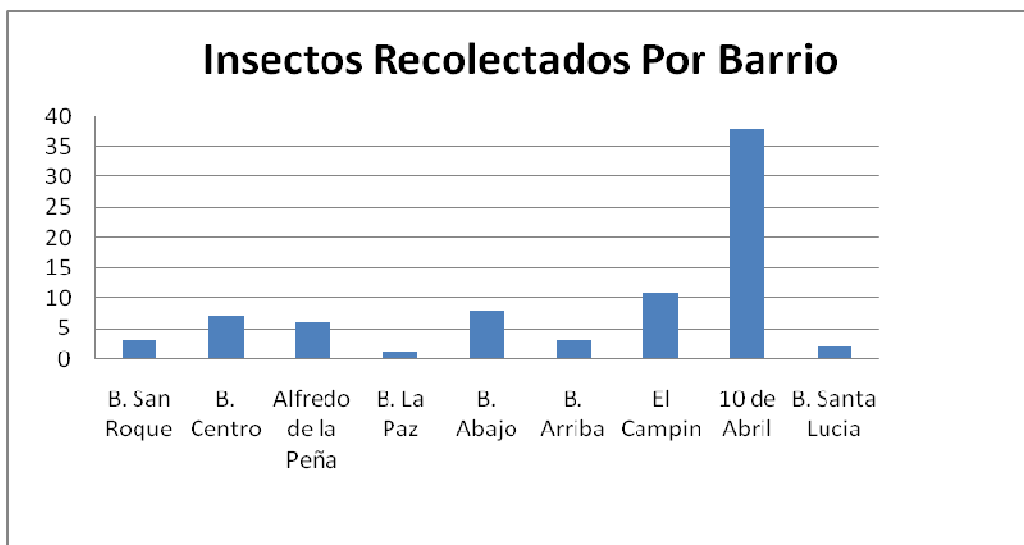


Figura 4. Número de insectos recolectados por la comunidad

El barrio donde entregaron la mayor cantidad de vectores fue el 10 de abril, con un total de 38 insectos, seguido por el barrio el Campin con 11, mientras que el barrio la Paz fue el que mostró una menor cantidad de insectos con 1 insecto.

5.4.1 Infección por *T. cruzi* en los insectos recolectados en cada comunidad

Para el diagnóstico de infección en los insectos recolectados, se utilizó la técnica de PCR con dos marcadores diferentes. En la tabla 1, se observa el total de insectos recolectados por comunidad, la especie a la que pertenecían y el número de insectos positivos por *T. cruzi*, utilizando cada uno de los marcadores.

Tabla 1. Insectos infectados en barrios y corregimientos de Talaigua Nuevo.

Barrio	Número de insectos recolectados y especie a la que pertenecían	% infección, PCR con ADN satélite	% infección, PCR con el kDNA
B. Centro	7 <i>T. maculata</i>	71.4 (5/7)	71.4 (5/7)
Alfredo de la Peña	5 <i>T. maculata</i>	50.0 (3/6)	66.7 (4/6)
	1 <i>E. cuspidatus</i>		
B. La Paz	1 <i>T. maculata</i>	0.0 (0/1)	100 (1/1)
B. Abajo	8 <i>T. maculata</i>	37.5 (3/8)	12.5 (1/8)
B. Arriba	3 <i>T. maculata</i>	66.7(2/3)	100.0 (3/3)
El Campin	11 <i>T. maculata</i>	45.5 (5/11)	63.6 (7/11)
10 de Abril	38 <i>T. maculata</i>	36.8 (14/38)	60.5 (23/38)
B. Santa Lucia	2 <i>T. maculata</i>	0.0 (0/2)	100.0 (2/2)
Talaigua Viejo	2 <i>T. maculata</i>	50.0 (2/4)	75.0 (3/4)
	2 <i>R. pallenscens</i>		
Vesubio	1 <i>T. maculata</i>	100.0 (2/2)	100.0 (2/2)

	1 <i>R. Pallescens</i>		
Ancon	1 <i>T. maculata</i>	100.0 (1/1)	100.0 (1/1)
B. San Roque	3 <i>T. maculata</i>	66.7 (2/3)	100 (3/3)
Total	86	45 (38/86)	61 (52/86)

Los resultados mostraron que el 45% (38/85) de los individuos analizados amplificaron la banda de 188pb correspondiente al ADN satélite (Figura 5), mientras que el 61% de los insectos amplificaron un fragmento de 330 pb de bases correspondiente a la región hipervariable del kinetoplasto del parásito (Figura 6). Por lo tanto, se encontró un porcentaje de infección del 77.6% (66/85), con los dos marcadores utilizados, encontrándose una coincidencia del 52.9% (45/85), entre ambos marcadores.

El único individuo colectado perteneciente a la especie *E. cuspidatus* resultó positivo por los dos marcadores utilizados en la PCR mientras que solo un *R. pallescens* de Talaigua Viejo resultó positivo a *T. cruzi*.

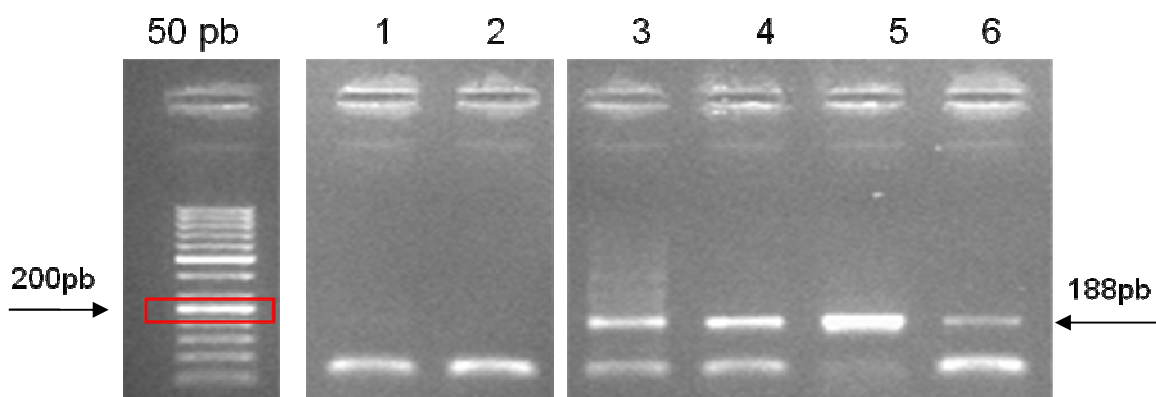


Figura 5. Producto de la amplificación por PCR de la región satélite de *T. cruzi* de muestras de heces de insectos capturados en el interior de las viviendas del Municipio de Talaigua Nuevo.

MP: Marcador de peso molecular de 50 pb, 1: Control negativo (muestra sin ADN), 2: Muestra de *T. maculata* negativa, 3,4,5: Muestras de *T. maculata* positivas por *T. cruzi*, 6: Control positivo (muestra con ADN de epimastigotes de cultivo). Los productos se corrieron en geles de agarosa al 1.5% teñidos con bromuro de etidio.

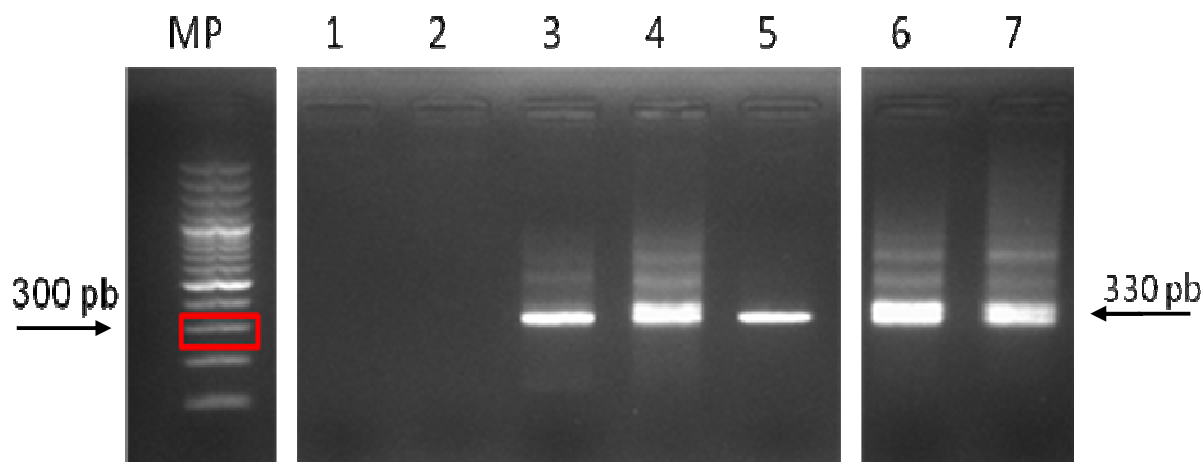


Figura 6. Producto de la amplificación por PCR del kDNA de *T. cruzi* de muestras de heces de insectos capturados en el interior de las viviendas del Municipio de Talagüa Nuevo.

MP: Marcador de peso molecular de 100 pb, 1: Control negativo (muestra sin ADN), 2: Muestra de *T. maculata* negativa, 3,4,5 y 6: Muestras de *T. maculata* positivas, 7: Control positivo (muestra con ADN de epimastigotes de cultivo). Los productos se corrieron en geles de agarosa al 1.5% teñidos con bromuro de etidio.

5.4.2 Preferencia alimenticia de *T. maculata* en la zona de estudio

Para identificar las fuentes alimenticias de los vectores del área de estudio, se empleó la técnica HRM desarrollada en el grupo BCEI, de la Universidad de Antioquia. Del total de muestras analizadas, el 55% mostraron alimentación por gallina, el 20% mostró alimentación por perro, el 10% de las muestras mostró alimentación de humano y el 15% de la muestras mostró alimentación mixta de perro y gallina. Los resultados se muestran en la figura 7.

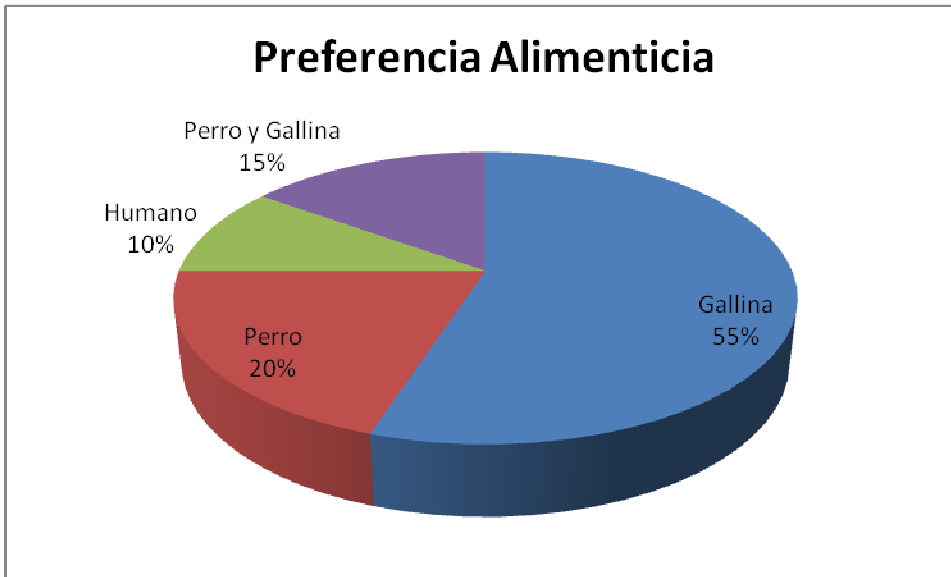


Figura 7. Número de insectos alimentados con diferentes tipos de animal

5.5 Captura de vectores silvestres

Mediante la examinación de una palma de la especie *Attalea butyracea* se logró la captura de 38 triatominos, de los cuales 21 (55,2%) correspondieron a la especie *R. pallescens* y 17 (44,7%) a *Eratyrus cuspidatus*. Todos los estadios de las dos especies fueron encontrados en la palma disecada.

5.5.1 Estudio Parasitológico de Insectos Silvestres

Por observación directa al microscopio el 62% (21/38) de los *R. pallescens* capturados resultaron positivos para flagelados, mientras para *E. cuspidatus* solo el 5% (1/17) resultó positivo a flagelados. (Figura 9).

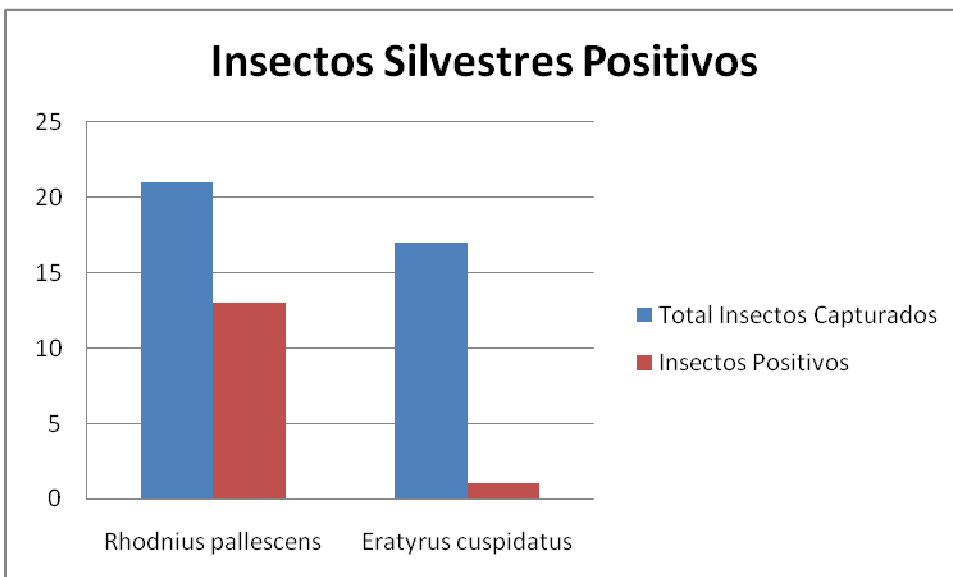


Figura 8. Insectos silvestres positivos en la zona de estudio

5.5.2 Aislamiento de parásitos de insectos silvestres

Se realizó el aislamiento de una cepa proveniente de *Rhodnius pallescens*, a la cual fue asignada el código OCC1 y criopreservada en el cepario del grupo BCEI.

5.5.3 Aislamiento de parásitos en triatomíneos recolectados por la población al interior de las viviendas

A partir de los insectos entregados por la comunidad se lograron aislar tres cepas provenientes de *T. maculata*, codificadas como (TnA2, TnA3 y TNM2). Estas cepas se encuentran criopreservadas y almacenadas en el cepario del grupo BCEI.

5.6 Estudios con la población humana

Un total de 440 muestras de suero fueron recolectadas durante el estudio. La distribución de la muestra, se realizó de la siguiente manera. Tabla 2.

Tabla 2. Número de personas tamizadas por localidad.

Lugar	N		Positivo		Negativo	
	Nro	%	Nro	%	Nro	%

Talaigua Nuevo	290	0	0	290	100
Talaigua Viejo	69	0	0	69	100
El Vesubio	41	0	0	41	100
Patico	40	0	0	40	100
Total	440	0	0	440	100

Ninguna de las 440 muestras analizadas de suero perteneciente a los niños que residen en la zona fue positiva a ambas pruebas diagnósticas. La seroprevalencia en menores de 14 años fue del 0%.

En la figura 10 se observa el número de niños muestreados por edad en el municipio y los corregimientos de Talaigua Nuevo.

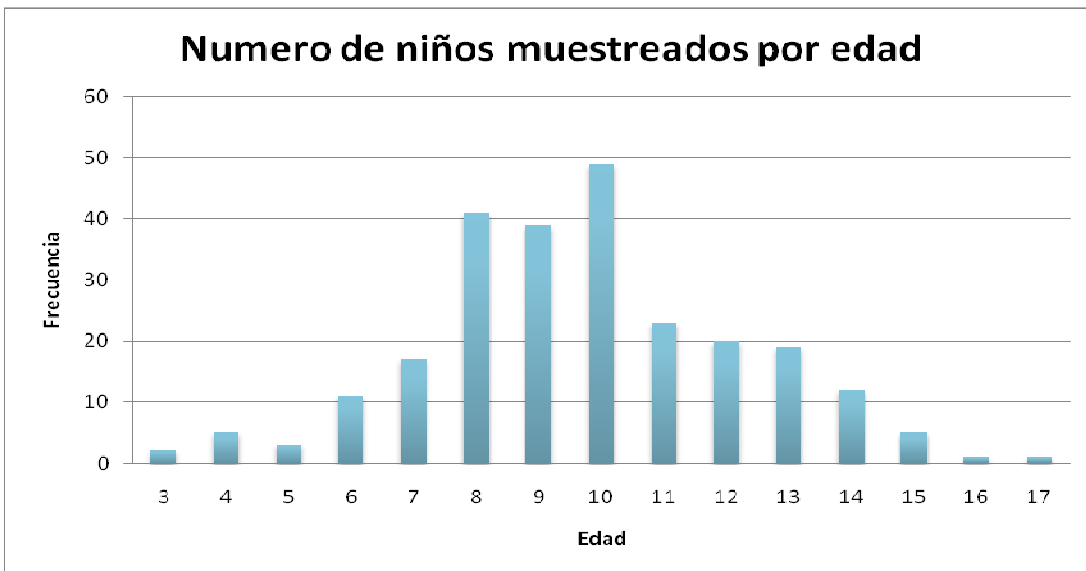


Figura 9. Distribución de niños muestreados por edad

La gran mayoría de niños a los cuales se les realizó las pruebas serológicas para la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* presentaron menos de 15 años de edad.

5.7 Estudio con reservorios silvestres y peridomésticos

El muestreo con trampas Sherman produjo la captura de 10 ratas (*Rattus rattus*). A todos los individuos capturados se les tomó muestra por punción cardiaca para hemocultivos. Después de dos meses de seguimiento, todos los hemocultivos resultaron negativo para la presencia de *T. cruzi*. Figura 11.



Figura 10. Punción cardiaca a mamíferos peridomésticos

5.7.1 Reservorios silvestres

Dos individuos de la especie *Didelphis marsupialis*, fueron capturados. La muestra tomada por xenodiagnóstico y por hemocultivo al primer individuo reveló la infección por *Trypanosoma spp.* La caracterización molecular, confirmó la infección por *T. cruzi*, la cepa nombrada Xe10, se encuentra almacenada en el cepario del grupo BCEI. El segundo individuo resultó negativo por los dos procedimientos anteriormente mencionados. Sin embargo al extraer líquido de las glándulas odoríferas, estas resultaron positivas para *T. cruzi*, confirmado por PCR del DNA satélite, lo que confirma su infección. (Figura 12).

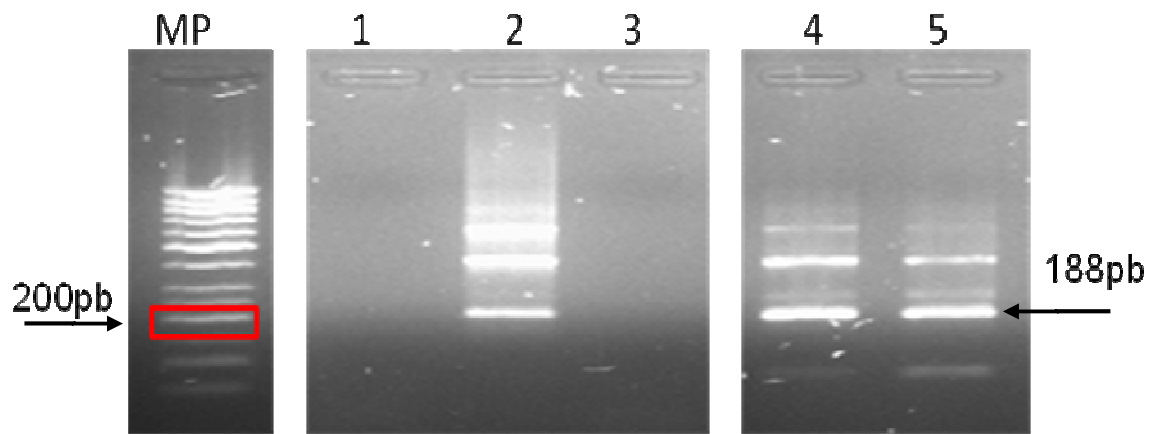


Figura 11. Producto de la amplificación del DNA satélite de *T. cruzi* extraído de glándulas odoríferas de zarigüeya.

Gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio. Carriles, MP: Marcador de peso molecular de 50 pb, 1: Control negativo, 2: Líquido de glándula odorífera de zarigüeya positivo, 3: Muestra problema, 4 y 5: Controles positivos.

5.7.2 Reservorios domésticos

Un total de 164 perros fueron muestreados para determinar la seroprevalencia canina en la población. La muestra se distribuyó en 56,1% (92/164) en la zona urbana y 43,9 (72/164) en la zona rural. La distribución por localidad se muestra en la figura 12.

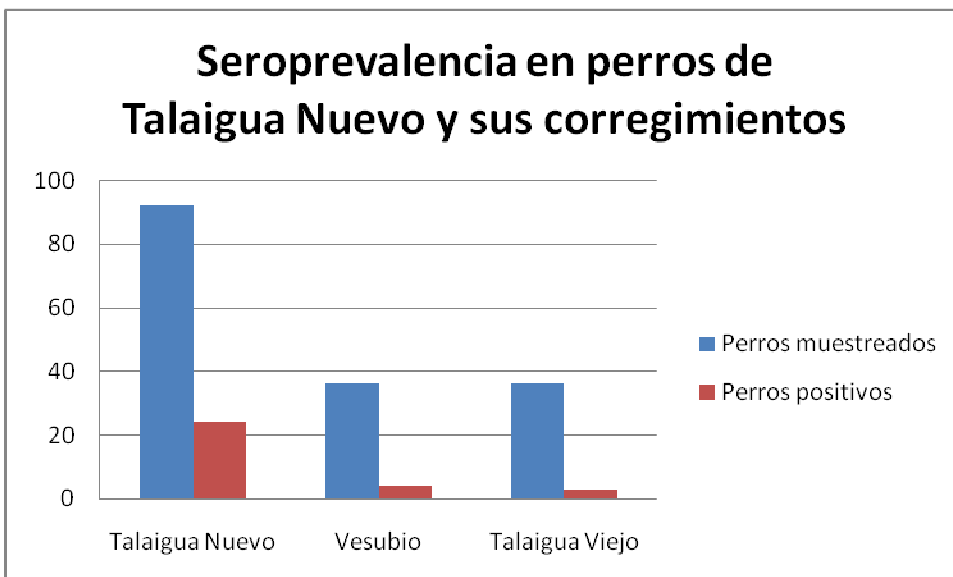


Figura 12. Seroprevalencia en perros de Talaigua Nuevo y sus corregimientos

La prevalencia observada fue del 18,9% (31/164), siendo mayor para Talaigua Nuevo con un 26,15%, que para los corregimientos Talaigua Viejo 8,3% y El Vesubio 11,1%. Para la zona urbana, la distribución de las muestras y el resultado de seroprevalencia, se presentan en la figura 13.

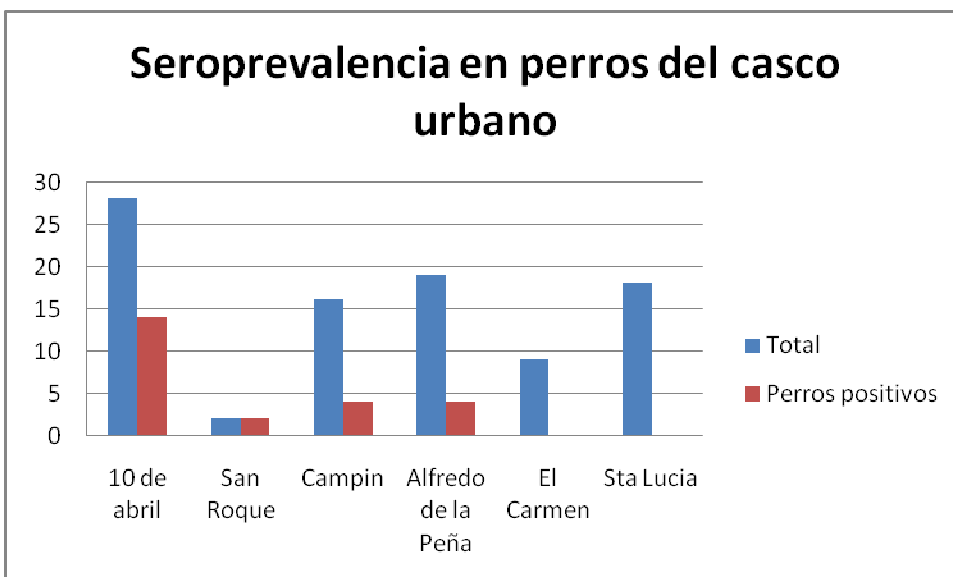


Figura 13. Seroprevalencia por barrios en el casco urbano de Talaigua Nuevo.

La distribución de la infección por grupos etáreos en los perros del municipio de Talaigua Nuevo y sus corregimientos se presenta en la figura 14.

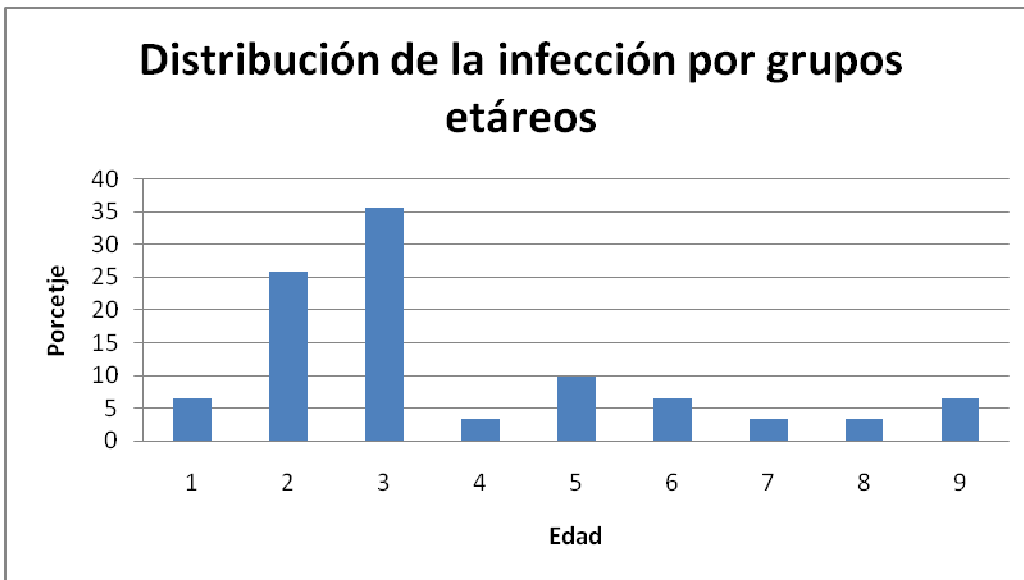


Figura 14. Distribución de la infección de acuerdo a la edad de los perros

La distribución de la infección de acuerdo a la edad de los caninos, mostró que el 25% (8/31) de los perros entre uno y dos años se encontraban infectados, lo que demuestra transmisión reciente en la zona durante la realización del estudio. Por otro lado se destaca que el 67% de los perros positivos se encuentran en un rango de edad de 1 a 3 años. De igual forma, la gráfica muestra que en todos los grupos de edad se presentaron individuos infectados, por lo que la transmisión de *T. cruzi* sobre caninos no es un evento aislado si no un fenómeno instaurado en la zona.

5.7.3 Factores de riesgo para la prevalencia de infección en perros de Talaigua Nuevo

De acuerdo con el resultado del análisis epidemiológico de las variables, se encontró asociación entre la infección de caninos con *T. cruzi*, con presencia de palomares, gallineros, nidos de aves, presencia de arboles de Jobo y palmas de coco entre otras. En la Tabla 3 se muestra los diferentes valores de OR (Odds

ratio), intervalos de confianza y los valores P de los diferentes factores de riesgo analizados con los programas Statgraphics 5.1 y Epidat 3.1.

Tabla 3. Valores P y OR para los principales factores de riesgo con un nivel de confianza del 95% de acuerdo a las tablas de contingencia.

Asociación con la prevalencia	Valor p	OR	Intervalo de confianza	
Nido	0,0349	2,92	1,04	8,19
Gallinero	0,2772	0,62	0,26	1,48
Palos de jobo	0,4912	1,33	0,58	3,04
Palma de coco	0,0590	0,38	0,12	1,15
Palomares	0,0001	11,27	2,62	48,45
Vacunación	0,0276	7,29	0,94	56,10
Localidad	0,0078	3,28	1,23	9,03

En la figura 15 se puede observar que el riesgo de infección de los perros que viven en casa donde hay nidos, es 3 veces el riesgo de los perros que habitan en casas sin nidos de palomas.

Diagrama de Barras para Nidos según Resultado serología

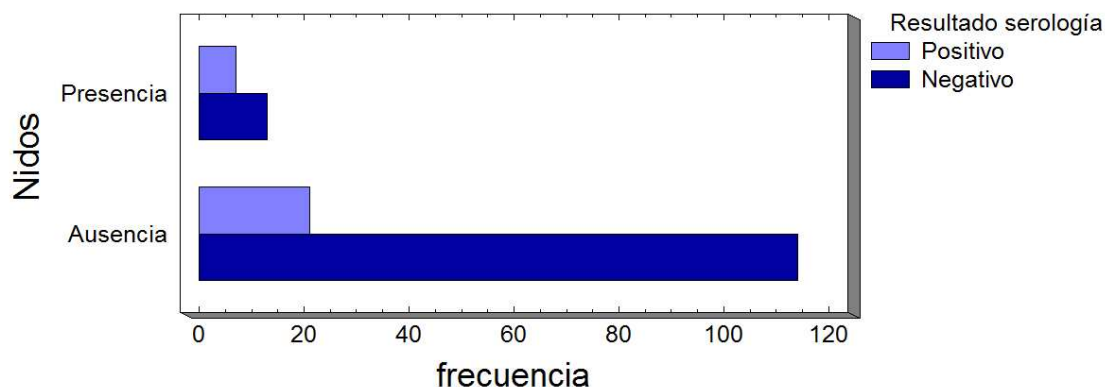


Figura 15. Frecuencia de perros infectados cuando hay presencia y ausencia de nidos en el peridomicilio.

Cuando se relaciona el factor de riesgo “palomares” y la infección encontrada en los perros se observa una relación estadísticamente significativa ya que el riesgo de infección de un perro que hábita en una casa con palomares, es 11.27 veces más alto que un perro que hábita en una casa sin palomares. (Figura 16).

Diagrama de Barras para Palomares según Resultado serología

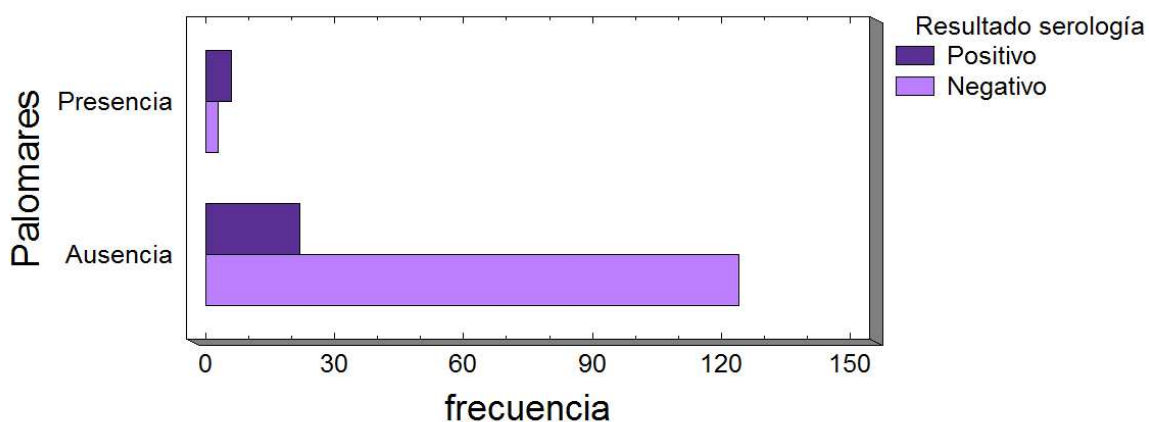


Figura 16. Frecuencia de perros infectados cuando hay ausencia y presencia de palomares en los peridomicilios.

La vacunación se comporta como un factor de riesgo, ya que los perros que están vacunados tienen un riesgo 7.29 veces mayor de infectarse por *T. cruzi* que aquellos que no lo están. Figura 17.

Diagrama de Barras para Vacuna según Resultado serología

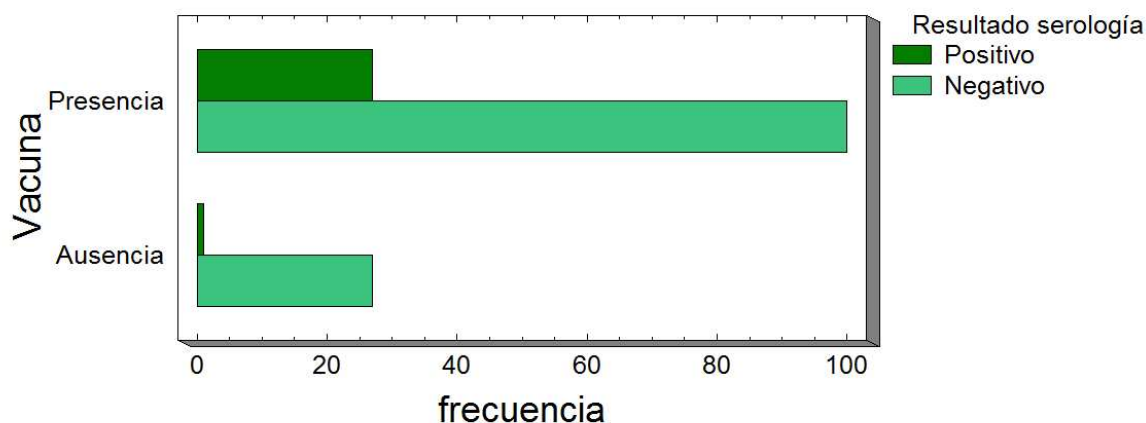


Figura 17. Frecuencia de perros infectados teniendo en cuenta si están o no vacunados

5.7.4 Relación de la infección en perros con los factores de riesgo

El desarrollo del análisis de asociación entre el resultado de la serología y las variables investigadas, mostró un grupo de 4 variables relacionadas con la infección. Estas variables son consideradas factores de riesgo para la infección con *T. cruzi* en la zona de estudio. Las variables sitio de muestreo OR= 3,28; Chi= 7,06; IC95% 1,23-9,03; P= 0,0078, mostró que el riesgo de infección de un perro que habita en la zona urbana de Talaigua Nuevo es 3.28 veces el riesgo de infección en la zona rural. La variable Nido, mostró que hay una relación entre la presencia de nidos en los peridomicilios con la infección en perros. La variable Vacunación, resultó asociada con la infección OR =7,29; Chi= 4,58; IC95% ,98-150 P= 0,027. La presencia de Palomares en las viviendas, estuvo también asociada a la infección: OR=11.27; Chi=15.25 ;IC95%2.26 - 62.39 p=0.00009. Por

último, se destaca la variable presencia de palmas de coco, no tuvo asociación estadística pero su valor $P = 0,059$, lo hace importante para el análisis.

5.7.5 Xenodiagnóstico a perros positivos de Talaigua Nuevo y sus municipios

De los 31 perros que resultaron positivos por medio de las dos pruebas serológicas utilizadas (ELISA e IFI), solo se pudo realizar xenodiagnóstico a 20 de estos, debido a que algunos no se pudieron localizar y otros no lograron soportar la inclemencia invernal. De los 20 xenodiagnósticos que se lograron hacer ninguno resultó positivo por visualización directa al microscopio. Sin embargo cuando se le realizó PCR al DNA extraído de las heces de los insectos utilizados para el procedimiento, algunos resultaron positivos. (Figura 18).

De los 20 perros que resultaron positivos a los procedimientos serológicos el 45% (9/20), mostraron parasitemia circulando, demostrada en la PCR que se le realizó a las heces de los insectos del xenodiagnóstico.

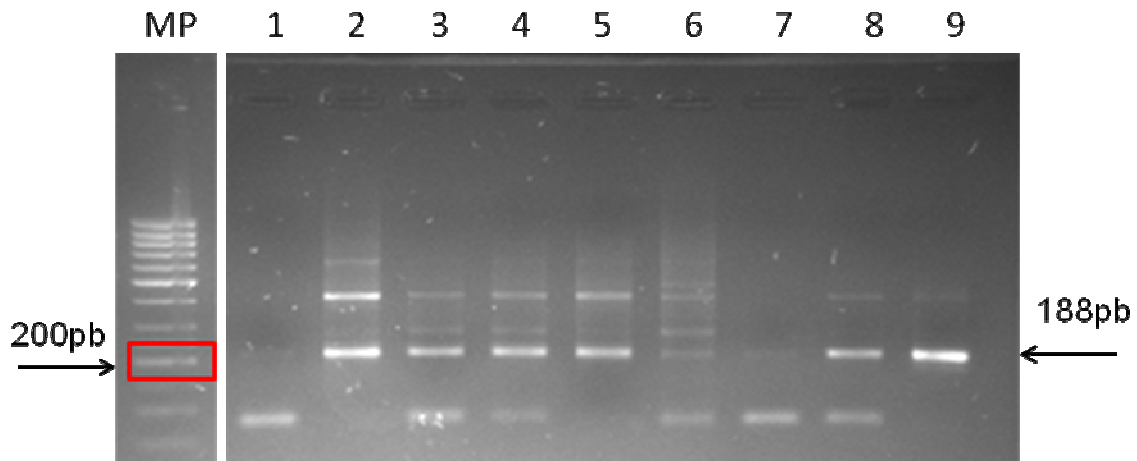


Figura 18. Producto de la amplificación del DNA satélite de *T. cruzi* a partir de heces extraídas de insectos alimentados de perros positivos.

Gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio. Carriles: pb: Marcador de peso molecular de 50 pb, 1: Control negativo, 2,3,4,5,6 y 8: Muestra de *T. maculata* positivas, 7: muestras *T. maculata* negativa, 9: Control positivo

5.8 Análisis geoespacial

El análisis espacial de riesgo de infección con el parásito utilizando el método de interpolación con ponderación por distancia (IDW) mostró que los barrios con mayor riesgo de ocurrencia de perros infectados con el parásito son el 10 de Abril y el Campin (Figura 19B). Los resultados muestran que la distribución de perros infectados esta focalizada al occidente del municipio, mientras que el riesgo espacial de ocurrencia de triatominos infectados con *T. cruzi* está ampliamente distribuido, ya que en siete de los 10 barrios presenta riesgo muy alto de hallar insectos con el parásito (Figura 19C). También se observó que el riesgo de triatominos infectados disminuye hacia la periferia del casco urbano.

En la figura 19D se muestra el mapa de riesgo de transmisión del parásito a los humanos en los siete barrios donde se pudo obtener información conjunta de infección en perros e insectos. Se observa que en el occidente del municipio (10 de Abril, Campin y Santa Lucia) confluyen perros e insecto infectados, por lo tanto presenta una alta probabilidad de circulación del parásito. (Figura 19).

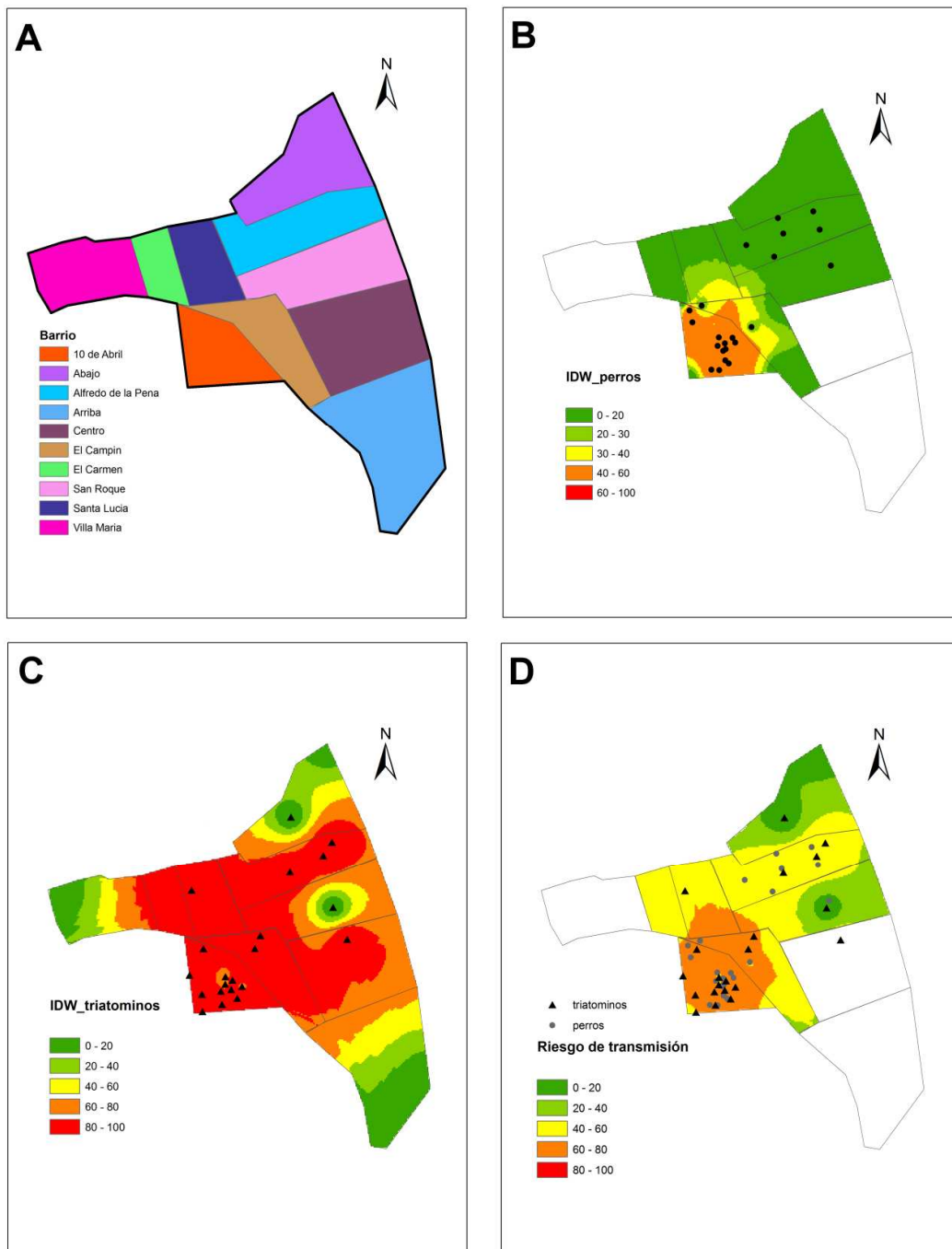


Figura 19. Municipio de Talaigua Nuevo (Mompós, Bolívar)

En donde se muestra: **A.** su perímetro urbano dividido en los 10 barrios; **B.** superficie de riesgo de ocurrencia de perros infectados con *T. cruzi* y los sitios en donde estos se localizaron (círculos negros); **C.** superficie de riesgo de ocurrencia

de triatomíneos infectados con *T. cruzi* y los sitios en donde estos se localizaron (triángulos negros); D. Confluencia de perros e insectos infectados con el parásito. En B, C y D se muestran los menores porcentajes de riesgo de transmisión en color verde y los más altos en color rojo.

6 Discusión

Los programas de control de la transmisión de la enfermedad de Chagas, para interrumpir la transmisión vertical se han enfocado en eliminar vectores domiciliados ya que esta medida en lugares donde los insectos cumplen un ciclo de vida estrictamente domiciliado son las más apropiadas (Ponce 1999, Schofield 2006, WHO 2007), sin embargo nuevos eventos de recolonización por especies silvestres se han venido presentando con regularidad en algunas áreas de centro y sur América (Fé NF et al. 2009). En estos escenarios donde los insectos llegan esporádicamente a las viviendas las capturas por búsqueda activa en los domicilios o peridomicilios son en la mayoría de los casos infructuosas.

Debido a que en la zona de estudio la densidad de insectos que llegan a las viviendas es relativamente baja y por lo tanto las técnicas empleadas para la captura de estos son infructuosas, se planteó la necesidad de crear un programa de vigilancia con ayuda de la participación comunitaria para la recolección o reporte de avistamiento de los mismos. Este tipo de estrategias se ha desarrollado con gran éxito en la misma región geográfica (Cantillo B et al. 2012), donde se implementó un programa en el que los escolares serían los multiplicadores y divulgadores de la información necesaria para prevenir la transmisión de la enfermedad en el municipio, este tipo de estrategias son seguidas en lugares donde la enfermedad de Chagas es endémica, como en zonas con baja densidad de insectos y transmisión extradoméstica (Marreiro y otros, 2009; Crocco y otros,

2005; Sanmartino y Crocco, 2000). Gracias a la campañas de sensibilización realizadas en el lugar de estudio como lo recomendado por Silveira AC (2010), se logró la captura de 86 insectos de tres especies diferentes, *T.maculata*, *E. cuspidatus* y *R.pallescens*, más que los capturado por Cantillo (Cantillo B 2009) en la misma localidad, con participación comunitaria, estos resultados pueden ser debidos a que las campañas de sensibilización continuamente se fueron reforzando, de esta manera las personas de la localidad siempre mantuvieron la información fresca, además las campañas fueron dirigidas a diferentes grupos con diferentes papeles en la comunidad, como las madres cabezas de familia, integrantes de la acción comunal, personal del hospital local, comunidad estudiantil y comunidad en general, gracias a esto el resultados de las capturas mejoro. Esta estrategia ha sido seguida por muchos investigadores en diferentes países con panoramas epidemiologicos similares, es el caso de García (García et al. 1988) en Brasil donde la probabilidad de captura de insectos aumento de 10 a 16 veces más con la ayuda de la comunidad que utilizando el método de búsqueda activa por los investigadores, (Feliciangeli et al 2007), demostró en Venezuela que el método que involucra la participación comunitaria es mucho más eficiente que la búsqueda activa.

6.1 Insectos entregados por la comunidad

Gracias a la ayuda de la comunidad se logró la captura de 82 insectos pertenecientes a la especie *T. maculata*, 3 a la especie *R. pallescens* y 1 individuo de la especie *E. cuspidatus*. El 95.3% de los insectos colectados por la comunidad fue *T. maculata*, todos capturados al interior de las viviendas, no se observó evidencia de domiciliación ya que el 89.28% de los *T. maculata* colectados fueron adultos, los cuales llegaron atraídos a las viviendas por diferentes circunstancias, ya sea en busca de alimento, dispersión activa o atraídos por la luz (Woff M y Castillo D 2000).

La determinación del punto de dispersión de los insectos a las viviendas del municipio de Talaigua Nuevo fue infructuosa. La búsqueda del ecotopo natural de

T. maculata se concentró en lugares donde el insecto había sido reportado en trabajos anteriores como gallineros, palomares y techos construidos con hojas de palmas de *A. butyracea*, como los realizados por Cortes y Suarez (Cortés y Suárez 2005, Cantillo 2009). De igual forma, después de la revisión de publicaciones recientes sobre *T. maculata* en Venezuela (Morocoiama A et al. 2010), la búsqueda se centró en palmas de coco y cortezas de árboles (*Coccus nucifera*), no obstante, el resultado no fue el esperado, ya que el acceso a estas palmas es demasiado difícil por varias razones, una de estas es que las personas utilizan el fruto de esta planta para el consumo y aquellas que nos permitieron procesarla eran palmas de más de 10 metros de alta, por lo que era muy difícil acceder con los implementos que teníamos en la zona.

El ecotopo natural de *T. maculata* en este estudio no se logró determinar, se cree que la presencia de los insectos en los domicilios se puede deber a visitas realizadas desde la zona silvestre o colonias establecidas en algún lugar de los peridomicilios, otra hipótesis planteada es que el punto de dispersión son los techos construidos con hojas de *A. butyracea*, las cuales en la zona de estudio son muy comunes, además tienen las condiciones apropiadas para que los vectores se establezcan, como condiciones microclimáticas estables y una variedad de animales que pueden servir de alimento a los insectos vectores. Adicionalmente el muestreo es difícil ya que para lograrlo tocaría derribar toda la estructura.

T. maculata se considera un vector de *T. cruzi* de segunda importancia en el país (Cantillo y Gómez 2010). En la zona de estudio es el vector con mayor presencia en domicilios y peridomicilios (Cortés y Suárez, 2005; Cantillo et al 2010). El riesgo de infección vectorial por vectores no domiciliados, está definido por factores bióticos y abióticos, que favorecen el contacto de los mismos con población susceptible (Guhl et al 2009), en el presente estudio se encontró a *T. maculata* con altas tasas de infección por *T. cruzi*, visitando las viviendas. En esta misma zona (Cantillo et al. 2010) reportó resultados similares al encontrar una tasa de

infección del 71.4%. Sin embargo en otras zonas del país el papel ecoepidemiológico de *T. maculata* como vector de la enfermedad de Chagas es poco conocido, en trabajos realizados en el lado norte de la Sierra Nevada de Santa Marta por (Parra HG et al. 2009), reportaron que la tasa de infección de *T. maculata* fue del 0%. Igualmente en trabajos realizados en esa misma región de la Sierra Nevada, pero esta vez en comunidades indígenas de Valledupar se encontró a *T. maculata* y otros triatominos con índices de infección del 9.8% (Montilla M et al 2011). Sin embargo en Venezuela en el estado de Anzoátegui, al inspeccionar un total de 14 palmas de coco, se encontró un total de 144 insectos de la especie *T. maculata* con un porcentaje de infección del 70% (Morocoima A et al. 2010), lo que indica que el papel epidemiológico de la especie es complejo.

El 10 de abril fue el barrio que entregó más insectos, seguido por el barrio el Campín, estos dos barrios se encuentran localizados en la periferia del municipio, cerca de la zona silvestre lo cual aumenta el riesgo de visita de los insectos, en trabajos hechos en Yucatan Mexico por (Ramírez MJ et al. 2009) encontraron que las viviendas que se localizan más cerca a la periferia de la localidad y áreas arbustivas tienen dos veces más probabilidad de ser visitadas por insectos no domiciliados que aquellas viviendas localizadas en el centro de la localidad, en este tipo de escenarios donde los triatominos llegan a las viviendas, los primeros en adquirir la infección son los animales domésticos, que en estas zonas son los más expuestos, con la posterior infección a los humanos (Das-Chagas Xavier SC et al. 2012). Esta afirmación se ve soportada por los resultados encontrados en este trabajo donde se encontró una alta cantidad de insectos con hábitos peridoméstico con altas tasas de infección, una prevalencia alta en perros y nula en humanos, este tipo de panorama epidemiológico es muy similar al encontrado en el municipio de Jaguarana en el estado Ceará Brasil, donde encontraron una tasa de infección en insectos del 69% y una prevalencia general en perros y humanos del 21.9% y 1.2% respectivamente. (Lima MM et al 2012).

El diagnóstico de la infección se realizó mediante dos marcadores, que fueron el DNA satélite y la región variable de los minicírculos del kDNA. Aunque los resultados obtenidos con los dos marcadores no tuvieron una concordancia del 100%, se observó una gran sensibilidad de ambos. En este sentido, estudios anteriores realizados en la Parroquia San Miguel en Venezuela utilizando la técnica de PCR con los cebadores 189Fw2/189Rv3 los cuales son específicos en su unión a la secuencia de telómeros del DNA de *T. cruzi* reportaron un porcentaje de infección del 0.36% al evaluar 534 muestras de heces de *T. maculata* (Rojas et al. 2008), en contraste con un 45% obtenido en este trabajo utilizando como marcados el DNA satélite de *T. cruzi*. Por otro lado, el porcentaje de infección obtenido con el kDNA mostró un porcentaje de infección del 61%, que corresponde a un 16% más que con el DNA satélite. Esta diferencia ya había sido reportada por otros autores (Schijman et al. 2011), quienes encontraron que al utilizar diluciones seriadas de los diferentes DTU'S, se obtiene una mayor sensibilidad con la amplificación del kDNA que con la del DNA satélite, para detectar los parásitos pertenecientes al DTU 1, que en Colombia y la región de estudio es el DTU encontrado con mayor frecuencia (Cantillo 2009). Sin embargo, para este último marcador, estos autores reportaron una mayor especificidad, lo que hace más confiable los resultados positivos encontrados en este trabajo. Por otro lado, es importante resaltar que el porcentaje de infección aumento considerablemente cuando se analizaron las muestras por ambos marcadores, indicando que el uso de varios de estos es de gran utilidad al momento de diagnosticar infección por *T. cruzi*, además de confirmar resultados positivos y negativos de los marcadores por separado, aumenta la sensibilidad de cada uno de ellos.

El barrio 10 de abril fue el que mostró una mayor infección por *T. cruzi* en los insectos entregados. La cercanía de este barrio al ambiente silvestre es factor de riesgo importante y podría estar explicando los brotes de Chagas sucedidos en este barrio en años anteriores (Cortes 2005; 2006), donde se reportó el fallecimiento de dos menores de edad con cardiopatía compatible con la

enfermedad de Chagas y serologías positivas en menores de 10 años. Los estudios presentados por Ramírez MJ et al (2009), sugieren que los barrios que se localizan en la periferia de las localidades se deben tener en cuenta para la priorización de las campañas de control vectorial.

6.1.1 Preferencia alimenticia de los insectos recolectados

Con ayuda de la técnica HRM desarrollada en el grupo BCEI se logró determinar las fuentes alimenticias de algunos insectos recolectados por la comunidad. La principal fuente alimenticia encontrada fue gallina, esto es de esperarse de un insecto con hábitos peridomesticos, además *T. maculata* se ha señalado como un insecto con preferencia ornitofílica como lo señalado por (Mojica et al. 2003b, Aldana y Lizano 2003). Sin embargo el 20% de los insectos evaluados se alimentaron exclusivamente de perros, que en estas zonas de estudio son animales que viven en los peridomicilios, por lo tanto ellos son los primeros animales domésticos que se infectan por insectos que llegan del mismo peridomicilio o de ambientes silvestre, lo encontrado en este trabajo se relaciona con lo reportado por (Luitgards M et al. 2005), donde afirma que la ornitofilia de *T. maculata* no es adaptativa si no que por el contraria es oportunista.

Estos resultados sugieren que en la zona de estudio se presenta un ciclo de transmisión de *T. cruzi* peridomestica la cual esta mediada por *T. maculata*. Sin embargo el 10% de los insectos se alimentaron de humanos, no obstante en la región de estudio las personas acostumbran a dormir en hamacas fuera del domicilio, lo que aumentaría la probabilidad de que un insecto se alimente de estos. El hecho de que en el análisis HRM no mostró que los insectos se alimentaran de animales silvestres como zarigüeyas, evidencia el hecho de que en el municipio de Talaigua Nuevo se está presentando un ciclo de transmisión peridoméstico.

En este trabajo se reporta a *T. maculata* alimentándose de perros, indicando que el insecto puede adaptarse a tener de fuente de alimento a los mamíferos de los

peridomicilios (Rojas M E et al. 2008). Estos trabajos demuestran que *T. maculata* presenta comportamientos epidemiológicos diferentes, los cuales pueden estar mediados por características genéticas y ecológicas propias de la zona (Rojas M E et al. 2008). En estudios realizados con *T. maculata* de diferentes áreas geográficas sugieren que diferentes presiones ambientales y ecológicas han conducido a comportamientos biológicos diferentes, lo cual impacta directamente la capacidad vectorial del insecto (Luitgards JF et al 2005)

6.2 Insectos silvestres

Se encontró un total de 38 insectos triatominos en la palma disecada, el 55.2% de los insectos capturados pertenecen a la especie *R. pallenscens*, el cual en la zona de estudio es un vector completamente silvestre pero se considera un factor de riesgo ya que llega esporádicamente a las viviendas con altas tasas de infección por *T. cruzi* y *T. rangeli* (Calzada et al. 2006, Pineda et al. 2008, Cantillo 2009).

En Panamá es el principal vector de la enfermedad de Chagas, sin embargo no se encuentra en los domicilios (Jaramillo et al. 2000). En el presente estudio se encontró una tasa de infección del 62% en *R. pallenscens*, mientras que en estudios realizados en la provincia de Veraguas, Panamá se encontró una tasa de infección del 54.7% al analizar 161 insectos (Saldaña A et al. 2012), a pesar de que en este trabajo *R. pallenscens* tiene niveles de infección más altos que los encontrados por Saldaña, en la zona no tiene una importancia tan grande como en Panamá ya que los insectos se encuentran en palmas muy retiradas de la población.

El 45% de los insectos capturados pertenecieron a la especie *E. cuspidatus*, este insecto en la zona de estudio es completamente silvestre, pero se ha reportado que puede llegar a las viviendas con altas tasas de infección (Cantillo 2009), también se incrimino como el responsable de la transmisión de la enfermedad de

Chagas en Banco Magdalena (Dib 2007). Sin embargo en nuestro trabajo solo un insecto de 17 mostró resultados positivos para la presencia de *T. cruzi* en la heces, en trabajos realizados en la depresión momposina se logró la captura de 42 *E. cuspidatus* infectados con *T. cruzi* (Cantillo et al. 2010).

6.3 Estudio con la población humana

Gracias a la participación del hospital local durante el desarrollo del trabajo, se logró, la obtención de 440 muestras de suero en menores de 14 años de las diferentes escuelas del casco urbano y rural del municipio. Al analizar las muestras por dos técnicas serológicas, ELISA e IFI en busca de anticuerpos contra *T. cruzi* no se logró detectar ningún menor positivo a ambas pruebas diagnósticas. Estos resultados argumentan la idea de que en el municipio de Talaigua Nuevo se está presentando un ciclo de transmisión peridoméstica donde los humanos no están siendo infectados por el parásito sin embargo en este trabajo se encontró que los insectos se están alimentando en menor medida de los humanos por lo que se sugiere que la transmisión de *T. cruzi* en el municipio no es constante. En trabajos realizados en el estado de Roraima Brasil, donde se presenta un panorama epidemiológico similar al encontrado en la zona de estudio, allí las especies más frecuentes son vectores de la enfermedad de Chagas de segunda importancia como *T. maculata*, *R. pictipes*, *R. robustus* y *Pastrongylus geniculatus*, las cuales son silvestres en la mayoría de los casos o peridomesticas, (Luitgards JF et al. 2005) encontró una seroprevalencia del 0% en pobladores autóctonos. Sin embargo (Rojas M E et al. 2008), encontró en el municipio Urdaneta, Estado de Lara, Venezuela, el cual es una zona infestada de *T. maculata* una seroprevalencia general en humanos del 1.57%. Si bien, la prevalencia de infección es similar a la reportada en Venezuela y Brasil, en nuestra zona de estudio se ha presentado transmisión sobre humanos en el pasado reciente (Cantillo 2009). Esto puede obedecer, a que en nuestra zona de

estudio hay una dinámica de transmisión más alta que puede en determinado momento involucrar a la población humana.

6.4 Reservorios

6.4.1 Reservorios silvestres y con cercanía a las viviendas

Con ayuda de trampas Sherman se logró la captura de 10 individuos de la especie *Rattus rattus* los cuales fueron evaluados por hemocultivos para la detección de *T. cruzi* en sangre. Todos los 10 individuos fueron capturados al interior de las viviendas, de los cuales ninguno resultó positivo a la prueba parasitológica realizada. Este tipo de mamífero está muy adaptado a los domicilios, debido al escenario de transmisión peridoméstico que se presenta en el municipio es de esperarse que tengan bajas tasas de infección por *T. cruzi*, estos resultados son soportados por trabajos realizados por Cantillo en la isla de Mompos (Cantillo 2009), donde no se reportó infección por *T. cruzi* en esta especie cuando se analizaron por xenodiagnóstico, otra prueba serológica muy sensible al momento de detectar parásito circulando en sangre (Schenone et al. 1999). Además al momento de conocer las fuentes alimenticias de los insectos de la zona no se encontró evidencia que *T. maculata* se estuviera alimentando de ratas

Los dos individuos de *D. marsupialis*, se capturaron en los patios de las casas del municipio, a los dos individuos se les realizó xenodiagnóstico y hemocultivo, el primer individuo capturado mostró resultados positivos por ambos métodos, mientras que el segundo resultó negativo por las dos técnicas de diagnóstico antes mencionado. Sin embargo, cuando se extrajo secreción de las glándulas odoríferas, se detectó la presencia del parásito por métodos moleculares. La presencia de estos mamíferos en la periferia del pueblo es un gran factor de riesgo para la infección por *T. cruzi* ya que la ruptura de los nidos de amástigotes en los tejidos de las glándulas anales puede facilitar la infección de los humanos ya sea

por contacto con mucosas o alimentos (Deane et al. 1986, Urdaneta M y Nironi 1996, Herrera y Urdaneta M 2000). El hecho que estos mamíferos se adapten con gran facilidad a los ambientes domésticos puede ser un gran factor de riesgo debido a que los didelphidos se consideran un excelente reservorios, esto debido a que lleva muchos millones de años coexistiendo con el parásito. (Briones et al. 1999, Stothard et al. 1999, Buscaglia y Di Noia 2003) .Estos resultados sugieren que en el municipio existe un ciclo de transmisión silvestre, el cual puede ser mediado por insectos vectores o por infección por el líquido de las glándulas odoríferas de las zarigüeyas.

6.5 Reservorios domésticos

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que en la localidad de Talaigua Nuevo existe transmisión activa en reservorios domésticos, la cual esta mediada por *T. maculata*, un vector que en la localidad de estudio no se encontró domiciliado. La prevalencia general encontrada en perros en el lugar de estudio fue del 18,9% (31/164), más altos que el reportado en el estado de Lara, Venezuela 6,36%, con presencia del mismo vector, *T. maculata* (Elena Rojas et al. 2008). Estos resultados respaldan lo que algunos autores denominan nuevos escenarios de transmisión mediado por insectos provenientes de ambientes silvestres o peridomesticos (Franco P 2007; Guhl et al 2009). En estudios realizados en Panamá se encontró una prevalencia relativamente similar a la encontrada en este estudio del 16.2%, sin embargo el principal vector de la enfermedad de Chagas en Panamá es *R. pallescens*, (Pineda V et al 2011).

Los perros en el área de estudio son los animales domésticos más comunes. De acuerdo a los resultados obtenidos, los perros en la localidad no duermen al interior de las viviendas y la mayor parte del tiempo la pasan en los peridomicilios,

comportamiento muy usual en zonas endémicas para la enfermedad de Chagas en Colombia y en otras regiones como en Panamá (Pineda V et al. 2011). La manera en la que los perros viven en estas zonas los hace más propensos a servir de fuente de alimento de los insectos triatominos que viven en los peridomicilios o que llegan atraídos por la luz o por diferentes factores (Pineda et al. 2008), la alta tasa de infección encontrada en la zona de estudio se debe en gran medida al tipo de escenario epidemiológico que se presenta, ya que los insectos con tasas de infección 77.6% viven en el peridomicilio o llegan del hábitat silvestre, debido a esto los animales domésticos tienen más probabilidad de infectarse por *T. cruzi*. En este escenario de transmisión su infección precede a los humanos (Das-Chagas Xavier SC et al. 2012). Esta idea es corroborada por investigadores brasileros que afirman que los perros seropositivos reflejan la exposición a *T. cruzi* y apuntan a la transmisión del parásito a los humanos (Roque LR y Jansen AM 2008). Por lo que este estudio debe servir como un llamado de alerta para diseñar estrategias de intervención lo más pronto posible.

La prevalencia encontrada en el casco urbano de Talaigua Nuevo fue mucho mayor que la hallada en los corregimientos. El 77% de los perros infectados se encuentran en el casco urbano de Talaigua Nuevo, mientras que el 13% de los perros que resultaron positivos se encuentra en el Vesubio y el 10% restante se localizo en el corregimiento de Talaigua Viejo. En la zona rural de Talaigua Nuevo se puede observar que los habitantes no han intervenido en gran medida en la zona silvestre, esto podría explicar porque la prevalencia encontrada en el casco urbano es más alta que la zona rural. El mantenimiento de la biodiversidad se ha planteado como un sistema regulador en la dispersión del parásito, en trabajos realizados en tres zonas biogeograficas de Brasil encontraron que la infección en perros podría estar relacionada con la perdida de riqueza y abundancia de pequeños mamíferos. (Das-Chagas Xavier SC et al. 2012). Por el contrario en el casco urbano de Talaigua Nuevo se puede observar que hay mucha más intervención por parte de los habitantes en la zona silvestre, esto podría aumentar el riesgo de infección por *T. cruzi* ya que los reservorios como los didelphidos y los roedores se pueden establecer de manera muy fácil en los peridomicilios, además

aumentaría la presencia de los insectos en los domicilios con altas tasas de infección, (Das-Chagas Xavier SC et al. 2012), lo que podría explicar los casos de Chagas ocurridos en la zona y reportados por Cortes (Cortes 2005; 2006).

El barrio 10 de abril fue en donde se encontró más perros infectados por *T. cruzi*, el 50% de los perros muestreados mostraron resultados positivos a las dos pruebas serológicas realizadas. Los perros de este barrio tienen más probabilidad de infectarse que los perros que se encuentran en el centro de la localidad ya que pueden ser visitados con más frecuencia por insectos peridomesticos con altas tasas de infección (Ramírez MJ et al. 2009). Los resultados obtenidos con los perros de la localidad refuerzan la idea de que en el municipio se presenta un ciclo de transmisión peridoméstico de *T. cruzi*. Sin embargo la importancia de los perros en el ciclo de transmisión de *T. cruzi* varía entre regiones. En el gran Chaco Argentino los perros tienen alta capacidad de infectar los insectos vectores (Gurtler et al. 2007). En trabajos realizados en Brasil el perro no tiene un gran papel en la dispersión del parásito, ya que los resultados de hemocultivo y visualización directa al microscopio de sangre fresca no resultaron positivos, (Das-Chagas Xavier SC et al 2012). Los análisis mostraron que el 25% de los perros infectados tenían menos de dos años, demostrando que en la zona existe transmisión reciente del parásito, igualmente el 67% de los perros infectados tenían de 1 a 3 años, sin embargo la infección se detectó en todos los rangos de edad evidenciando que en el área de estudio la infección por *T. cruzi* no es un fenómeno nuevo.

Para determinar cuáles son los factores de riesgo que están influyendo en la prevalencia de infección en los perros de Talaigua Nuevo se realizó una encuesta a los dueños de los perros. Según los resultados obtenidos en las encuestas se observó una asociación estadísticamente significativa entre la prevalencia de infección en perros y las variables presencia de nidos de diferentes tipos de aves (no palomas) en los peridomicilios, con un valor p de 0,0349 se observó que los perros que viven en casas con nidos tienen un riesgo 3 veces mayor de infectarse

que aquellos que viven en casas sin nidos. En nuestra zona de estudio el vector que se encontró con mayor frecuencia fue *T. maculata*, el cual en trabajos realizados por (Feliciangeli y Torrealba. 1977, Carcavallo et al. 1998b), encontraron una asociación con nidos de aves y roedores. Al momento de evaluar la variable independiente presencia de gallineros, no se encontró asociación estadística con la prevalencia en perros. Sin embargo, el análisis de las encuestas mostró una asociación muy significativa entre la infección en perros y la presencia de palomares soportada con un valor p de 0.0001. El riesgo de infección por *T. cruzi* es 11.27 veces más alta en aquellas viviendas que tienen palomares en los peridomicilios, que en ausencia de estos figura 16, en trabajos desarrollados en esta misma localidad los investigadores encontraron triatominos en palomares lo que en gran medida soporta nuestros resultados (Cortes 2005; 2006). De los insectos analizados para determinar fuentes alimenticias, ninguno mostró haber estado alimentándose de palomas ya que en las muestras control utilizadas para estandarizar la técnica HRM no se incluyó el DNA de paloma, sin embargo en trabajos realizados en Panamá se encontró que la principal fuente de alimento de *R. pallezens* son las palomas (Christensen HA y de Vasquez AM 1981), en trabajos realizados en la depresión Momposina Cantillo en el 2009 reportó la presencia de *T. maculata* en nidos de palomas (Cantillo 2009).

La infección en perros está estrechamente relacionada con la relación existente que se ha reportado de *T. maculata* con las aves, ya que en este trabajo se encontró dos asociaciones estadísticamente significativas de la prevalencia en perros con los factores de riesgo “palomares y nidos”, estos resultados concuerdan con lo reportado por (Mojica et al. 2003b), donde se encontró esta especie asociada a nidos de *Campylorhynchus griseus* en la Sierra Nevada de Santa Marta. Sin embargo no solo se encontró una asociación de la infección en perros con los hábitos naturales de *T. maculata*, otros factores de riesgo como “localidad y vacuna” también resultaron estadísticamente significante.

Los perros en el casco urbano de Talaigua Nuevo tiene 3.28 veces más riesgo de infectarse por *T. cruzi* que los perros de la zona rural. En trabajos realizados en Brasil por (Das-Chagas Xavier SC et al. 2012), encontraron que en lugares muy intervenidos por el hombre los perros tienen más probabilidad de infectarse que aquellos perros que viven en localidades donde la biodiversidad de pequeños mamíferos es alta, esto podría explicar en gran medida las diferencias en la prevalencia encontrada en perros del casco urbano y rural de Talaigua Nuevo. Además estos resultados se relacionan con los resultados entomológicos ya que más del 90% de los insectos entregados fueron capturados en el casco urbano de Talaigua Nuevo, por lo tanto estos perros van a tener más probabilidad de adquirir la infección por vectores infectados que lleguen a los peridomicilios que los perros de la zona rural.

Con un valor p 0,027 aquellos perros de la localidad de Talaigua Nuevo y sus corregimientos que hayan sido vacunados tienen 7.29 veces mayor probabilidad de infectarse por *T. cruzi* que aquellos perros que no han recibido alguna clase de vacuna. Estos resultados son contradictorios ya que se esperaría que aquellos perros vacunados tengan mayor protección que los que no lo están. Puede ser debido a que los dueños se preocupan más por los perros que muestran físicamente condiciones de salud más bajas y por ello les proveen más cuidados tales como la vacunación.

Para determinar el papel de los perros en el ciclo de transmisión de *T. cruzi* en la comunidad de Talaigua Nuevo se realizó xenodiagnóstico a los perros que mostraron resultados positivos en las pruebas serológicas realizadas. El total de perros positivos fue de 31, sin embargo solo se pudo realizar el xenodiagnóstico a 20 de estos, debido a que los perros restantes no estaban en el municipio o habían muerto por diferentes razones. En total se lograron realizar 20 xenodiagnósticos de los cuales ninguno resultó positivo por revisión directa al microscopio. Sin embargo, cuando se realizó la PCR con el DNA de las heces de los insectos utilizados, se encontró que 9 de los 20 perros amplificaban la banda

de 188 pb correspondiente al DNA satélite de *T. cruzi*. En trabajos realizados por (Kirchhoff LV et al 1996) demostraron que la PCR es mucho más sensible que la examinación de sangre fresca por microscopia para la detección de *T. cruzi* en ratón.

6.6 Análisis geoespacial

Mediante los mapas de riesgo construidos se pudo establecer que la infección en perros e insectos no presentan una distribución espacial homogénea en Talaigua Nuevo, el riesgo de ambas ocurrencias se presenta como eventos locales que se pueden atribuir a las características propias del paisaje del municipio, que en ciertas áreas favorece la ocurrencia de insectos y en otras la ocurrencia de perros. Estos resultados son soportados por las serologías y los índices de infección encontradas en perros e insectos respectivamente. Los barrios de Talaigua Nuevo que presentan mayor riesgo de transmisión por *T. cruzi* son el 10 abril y el Campin, los cuales mostraron mayor índice de infección por triatominos y de infección en perros. La focalización de riesgo se puede deber a características ecoepidemiológicas que presenta estos dos barrios, en primera instancia los dos se encuentran muy cerca a la zona silvestre del municipio, por lo que la dispersión de los insectos y la visita esporádica de animales sinantrópicos como zarigüeyas es más probable que en los barrios del centro. Por otro lado, ambos barrios son los que presentan las condiciones socioeconómicas más bajas del municipio por lo que el establecimiento de colonias de triatominos se puede dar más fácilmente ya que las personas utilizan más materiales naturales para construir sus casas como hojas de palma, madera etc. Otra cuestión a resaltar de estos barrios radica en el hecho que son los que más se inundan en época de invierno por lo tanto aumenta la probabilidad de que los mamíferos e insectos lleguen a los peridomicilios en busca de lugares secos. En trabajos similares en Brasil utilizando análisis geoespaciales, lograron atribuir la seroprevalencia encontrada en perros con la cercanía de las viviendas a los bosques y con la baja riqueza y abundancia de pequeños mamíferos (Das-Chagas Xavier SC et al. 2012). Estos resultados indican que determinar la distribución espacial de los elementos que

componen la cadena epidemiológica de una enfermedad parasitaria en este caso *T. cruzi* es de vital importancia para la identificación de las áreas de riesgo y el posterior planteamiento de programas de control adecuados para la zona (Das-Chagas Xavier SC et al. 2012). En nuestro trabajo se encontró que las hembras de *T. maculata* visitan con más frecuencia las viviendas de los municipios que los machos, en trabajos realizados en México utilizando análisis geoespaciales se encontró que las hembras de *T. dimidiata* visitan con mas frecuencias las viviendas que los machos (Ramírez MJ et al. 2009).

Con los trabajos realizados en el municipio de Talaigua Nuevo se demostró que hay focos de transmisión reciente en los perros, en un ciclo de transmisión peridomestica por *T. cruzi*, el cual están mediado por *T. maculata*. Además se determinó que los perros juegan un papel muy importante en el ciclo de transmisión de *T. cruzi*, ya que por el análisis HRM de fuentes alimenticias se encontró que el 20% de los insectos analizados se alimentaron de perros y probablemente son la fuente de infección del vector, por lo que su papel en el foco de transmisión, fue comprobado, ya que los insectos llegan a las viviendas con tasas de infección del 77.6%. Asimismo, los resultados mostraron que el 45% de los perros infectados tienen parasitemia circulando en sangre, lo cual los convierten en reservorios de la enfermedad de Chagas, ya que podrían infectar con gran facilidad a los vectores peridomesticos que circula en el municipio y de esta manera continuar el ciclo con la posterior infección a los humanos, por estas razones se hace necesaria la intervención sobre estos focos de transmisión para prevenir la aparición de focos sobre humanos, implementando la vigilancia en caninos ya que es una herramienta muy sensible e ideal para este tipo de escenarios epidemiológicos.

7 Conclusiones

- En Talaigua Nuevo y sus corregimientos se determinó que existe transmisión reciente por *T. cruzi* en perros, ya que la mayoría de perros infectados tenían menos de 3 años.
- No se encontró domiciliación por parte de los insectos sin embargo representan un alto riesgo ya que se encontraron con altas tasas de infección por *T. cruzi*, llegando con frecuencia a las casas.
- En el municipio de Talaigua Nuevo se presenta un ciclo de transmisión peridoméstico mediado por *T. maculata*, soportado por los resultados obtenidos con la serología en humanos y perros, HRM y los hemocultivos de ratas.
- La principal fuente de alimento de los insectos entregados por la comunidad fue gallinas seguido por perro, todos animales que viven en los peridomicilios.
- Los perros en la localidad de Talaigua Nuevo representan un alto riesgo ya que por xenodiagnóstico se demostró que tienen parásitos circulando en sangre.
- La presencia de nidos de diferentes aves, al igual que nidos de paloma es un factor de riesgo que aumenta la probabilidad de encontrar perros infectados por *T. cruzi*

- La probabilidad de infección en perros es más alta cuando se vive en el casco urbano de Talaigua Nuevo que en la zona rural.
- La capacitación a la comunidad para la recolección de insectos es una estrategia muy efectiva en lugares donde la densidad de insectos que llegan a las viviendas es muy baja.
- Las estrategias de intervención en el municipio de Talaigua Nuevo se deben enfocar en disminuir la presencia de los factores de riesgo antes mencionados.
- En las periferias de municipio de Talaigua Nuevo circulan mamíferos con altas tasas de infección por *T. cruzi* los cuales pueden infectar a los triatomíneos peridomésticos o causar focos de infección oral.
- Los análisis geoespaciales son una excelente herramienta para identificar zonas de riesgo de infección y por lo tanto aquellas donde las estrategias de intervención se deben enfocar.

8 Perspectivas

- Se debe implementar campañas para la organización y mejoramiento de los peridomicilios en el municipio de Talaigua Nuevo y sus corregimientos, donde se enfoque el esfuerzo en los factores de riesgo encontrados.
- Plantear estrategias para desarrollar campañas enfocadas en mantener la información acerca de la enfermedad de Chagas fresca en la comunidad, todo con el fin de que lo enseñado en este trabajo no sea olvidado con facilidad.
- Establecer la mejor forma para que los perros de la comunidad disminuyan la probabilidad de entrar en contacto con los triatominos peridomésticos.
- Determinar con otros estudios, el ecotopo natural de *T.maculata* para realizar estudios de genética de poblaciones para saber si hay flujo entre poblaciones y también para enfocar el esfuerzo de control vectorial en esas poblaciones.
- Desarrollar un programa continuo de vigilancia entomológica de diferentes enfermedades transmitidas por vectores en el municipio de Talaigua Nuevo y sus corregimientos.

9 Agradecimientos

Los fondos para esta investigación fueron aportados por el Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) de la Universidad de Antioquia. Este proyecto se realizó con gran éxito gracias a la ayuda de la secretaria de salud de Cartagena la cual nos apoyo en gran medida con ayudantes de campo para la toma de las diferentes muestras biológicas. Al técnico de salud de Talaigua Nuevo, Wilfrido Duran por su gran aporte logístico al desarrollo del proyecto. Al secretario de salud Alexis de la Peña por el compromiso que adquirió con el proyecto en el tiempo que se desarrollo el mismo. Al hospital local del municipio por brindarnos las instalaciones para procesar las muestras. Además se agradece enormemente el apoyo y consejos brindados a lo largo del desarrollo de este trabajo por parte del grupo de investigación Biología y Control de Enfermedades Infecciosas (BCEI) en especial de Omar Cantillo Barraza y el Dr. Omar Triana.

10 Bibliografía

Aldana E y Lizano E. 2003. Índice de defecación y éxito reproductivo de *Triatoma maculata* (Hemiptera: Reduviidae) en condiciones de laboratorio. *Rev. Biol.Trop.*, 52: 927-930.

Anon. 1999. Recommendations from a satellite meeting. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 94,429_432.

Avila H, Antonio M, Nehme NS, Morel CM y Simpson L. 1990. Schizodeme analysis of *Trypanosoma cruzi* stocks from South and Central America by analysis of PCR-amplified minicircle variable region sequences. *Mol. Biochem. Parasitol.* 42, 175–187.

Ayala JM. 2009. Una nueva especie de *Panstrongylus Berg* de Venezuela. (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae), *Entomotropica* 24: 105

Briones MR, Souto RP, Stol, BS, Zingales B. 1999. The evolution of two *Trypanosoma cruzi* subgroups inferred from rRNA genes can be correlated with the interchange of American mammalian faunas in the Cenozoic and has implications to pathogenicity and host specificity.

Brisse S, Verhoef J, Tibayrenc M. 2001. Characterisation of large and small subunit rRNA and mini exon genes further supports the distinction of six *Trypanosoma cruzi* lineages. *Int. J. Parasitol.* 31, 1218_1226.

Buscaglia CA, Di Noia JM. 2003. *Trypanosoma cruzi* clonal diversity and the epidemiology of Chagas' disease. *Microbes Infect* 5, 419_427.

Calzada JE, Pineda V, Montalvo E, Alvarez D, Santamaría AM, Samudio F, Bayard V, Cáceres L, Saldaña A.2006. Human Trypanosome infection and the presence of intradomicile *Rhodnius pallescens* in the Western Border of the Panama Canal, Panama. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 74, 762–765.

Cantillo B, Sanmartino M, Chica JV, Triana CO. 2012. Hacia el desarrollo de una cultura científica local para hacer frente a la problemática del Chagas Resultados preliminares de una experiencia con jóvenes de la región Caribe colombiana. *REVISTA IBEROAMERICANA DE EDUCACIÓN.* N.º 58 (2012), pp. 119-133 (1022-6508) - OEI/CAEU.

Cantillo-Barraza Omar, Gómez-Palacio Andrés, Salazar Diego, Mejía-Jaramillo Ana María, Calle Jaime, Triana Omar. 2010. Distribución geográfica y

ecoepidemiología de la fauna de triatominos (Reduviidae: Triatominae) en la Isla Margarita del departamento de Bolívar, Colombia. *Biomedica* 2010;30;382-89.

Cantillo Omar y Gómez Andrés. 2010. Ecoepidemiología de vectores secundarios para la enfermedad de Chagas en Colombia. En: Cantillo O y Gómez A, editores. *Fronteras de investigación en enfermedades infecciosas. Modelos enfermedad de Chagas.* Medellín (Colombia). Universidad de Antioquia (Colombia). P 45 – 68.

Cantillo-Barraza 2009. Eco-epidemiología de la enfermedad de Chagas en la Isla de Mompós (Isla Margarita). Trabajo para optar el título de Maestría en Biología.

Carcavallo ME, Rodríguez F, Salvatella R, Curto de Casas SI, Sherlock IA, Galvão C, Rocha DS, Galíndez Girón I, Otero Arocha MA, Martínez A da Rosa, D.M. Canale, T.H. Farr and J.M.S. Barata In: R.U. Carcavallo, I. Galíndez Girón JÁ, Jurberg J, Lent H. 1998b. Habitats and Related Fauna. *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas*, 2: 561–600.

Carcavallo RU, Curto de Casas SI, Sherlock IA, Galíndez Giron, Jurberg J, Galvao C, et al. 1999. Geographic distribution and alti latitudinal dispersion. In: Carcavallo, R.U, Galíndez Giro'n, I, Jurberg, J, Lent, H. (Eds.), *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas*, vol. II. Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil, pp. 747_792.

Chagas CRJ. 1909. Nova tripanosomiase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n.g, n.sp, agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1, 159_218 [online].

Christensen HA & Vazquez A M. 1981. Host feeding profiles of *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae) in rural villages in central Panama. *American J. Trop. Med.* 30 (1): 278-283.

Cortés L, Suárez H. 2005. Triatomíneos (Reduviidae: Triatominae) en un foco de enfermedad de Chagas en Talaigua Nuevo (Bolívar, Colombia). *Biomédica* 2005;25:568-74 *Biomédica* 25:568-74.

Cortés L. 2006. Triatomíneos (Reduviidae: Triatominae) en (Mompox Bolívar, Colombia). Resumen XXXIII Congreso de Entomología. SOCOLEN. Sociedad Colombiana De Entomología. Manizales – 26, 27 y 28 de Julio de 2006. pag 100.

Crocco, Liliana y otros 2005. Enfermedad de Chagas en Argentina: herramientas para que los escolares vigilen y determinen la presencia de factores de riesgo en sus viviendas. *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 21, n.o 2, pp. 646-51.

Das Chagas Xavier Samanta Cristina, Rodrigues Roque Andre Luiz, Lima Valdirene dos Santos, Lima Monteiro Kerla Joeline, Rodrigues Otaviano Joel Carlos, Ferreira da Silva Luiz Felipe Coutinho, Jansen Ana Maria. 2012. Lower Richness of Small Wild Mammal Species and Chagas Disease Risk.

Deane M, Lenzi HL, y Jansen AM. (1986). Double development cycle of *Trypanosoma cruzi* in the opossum. *Parásitol. Today.* 2: 146-147.

Dib JC. 2007. Epidemiología Molecular De Trypanosoma Cruzi En El Caribe Colombiano. Tesis Para Obtener El Título De Doctorado

Fé NF, Franca MS, Carvalho-Costa FA. 2009. Reassessing the entomological investigation around the first autochthonous case of Chagas disease in Western Brazilian Amazon. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009;104:121–3.

Feliciangeli MD, Sanchez-Martin M, Marrero R, Davies C, Dujardin J-P. 2007. Morphometric evidence for a possible role of *Rhodnius prolixus* from palm trees in house re-infestation in the State of Barinas (Venezuela). *Acta Trop* 2007; 101(2):169-77.

Feliciangeli MD, Torrealba JW. 1977. Observaciones sobre *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae) en su biotopo silvestre *Copernicia tectorum*. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb*, 17: 198-205.

Franco-Paredes C, Von A, Hidron A, Rodríguez-Morales A J, Tellez I, Barragán M, Danielle J, Náquira CG y Mendez J. 2007. Chagas disease An impediment in achieving the Millennium Development Goals in Latin America. *BMC International Health and Human Rights*.

Frías-Lasserre D.2010. A new species and karyotype variation in the bordering distribution of *Mepraia spinolai* (Porter) and *Mepraiagajardo* Frías *et al* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Chile and its parapatric model of speciation. *Neotrop. entomol.* 9: 572-583.

Galvao C, Carcavallo R, Rocha DS, Jurberg J. 2003. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographic distribution, with nomenclature and taxonomic notes. *Zootaxa* 202, 1_36.

Garcia Zapata MT, Marsden PD. 1988. Epidemiological vigilance with community participation in the control of the vectors of Chagas' disease in Goias, Central Brazil. *Rev Argent Microbiol* 1988; 20(Suppl. 1): 106-17.

Guhl F, Aguilera G, Pinto N, Vergara D. 2007. Actualización de la distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatominos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia *Biomédica*;27 (supl. 1):143-62.

Guhl F, Pinto N, Aguilera G. 2009. Sylvatic triatominae: a new challenge in vector control transmission. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 104 (Suppl. 1), 71_75

Gurtler RE, Cecere MC, Lauricella MA, Cardinal MV, Kitron U, Cohen JE. 2007. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parásitology* 134, 69–82.

Herrera L. 2010. Una revisión sobre reservorios de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas. *Boletín De Malariología y Salud Ambiental* Vol. L, Nº 1, Enero-Julio, 2010.

Herrera L y Urdaneta-Morales S. 2000. Avances en la caracterización de biotopos de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* aislado de urbanizaciones y parques recreacionales del valle de Caracas (Venezuela). *Act. Biol. Venez.* 20: 45-51.

Hoare C. (1972). *The Trypanosomes of Mammals. A Zoological Monograph.* Blackwell Scientific Publication, Oxford, U.K.

Jaramillo N, Schofield CJ, Gorla D, Caro-Riaño H, Moreno J, Mejía E, Dujardin JP. 2000. The role of *Rhodnius pallescens* as a vector of Chagas disease in Colombia and Panama. *Research and Reviews in Parasitology*, 60: 75-82.

Jurberg J, da Silva D, Galvão C. 2009. *Rhodnius zeledoni* sp.nov. afim de *Rhodnius paraensis* Sherlock, Guitton & Miles, 1977 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Biota Neotrop* 9:123-128.

Kirchhoff LV, Votava JR, Ochs DE, y Moser DD R. 1996. Comparison of PCR and Microscopic Methods for Detecting *Trypanosoma cruzi*.

Lent H y Wigodzinsky P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vector of Chagas disease. *Bull. Am. Nat. Hist.* 163: 123-520.

Lima M M, Sarquis O, De liveira TG, Gomes T F, Coutinho C, Daflon-Teixeira NF, Toma HK , Britto C ,Teixeir BR, D'Andrea PS, Janse A M, Bóia M N, Carvalho-Costa FA. 2012. Investigation of Chagas disease in four periurban areas in northeastern Brazil: epidemiologic survey in man, vectors, non-human hosts and reservoirs.

Londoño F. 2004. Metodología de la investigación epidemiológica. Tercera edición. Editorial Manual Moderno, Bogotá 2004.

Luitgards-Moura Jf , Vargas BA, Almeida CE, Gleidson ME, Agapito-Souza R, Folly-Ramos EI, Costa J, Tsouris P, Rosa-Freitas MGA. 2005. *Triatoma maculata* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) Population from Roraima, Amazon Region, Brazil, has Some Bionomic Characteristic of a Potential Chagas Disease Vector.

Malafaia G, & Rodrigues AS. 2010. [Centenary of the discovery of Chagas disease: challenges and prospects]. *Rev Soc Bras Med Trop*, 43(5), 483-485.

Marreiro Villela, Marcos y otros 2009. Avaliação de conhecimentos e práticas que adultos e crianças têm acerca da doença de Chagas e seus vetores em região

endémica de Minas Gerais, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 25, n.o 8, pp. 1701-10.

Miles MA, Povo MM, Prata A, Cedillos RA, Desouza AA, Macedo V. 1981. Do radically dissimilar *Trypanosoma cruzi* strains (zymodemes) cause Venezuelan and Brazilian forms of Chagas disease. *Lancet* 1, 1338_1340.

Miles MA, Tøye PJ, Oswald SC, Godfrey DG. 1977. The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independently in a rural area of Brazil. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 71, 217_225.

Mojica MT, Cuervo LA, Dib JC, Guhl F. 2003. Dinámica poblacional de *Triatoma maculatak* (Ericsson, 1948), Hemiptera, Reduviidae, a nivel del domicilio, peridomicilio y silvestre en la bahía de Taganga, Santa Marta, Colombia, Resúmenes XXX congreso SOCOLEN p. 63.

Moncayo A y Silveira A C. 2009. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 104 Suppl 1, 17-30.

Montilla Marleny, Soto Hugo, Parra Edgar, Torres Mariela, Carrillo Pilar, Lugo Ligia, Colorado Johana, Arias Maria Teresa. 2011. Infestation by triatomine bugs in indigenous communities of Valledupar, Colombia.

Morocoima A, Chique J, Zavala-Jaspe R, Díaz-Bello Z, Ferrer E, Urdaneta-Morales S y L. Herrera 2010. Commercial coconut palm as an ecotope of Chagas disease vectors in north-eastern Venezuela.

Moser David R, Kirchhoff Louis V y Donelson John E. 1989. Detection of Trypanosoma cruzi by DNA Amplification Using the Polymerase Chain Reaction. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, July 1989. p. 1477-1482.

Noireau F, Diosque P & Jansen AM. 2009. Trypanosoma cruzi: adaptation to its vectors and its hosts. Vet. Res. 40: 26.

PAHO Pan American Health Organization, 2009. Doença de Chagas guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas aguda transmitida por alimentos. 92 p. Available at: [http://bvs.panalimentos.org/local/File/Guia Doença Chagas 2009.pdf](http://bvs.panalimentos.org/local/File/Guia%20Doença%20Chagas%202009.pdf)

Parra-Henao G, Angulo V, Jaramillo N, Restrepo I, Macos AR .2009. Triatominos (Hemiptera: Reduviidae) de la Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. Aspectos epidemiológicos, entomológicos y de distribución. CES Medicina, vol. 23, núm. 1, enero-junio, 2009, pp. 17-26 Universidad CES Medellín, Colombia.

Pineda V, Saldaña A, Monfante I, Santamaria A, Gottdenker N.L, Yabsley M.J, Rapoport G, Calzada J.E. 2011. Prevalence of trypanosome infections in dogs from Chagas disease endemic regions in Panama, Central America. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 44(6):703-707, nov-dez, 2011.

Pineda V, Montalvo E, Alvarez D, Santamaria AM, Calzada JE, Saldaña A. 2008. Feeding sources and trypanosome infection index of *Rhodnius pallescens* in a Chagas disease endemic area of Amador County, Panama. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 50, 113–116.

Ponce C.1999. Elimination of the vectorial transmission of Chagas disease in Central American countries: Honduras. Mem Inst Oswaldo Cruz. 94: 417–418.

Ramirez-Sierra M J, Herrera-Aguilar M, Gourbiere S and Dumonteil E. 2009. Patterns of house infestation dynamics by non-domiciliated *Triatoma dimidiata* reveal a spatial gradient of infestation in rural villages and potential insect manipulation by *Trypanosoma cruzi*. *Tropical Medicine and International Health*. volumen 15 no 1 pp 77–86 january 2010.

Rojas María Elena, Várquez Philricar, Villarreal María Fernanda, Velandia Carlos, Vergara Luis, Morán-Borges Yeinmy Heliannie, Ontiveros Judith, Calderón María Yelitza, Chiurillo-Siervo Miguel Ángel, Rodríguez-Bonfante Claudina del Carmen, Aldana Elis, Concepción Juan Luis, Bonfante-Cabarcas Rafael Armando. 2008. Estudio seroepidemiológico y entomológico sobre la enfermedad de Chagas en un área infestada por *Triatoma maculata* (Erichson 1848) en el centro-occidente de Venezuela.

Romaña C, Emperaire L, Cansen AM. 2003. Enfoques conceptuales y propuestas metodológicas para el estudio de las interacciones entre el medio ambiente y la salud: aplicación a un programa de investigación sobre la tripanosomiasis americana. *Cad. Saúde Pública* vol.19 no.4 Rio de Janeiro July/Aug.

Roque André Luiz R y Jansen Ana Maria. 2008. Importância dos animais domésticos sentinelas na identificação de áreas de risco de emergência de doença de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*

Saldaña A, Pineda V, Martinez I, Santamaria G, Santamaria A M, Miranda A, Calzada J E. 2012. A New Endemic Focus of Chagas Disease in the Northern Region of Veraguas Province, Western Half Panama, Central America.

Sanmartino Mariana y Crocco Liliana 2000. □Conocimientos sobre la enfermedad de Chagas y factores de riesgo en comunidades epidemiologicamente

diferentes de Argentina. *Revista Panamericana de Salud Pública*, vol. 7, n.o 3, pp. 173-1.

Schenone H. 1999. Xenodiagnosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Río de Janeiro, 94: 289-294.

Schijman GA, Bisio M, Orellana L et al. 2011. International Study to Evaluate PCR Methods for Detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in Blood Samples from Chagas Disease Patients. January 2011 | Volume 5 | Issue 1 | e931.

Schoijet A. 2009. Vías de transducción de señales mediadas por AMP cíclico y fosfoinosítidos en *trypanosoma cruzi*. Tesis de Doctorado. *Universidad de Buenos Aires*.

Schofield CJ. 2000. *Trypanosoma cruzi* The vector_parasite paradox. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 95, 535_544.

Schofield CJ y Galvão C. 2009. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. *Acta Trop*, 110(2-3), 88-10.

Schofield CJ, Dolling WR. 1993. Bedbugs and kissing bugs (bloodsucking Hemiptera). In: Lane, R.P., Crosskey, R.W. (Eds.), *Medical Insects and Arachnids*. Chapman and Hall, London, UK, pp. 483_516.

Schofield CJ, Jannin J y Salvatella R. 2006. The future of Chagas disease control. *TRENDS in Parasitology* Vol.22 No.12.

Silveira AC 2010. LINEAMIENTOS Y RECOMENDACIONES TÉCNICAS Y DE POLÍTICA PÚBLICA PARA EL ABORDAJE DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Stothard JR, Frame IA, Miles MA. 1999. Genetic diversity and genetic exchange in *Trypanosoma cruzi*: dual drug resistant “progeny” from episomal transformants. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 94 (Suppl. 1), 189_193.

Telleria Jenny and Tibayrenc Michel. 2010. American Trypanosomiasis Chagas Disease One Hundred Years of Research.

Urdaneta-Morales S y McLure I. 1981. Experimental infections in Venezuelan lizards by *Trypanosoma cruzi*. Acta Trop. 38: 99-105.

Urdaneta-Morales S y Nironi I. 1996. *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of urban opossums. Isolation and experimental infections. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 91: 399-403

World Health Organization. UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases., & Pan American Health Organization. 2007. Reporte del grupo de trabajo científico sobre la enfermedad de Chagas : 17-20 de abril de 2005, actualizado en julio de 2007, Buenos Aires, Argentina. Geneva: World Health Organization.

Wolff Marta y Castillo Diana. 2000. "Algunos aspectos del comportamiento de los Triatominos (Hemíptera:Reduviidae), vectores de la enfermedad de chagas" . En: Colombia Biomédica ISSN: 0120-4157 ed: Instituto Nacional de Salud v.20 fasc. p.59 - 64 ,2000.

Zingales B, Andrade S G, Briones M R, Campbell D A, Chiari E, Fernandes O et al. (2009). A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. Mem Inst Oswaldo Cruz, 104(7), 1051-1054.

11 Anexos

Encuesta de animales domésticos (perros)

Localidad _____

Jefe de Familia _____

Nº de perros de la propiedad de la familia _____ Código de la muestra tomada _____

Nombre del perro _____ Sexo: M ___ F ___

Edad _____ Estado general del animal: BUENO _____ REGULAR _____ MALO _____

El perro fue vacunado alguna vez? SI ___ NO ___

¿Viajó a otras localidades desde que nació? SI ___ NO ___

Si la respuesta fue **SI**, continué con la siguiente, si respondió no pase a la 5

¿Dónde estuvo _____

¿Cuánto tiempo estuvo _____

Nació en: 1. Talaigua Nuevo _____ 2. Talaigua viejo _____ El Vesubio _____

3. Otros _____

Función del perro: 1 Guardián en la casa _____ Cazador _____ Ninguna _____ Guardián en la finca _____

Se alimenta de: 1. Sobrados de comida _____ 2. Carne _____ 3. Purina _____ 4. Otros _____

¿Dónde duerme: Cuartos _____ En el patio _____ Sala _____ Cocina _____

¿Ha visto alguna vez al perro comer Mamadores? SI ___ NO ___

¿Hay gallineros en la vivienda Si ___ No ___

¿Hay palomares en la vivienda Si ___ No ___

¿Hay palmas de coco en el patio de la vivienda? SI ___ NO ___

¿Hay palo de Jobo en las cercas o patios Si ___ No ___

¿Hay nidos de pájaros en arboles cerca a la casa Si ___ No ___

¿De que material está construido la cerca del patio? 1. Ladrillo _____ 2. Piedra _____

3. Material Vegetal _____

SOLO PARA HEMBRAS

Tiene crías vivas? SI ___ NO ___

Nombre _____ donde vive _____

Nombre _____ donde vive _____

Firma del encuestador _____



Controlemos la enfermedad de Chagas

La Enfermedad de Chagas es causada por un parásito que transmiten estos insectos. Que están Talaigua.



Todos nos pueden picar y enfermar

Infórmanos si están en tu casa

Búscalos en los gallineros, palomares, debajo de ladrillos, pilas de leña, en la rendija de la cama.

•Guárdalos en un pote pequeño mácalo y entrégalos a Wicho Durán.



En la Universidad los estudiamos
Tomaremos muestras para diagnosticar la enfermedad

Si te ha picado en los últimos 6 meses, dile a l médico.

Si es necesario fumigaremos

