Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis Doctoral

Ciclo silvestre de transmisión de Trypanosoma cruzi en el noroeste de Argentina

Ceballos, Leonardo Adrián

2010

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:
Ceballos, Leonardo Adrián. (2010). Ciclo silvestre de transmisión de Trypanosoma cruzi en el noroeste de Argentina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:
Ceballos, Leonardo Adrián. "Ciclo silvestre de transmisión de Trypanosoma cruzi en el noroeste de Argentina". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2010.

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Ecología, Genética y Evolución

CICLO SILVESTRE DE TRANSMISIÓN DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EN EL NOROESTE DE ARGENTINA

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Ciencias Biológicas.

LEONARDO ADRIÁN CEBALLOS

Director de Tesis y consejero de estudios: Dr. Ricardo E. Gürtler

Lugar de Trabajo: Laboratorio de Eco-Epidemiología

Buenos Aires, junio de 2010

Ciclo silvestre de transmisión de **Trypanosoma cruzi** *en el noroeste de Argentina*

RESUMEN

La enfermedad de Chagas mantiene ciclos de transmisión tanto domésticos como silvestres. Con el fin de avanzar en el conocimiento sobre el ciclo silvestre de transmisión de *T. cruzi* en la región del Gran Chaco, se realizaron los siguientes estudios:

a) **Prevalencia de infección por *T. cruzi* en mamíferos silvestres tras dos décadas de control vectorial sostenido de *T. infestans***. Se determinó la prevalencia de infección de *T. cruzi* en mamíferos silvestres alrededor de ocho parajes rurales en una zona semiárida de Santiago del Estero entre 2002-2007, donde los tres parajes núcleo del área habían sido estudiados con el mismo objetivo dos décadas atrás (1984-1991). Se observaron variaciones a largo plazo en la dinámica e intensidad de la transmisión silvestre de *T. cruzi* al comparar ambos períodos. Se analizaron mediante xenodiagnóstico 605 mamíferos silvestres pertenecientes a 19 especies identificadas. Solo 4 (9,1%) de 48 zarigüeyas (*Didelphis albiventris*) y 1 (0,9%) de 107 zorrinos (*Conepatus chinga*) estuvieron infectados por *T. cruzi*. La prevalencia de infección por *T. cruzi* de las zarigüeyas del periodo entre 2002-2007 fue casi cuatro veces menor que en 1984-1991 y aumentó con la edad; la mayor prevalencia se detectó en primavera y la menor en otoño en ambos periodos de estudio. La prevalencia de infección de los zorrinos también disminuyó cinco veces entre ambos periodos. La fuerza de infección promedio de las zarigüeyas cayó más de 5 veces, desde 8,2 por cada 100 meses-zarigüeya entre 1988-1991 a 1,6 entre 2002-2007. En ambos periodos la Unidad Discreta de Tipificación (UDT) predominante en las zarigüeyas fue TcI, mientras que en los zorrinos fue TcV entre 1984-1991 y TcIII entre 2002-2007. Se discute si la deforestación masiva, cambios en la fauna silvestre y la muy reducida infestación por *T. infestans* en hábitats domésticos y peridomésticos desde 1992 hasta 2007 (debido al control vectorial por rociados con insecticidas) podrían explicar la importante disminución de la infección por *T. cruzi* en sus principales reservorios silvestres.

b) **Estudio de focos silvestres de *T. infestans* y otros triatominos en el chaco seco santiagueño**. Se realizaron búsquedas de triatominos en el medio silvestre con el fin de investigar cuál o cuáles eran los vectores involucrados en la transmisión de *T. cruzi*. El principal resultado fue el inesperado hallazgo de varias colonias de *T. infestans* alejadas hasta 1.900 m de las casas más cercanas, y a 2.300 m de la casa más cercana con infestación detectada en las evaluaciones entomológicas después de un rociado de insecticidas con poder residual de todas las viviendas realizado 18 meses previos al hallazgo. Este es el primer hallazgo confirmado de múltiples colonias de *T. infestans* en hábitats silvestres fuera de

Bolivia. A diferencia de otras capturas aisladas de *T. infestans* en el pasado, los hallazgos presentes de *T. infestans* en hábitats silvestres se realizaron en el contexto de la fase de vigilancia, con muy pocos focos (peri)domésticos de baja densidad en un bosque xerófilo secundario con diferentes grados de degradación. De los 174 triatominos silvestres totales capturados (24 *Triatoma infestans*, 138 *Triatoma guasayana*, 4 *Triatoma garciabesi*, 1 *Triatoma platensis* y 7 ninfas pequeñas no identificadas), 7 *T. guasayana* y 2 *T. infestans* fueron detectadas infectadas por *T. cruzi* mediante PCR-kADN. Estudios complementarios realizados con marcadores de ADN mitocondrial y de microsatélites, morfometría geométrica de alas y análisis espacial, permitieron concluir que los *T. infestans* hallados en hábitats silvestres muy probablemente eran derivados de poblaciones (peri)domésticas. Se discute si los hábitats silvestres proveerían un refugio efímero o permanente para las poblaciones (peri)domésticas de *T. infestans* después de las intervenciones con insecticidas y si las colonias serían viables en ausencia de inmigración.

c) **Estudio de focos silvestres de *T. infestans* melánicos en el chaco argentino**. Siguiendo la identificación tentativa como *T. infestans* de dos triatominos melánicos colectados de nidos de loros en una reserva natural protegida del chaco argentino, se realizó una búsqueda intensiva dirigida a su captura. El muestreo abarcó tanto árboles con nidos de psitácidos (i.e., *Amazona aestiva* y *Aratinga acuticaudata*) como otros ecotopos (i.e., árboles vivos o muertos y troncos, ambos en pie o en el suelo, etc.). De un total de 33 triatominos silvestres capturados, 14 eran *T. infestans*. Todos los *T. infestans* adultos o ninfas que se pudieron criar hasta adulto fueron melánicos. La mayoría (64%) de los triatominos (incluyendo 10 *T. infestans*) fueron colectados de huecos en troncos de quebrachos que albergaban nidos de loros. Todos los *T. infestans* colectados en la vivienda infestada más cercana, localizada a 8 km del foco silvestre más cercano, mostraron caracteres cromáticos normales. Éste es el primer hallazgo confirmado de colonias de *T. infestans* en hábitats silvestres y melánicos (‘dark morphs’) en el chaco argentino.

Los resultados aquí presentados refuerzan el rol que tienen de las zarigüeyas (*D. albiventris*) como hospedador silvestre de *T. cruzi*, ponen en relieve el hecho que existen focos silvestres de *T. infestans* mucho más frecuentemente que lo aceptado hasta ahora, remarcando una potencial fuente de reinfestación del ambiente humano habitualmente no tenida en cuenta por los programas de control vectorial, y apoyan la hipótesis que *T. guasayana* es el principal vector silvestre de *T. cruzi* en el área.

PALABRAS CLAVE: Enfermedad de Chagas, *Triatoma infestans*, focos y reservorios silvestres, transmisión vectorial, deforestación, cambio ambiental, Santiago del Estero, Chaco, Gran Chaco.

The sylvatic transmission cycle of **Trypanosoma cruzi** *in Northwest Argentina*

SUMMARY

Chagas disease has both domestic and sylvatic transmission cycles. In order to have a better understanding of the sylvatic transmission cycle of *T. cruzi* in the Gran Chaco region, the following studies have been carried out:

a) **Prevalence of infection with *T. cruzi* in wild mammals after two decades of sustained vector surveillance of *T. infestans*.** The prevalence of infection with *T. cruzi* in wild mammals was determined in eight rural villages in a semiarid region of Santiago del Estero during the years 2002-2007. The 3 central villages in the study area had been studied with the same goal two decades before (1984-1991). Long-term variations in the dynamics and intensity of the sylvatic transmission of *T. cruzi* were observed when comparing the two time periods. A total of 605 wild mammals divided into 19 identified species was examined by xenodiagnosis. Only 4 (9.1%) of 48 opossums (*Didelphis albiventris*) and 1 (0.9%) of 107 skunks (*Conepatus chinga*) were infected with *T. cruzi*. The prevalence of infection with *T. cruzi* in opossums during the period 2002-2007 was almost 4 times lower than during 1984-1991 and increased with age; the highest infection prevalence was detected in spring and the lowest in the fall in both study periods. The prevalence of infection in skunks was also 5 times lower when comparing the two time periods. The average force of infection in opossums decreased more than 5 times, from 8.2 per 100 opossum-months during 1988-1991 to 1.6 during 2002-2007. In both periods the main Discrete Typing Unit (DTU) in opossums was TcI whereas in skunks was TcV during 1984-1991 and TcIII during 2002-2007. We bring into discussion whether massive deforestation, changes in wildlife and the very reduced infestation with *T. infestans* in domestic and peridomestic habitats from 2002 to 2007 (due to vector control with insecticide spraying), could explain the dramatic decrease of *T. cruzi* infection in the main sylvatic reservoir hosts.

b) **Study of sylvatic foci of *T. infestans* and other triatomines in Santiago del Estero's arid chaco.** Searches of triatomines in the wild were undertaken in order to assess which were the vectors involved in the transmission of *T. cruzi*. The main result was the unexpected finding of several *T. infestans* colonies located up to 1900 m of the nearest house, and more than 2 km from the nearest house with infestation detected during the previous 18 months after a community-wide residual spraying with insecticides. This is the first confirmed finding of multiple *T. infestans* colonies in wild habitats outside Bolivia. Unlike previous, isolated captures of *T. infestans*, the present findings of *T. infestans* in wild habitats were

obtained in the context of surveillance efforts, when very few (peri)domestic foci *T. infestans* with low-density occurred in a secondary xerophytic forest. Among the 174 triatomines captured (24 *T. infestans*, 138 *Triatoma guasayana*, 4 *Triatoma garciabesi*, 1 *Triatoma platensis* and 7 unidentified small nymphs), *T. cruzi* infection was detected by kDNA-PCR in 7 *T. guasayana* and 2 *T. infestans*. Further complementary studies done with mitochondrial DNA markers and microsatellites, wing geometric morphometry and spatial analysis, led to the conclusion that the *T. infestans* found in wild habitats were probably derived from (peri)domestic populations. We discuss whether wild habitats provide an ephemeral or permanent refuge for (peri)domestic *T. infestans* populations after the intervention with insecticides, and whether the colonies would be viable in the absence of immigration.

c) **Study of sylvatic foci of dark morphs *T. infestans* in argentine chaco**. Taking into account the tentative identification of two dark morph specimens that were collected from parrots' nests in a natural protected reserve of the Argentine chaco as *T. infestans*, intensive searches towards its capture were undertaken there. The search sites comprised trees with psitacids nests (i.e., *Amazona aestiva* y *Aratinga acuticaudata*) as well as other ecotopes (i.e., living or dead trees and trunks, standing or on the ground, etc). Of 33 wild triatomines captured, 14 were *T. infestans*. All the adult *T. infestans* or nymphs that succeeded in growing to the adult stage were dark morphs. Most of the triatomines (64%, including 10 *T. infestans*) were collected from holes in 'quebracho' tree trunks that harbored parrots' nests. All of the *T. infestans* collected in the closest infested house -8 km away to the closest sylvatic focus- displayed normal chromatic characters. This is the first confirmed finding of *T. infestans* colonies in wild habitats and of dark morphs in the Argentine chaco.

The results presented here reinforce the role of opossums (*D. albiventris*) as sylvatic *T. cruzi* reservoir hosts, stands out the fact that sylvatic *T. infestans* foci appeared to be more frequent than accepted until now, highlighting a potential source of reinfestation of the human environment, usually not taken into account by the vector control programs, and support the hypothesis that *T. guasayana* is the main sylvatic vector of *T. cruzi* in the area.

KEYWORDS: Chagas disease, *Triatoma infestans*, sylvatic focus and reservoirs, vectorial transmission, deforestation, environmental change, Santiago del Estero, Chaco, Gran Chaco.

Publicaciones originadas de la tesis

Los resultados presentados en este trabajo de Tesis Doctoral han dado origen a las siguientes publicaciones científicas:

- **Ceballos L.A.**, Cardinal M.V., Vazquez-Prokopec G.M., Lauricella M.A., Orozco M.M., Cortinas R., Schijman A.G., Levin M.J., Kitron U., Gürtler R.E. Long-term reduction of *Trypanosoma cruzi* infection in sylvatic mammals following deforestation and sustained vector surveillance in northwestern Argentina. Acta Tropica, 98: 286-296, 2006.

- Cardinal M.V., Lauricella M.A., **Ceballos L.A.**, Lanati L., Levin J.M., Kitron U., Gürtler R.E. y Schijman A.G. Molecular epidemiology of domestic and sylvatic *Trypanosoma cruzi* infection in rural Northwestern Argentina. International Journal for Parasitology, 38: 1533-1543, 2008.

- **Ceballos L.A.**, Piccinali R.V., Berkunsky I., Kitron U., Gürtler R.E. First finding of melanic sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Argentine Chaco Journal of Medical Entomology, 46(5): 1195-1202, 2009.

- **Ceballos L.A.**, Piccinali R.V., Marcet P.L., Cardinal M.V., Vazquez-Prokopec G.M., Schachter-Broide J., Dujardin J.P., Dotson E., Kitron U., Gürtler R.E. Hidden sylvatic foci of *Triatoma infestans*, the main vector of Chagas disease, in the Argentine Chaco: threats to the vector elimination campaign?. En preparación.

AGRADECIMIENTOS

Para la realización de esta tesis conté con la ayuda, y sin temor de exagerar de cientos de personas. Pido disculpas al que no se vea reflejado aquí pero espero que sepa entender que como siempre llego a esta instancia bastante destruido lo cual ayuda al olvido.

Sin detallar, porque duplicaría el número de páginas escritas, quiero agradecer a:

A mi familia, que sin ellos no soy nadie, desde mi abuelo Celestino al terremoto de Gonzi;

A los pobladores de Santiago del Estero y de Chaco, desde el primer niñito que me grito "ehh!! vinchuqueroooo!!!" hasta "la más grande": Doña Leo;

A los compañeros de laboratorio, desde Bruna a Ricardo;

A los compañeros que alguna vez pasaron por el laboratorio, desde Ceci a Jimena, incluyendo a los emigrantes a tierras primermundistas;

A mis amigos y compañeros de cursada: Negro, Diego y Sol;

A todos los invitados, colados y ayudantes en las campañas, especialmente a Fran;

A la gente del Fatala, del INGEBI y del CEREVE de Punilla, con especial agradecimiento a Marta Lauricella y a Raúl Stariolo;

A Paula Sartor y Susana Leguizamón;

A los técnicos de la Coordinación Nacional de Control de Vectores;

A Igor Berkunsky, por abrirnos literal y figuradamente la ventana a los nidos de loros;

A Pablo Teta y Emiliano Muschetto, por la identificación de los ratones;

A Mirko y Francois;

Y muy, muy especialmente a Uriel, porque entre otras tantas cosas trajo a Laura.

Gracias a todos,

por la ayuda, el aliento, la compañía, la paciencia, los consejos, etc.

El presente trabajo ha sido realizado gracias al financiamiento de las siguientes instituciones: 1) Fogarty International Center and the National Institute of Environmental Health Sciences (NIH Research Grant # R01 TW05836, 2002-2010), 2) Agencia Nacional de Promoción Científica y Técnica (2004-2007), 3) Universidad de Buenos Aires (2004-2010), y 4) Consejo Nacional de Actividades Científicas y Técnicas (CONICET).

INDICE

Página

Capítulo I. Introducción 1

1. Introducción 2
1.1.1. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales 2
1.1.2. Epidemiología y control de la enfermedad de Chagas 3
1.1.3. La región del Gran Chaco y la enfermedad de Chagas 7
1.1.4. El *Trypanosoma cruzi* 8
1.1.5. Los ciclos de transmisión del *T. cruzi* 10
1.1.5.1. El ciclo doméstico de transmisión de *T. cruzi* 12
1.1.5.2. El ciclo silvestre de transmisión de *T. cruzi* 13
1.2. Objetivos generales 15

Capítulo II. Prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en mamíferos silvestres: cambios tras dos décadas de control vectorial sostenido de *Triatoma infestans* en un área sometida a una deforestación masiva. 16

Resumen 17
2.1. Introducción 18
2.1.1. Hospedadores silvestres de *T. cruzi* en la región del Gran Chaco 18
2.1.2. Objetivos particulares 25
2.1.3. Hipótesis de trabajo 25
2.2. Materiales y métodos 26
2.2.1. Área de estudio 26
2.2.1.1. Ubicación y aspectos ambientales 26
2.2.1.2. Historia de tratamiento para el control de la infestación por triatominos 28
2.2.1.3. Aspectos epidemiológicos sobre la Enfermedad de Chagas en la zona 28
2.2.2. Fechas de campañas 29
2.2.3. Captura de mamíferos 30
2.2.4. Procesamiento de los mamíferos 31
2.2.5. Métodos parasitológicos 33
2.2.6. Aislamiento de parásitos 35
2.2.7. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) 35

Página

2.2.8. Serodiagnóstico e histopatología 36
2.2.9. Cambio de paisaje mediante el procesamiento de imágenes satelitales 36
2.2.10. Análisis de datos 39
2.3. Resultados 41
2.3.1 Esfuerzo de captura 41
2.3.2 Especies y cantidad de mamíferos capturados 42
2.3.3. Índice de esfuerzo de captura 44
2.3.4. Mamíferos infectados con *T. cruzi* 45
2.3.5. Características generales de las especies capturadas 49
2.3.6. Calidad del xenodiagnóstico 57
2.3.7. Infectividad al vector 59
2.3.8. Prevalencia de infección de las zarigüeyas por año, clase etaria y estación 59
2.3.9. Comparación de la infección de las zarigüeyas con estudios previos y fuerza de infección promedio 61
2.3.10. Cambio de paisaje: estimación de la tasa de deforestación 64
2.4. Discusión 68
2.4.1. Mamíferos silvestres infectados con *T. cruzi*. Disminución de su prevalencia 68
2.4.2. Origen de la infección. Variedad de *T. cruzi* en los mamíferos silvestres 75
2.4.3. Cambio de paisaje 78
2.5. Limitaciones del estudio 81

Capítulo III. Focos silvestres de *Triatoma infestans* en el chaco seco santiagueño 83

Resumen 84
3.1. Introducción 85
3.1.2. Focos de *T. infestans* silvestres 86
3.1.3. Objetivos particulares 88
3.1.4. Hipótesis de trabajo 88
3.2. Materiales y métodos 89
3.2.1. Área de estudio 89
3.2.2. Fechas de campañas 89
3.2.3. Colección de triatominos 89
3.2.3.1. Trampas adhesivas con cebo vivo 89

Página

3.2.3.2. Trampas de luz 94
3.2.4. Procesamiento de los triatominos 96
3.2.5. Diagnóstico de infección por *T. cruzi* 98
3.2.5.1. Microscopía óptica (M.O.) 98
3.2.5.2. Diagnóstico molecular (PCR) 98
3.2.6. Identificación de las UDTs de *T. cruzi* 98
3.3. Resultados 99
3.3.1. Esfuerzo de captura 99
3.3.2. Especies, cantidad y estadios de triatominos capturados 101
3.3.3. Co-ocurrencia de especies de triatominos 105
3.3.4. Estado nutricional de los triatominos capturados 105
3.3.5. Ambientes y ecotopos infestados con triatominos 107
3.3.6. Infección con *T. cruzi* 109
3.4. Discusión 113
3.4.1. Colonias de *T. infestans* silvestres 113
3.4.2. Refugios de *T. infestans* silvestres 113
3.4.3. Origen de los focos de *T. infestans* capturados en ambientes silvestres 114
3.4.4. Infección con *T. cruzi*. Solapamiento de los ciclos de transmisión silvestre y doméstico 117
3.4.5. Implicancias de los focos silvestres en el control de *T. infestans* 118
3.4.6. Limitaciones del estudio 119

Capítulo IV. *Triatoma infestans* silvestres melánicos en el chaco argentino 121

Resumen 122
4.1. Introducción 123
4.1.1. Focos de *T. infestans* melánicos en el medio silvestre del Gran Chaco 123
4.1.2. Objetivos particulares 125
4.2. Materiales y Métodos 125
4.2.1. Área de estudio 125
4.2.2. Fechas de campañas 128
4.2.3. Colección de triatominos 129
4.2.4. Procesamiento de los triatominos 131

Página

4.3. Resultados 131
4.3.1. Esfuerzo de captura 131
4.3.2. Triatominos capturados 134
4.3.3. Ecotopos infestados con triatominos 136
4.3.4. Infección con *T. cruzi* 139
4.4. Discusión 140
4.4.1. *T. infestans* melánicos del chaco argentino 140
4.4.2. Hábitats y densidad de *T. infestans* melánicos 143
4.4.3. Infección con *T. cruzi* 144
4.4.4. Utilización de aerosoles fumígenos 145
4.4.5. Importancia epidemiológica de las poblaciones silvestres de *T. infestans* 145
4.4.6. Limitaciones del estudio 146

Capítulo V. Conclusiones 148

5.1. Infección por *T. cruzi* en mamíferos silvestres 149
5.2. Focos silvestres de *T. infestans* 151
5.2.1. Focos en un área rural de chaco seco santiagueño 151
5.2.2. *T. infestans* silvestres melánicos en un área protegida del chaco argentino 151
5.3. Consideraciones finales 152

Referencias bibliográficas 154

Anexo I 174
Anexo II 175
Anexo III 176

Capítulo I

Introducción

1.1. INTRODUCCIÓN

1.1.1. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales

Antiguamente las zoonosis se definían como “todas las enfermedades e infecciones en que pueda existir relación animales vertebrados-hombre o viceversa, bien sea directamente o a través del medio ambiente, incluidos portadores, reservorios y vectores” (OMS, 1979). Esta visión antropocéntrica en paulatino desuso fue reemplazada por la noción de zoonosis propiamente dichas solo cuando se refieren a las enfermedades que se transmiten de los animales vertebrados al hombre, y por otro lado, a las enfermedades comunes al hombre y a los animales (OPS, 1992). En la actualidad se conocen más de 200 enfermedades que se transmiten entre los animales y el hombre, que además de los obvios perjuicios sanitarios causan problemas económicos y sociales (OPS, 1992). Éstas son causadas por virus, bacterias, hongos, protozoos, helmintos e inclusive artrópodos (Krauss y col., 2003).

Muchas zoonosis y enfermedades comunes al hombre y a los animales mantienen ciclos silvestres que se mantienen paralela o independientemente de los ciclos domésticos, con los cuales pueden tener o no algún tipo de contacto. Esos focos naturales pueden permanecer no detectados hasta que humanos susceptibles comienzan a tener contacto directo o indirecto con ellos (Abdussalam, 1959). Varios ejemplos de lo anterior pueden verse en las hoy llamadas enfermedades “emergentes” o “re-emergentes” que día a día están cobrando mayor importancia (Ridel y col., 2004).

Entre las principales zoonosis se encuentra la Enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, llamada así debido a que originalmente estaba limitada al continente americano. Esta enfermedad se presenta tanto en humanos como en mamíferos domésticos y silvestres. El agente etiológico es el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909), el cual es transmitido mayormente en forma vectorial por contaminación con la materia fecal de insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) (Hoare, 1972; Brener, 1985). En el hospedador humano *T. cruzi* se multiplica dentro de las células, particularmente del corazón y músculo liso, produciendo cardiopatías y mega síndromes digestivos (i.e., megaesófago y megacolon) que pueden derivar en la muerte del infectado (WHO, 2002a).

Como en otras zoonosis, la Enfermedad de Chagas conlleva diferentes interacciones reservorio-parásito que la convierte en un sistema complejo en la medida en que incluye al ser humano y/o mamíferos domésticos, el parásito, el vector y los mamíferos silvestres en el

marco de un ambiente biofísico, social, político y económico determinado. Dichos actores se encuentran dentro de un determinado ambiente y en conjunto forman una unidad biológica, un sistema único y dinámico que puede manifestar cambios en función de las alteraciones del medio ambiente y la variación de la abundancia de ellos. Es esta complejidad la que hace de los estudios eco-epidemiológicos una herramienta fundamental para describir y comprender la ecología de reservorios y vectores, de forma de poder adoptar medidas de vigilancia sanitarias adecuadas y prevenir la transmisión de los patógenos.

1.1.2. Epidemiología y control de la enfermedad de Chagas

En términos de salud pública e impacto económico, la Enfermedad de Chagas constituye la enfermedad desatendida con mayor impacto en morbilidad y mortalidad de Latinoamérica, con unos 9,8 millones de infectados en la actualidad, cerca de 100 millones en riesgo de infectarse y 15.000 muertes anuales (WHO, 2004; Schofield y col., 2006). Además de la perdida irreparable de vidas, esta enfermedad causa perjuicios económicos producidos por la carga de enfermedad en la población, tanto a nivel personal (debido al deterioro de la calidad de vida del enfermo) como regional porque produciría una caída en la producción y generación de riqueza, lo cual a su vez retroalimenta el circuito entre enfermedad y pobreza. Su persistencia y extensión geográfica causan una pérdida regional estimada en 0,67 millones de años de vida saludables perdidos debido a la discapacidad o muerte prematura causada por la enfermedad (i.e., AVADs, años de vida ajustados por discapacidad), lo que constituye 2,7 veces más que la pérdida económica conjunta producida por la malaria, la esquistosomiasis, la leishmaniasis y la lepra (0,25 millones de AVADs) a nivel continental (World Bank, 1993; WHO, 2004).

La infección por *T. cruzi* no tratada es de por vida y suelen distinguirse dos fases de la infección: la fase aguda y la fase crónica. La fase aguda es corta, con una duración de dos a cuatro meses y se estima que la mortalidad es del 10% y afecta especialmente a los niños (Luquetti y Rassi, 2000; Miles y col., 2003). La fase crónica puede presentarse de manera indeterminada (ausencia de síntomas clínicos) o con las manifestaciones crónicas características de la enfermedad (i.e., lesiones en órganos blanco que producen problemas cardíacos y digestivos). La forma indeterminada puede durar décadas en algunos pacientes que permanecen asintomáticos de por vida (Pinho Ribeiro y da Costa Rocha, 2000). Sin embargo, aproximadamente el 30% de los seropositivos puede sufrir daño cardíaco, digestivo o neurológico unos 10-20 años después de haberse infectado, de los cuales aproximadamente

un tercio puede tener un desenlace fatal mientras que los demás infectados no manifestarán ninguna alteración orgánica y por lo tanto no pueden considerarse enfermos (WHO, 2002a; Marin-Neto y col., 2000; Oelemann y col., 1999).

Las principales vías de transmisión de *T. cruzi* son: vectorial, a través del contacto con la materia fecal de triatominos; vertical (congénita o placentaria), de madre a bebé; a través de transfusiones de sangre o transplantes de órganos, y ocasionalmente a través de la ingesta de alimentos o líquidos contaminados con el *T. cruzi*. Entre estas vías la transmisión vectorial de *T. cruzi* es históricamente la de mayor importancia, siendo la causante de la mayor parte (un 80%) de los casos humanos (Schmuñis, 2000; WHO, 2002a). En la actualidad, en ausencia de una vacuna efectiva, la prevención de la transmisión vectorial consiste principalmente en el rociado residual de las viviendas con insecticidas y el mejoramiento de las viviendas para evitar la proliferación del vector.

Existen unas 130 especies de triatominos en América y más de 70 han sido halladas naturalmente infectadas por *T. cruzi* (Sherlock y col., 1998). Sin embargo, tan sólo una decena de especies son de importancia epidemiológica para la transmisión de *T. cruzi* al ser humano. *Triatoma infestans* (Klug, 1834), *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859), *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) y *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) son las principales especies vectores del ciclo doméstico (Minter, 1976; Sherlock, 2000). No obstante, una gran cantidad de especies identificadas como “silvestres” o “peridomésticas” ocasionalmente invaden las viviendas humanas y podrían contribuir en menor medida a la transmisión de *T. cruzi* al hombre y a la introducción de *T. cruzi* desde el ciclo de transmisión silvestre (Schofield y col., 1999; Silveira, 1999; Noireau y col., 2005).

T. infestans (Figura 1.1) es el principal vector doméstico de *T. cruzi* en Sudamérica debido a su amplia distribución geográfica, sus hábitos casi exclusivamente domésticos o peridomésticos (Canale y Carcavallo, 1985; ver capítulos III y IV) y el número de casos humanos que ha generado (Schmuñis, 2000). Al igual que la mayoría de los integrantes de la subfamilia Triatominae, *T. infestans* posee cinco estadios ninfales ápteros (sólo los adultos de casi todas las especies tienen alas), típicamente posee hábitos nocturnos de alimentación y se alimenta exclusivamente de sangre (Zeledón y Rabinovich, 1981; Canale y Carcavallo, 1985). Entre sus rasgos biológicos se destacan su elevada capacidad de ayuno y de adaptación al ambiente domiciliario y a diferentes condiciones climáticas (Schofield, 1979); su relativamente baja tasa de crecimiento poblacional en relación a otros insectos vectores (Rabinovich, 1972); su gran eficiencia vectorial (Zeledón y Rabinovich, 1981; Schofield, 1985), y su elevada susceptibilidad a los insecticidas piretroides (Zerba, 1988). Si bien se consideraba a *T.*

infestans como una especie con limitada capacidad de vuelo (Rabinovich, 1972; Ronderos y col., 1980), tanto experimentos de laboratorio como estudios en terreno más recientes demuestran lo contrario (Lehane y col., 1992, Vázquez-Prokopec y col., 2004, 2006, Gurevitz y col., 2006).

Figura 1.1. Hembra adulta de *Triatoma infestans*.

La transmisión de *T. cruzi* mediada por *T. infestans* ocurre principalmente en el interior de las habitaciones humanas (Cohen y Gürtler, 2001; Gürtler y col., 1991, 1997, 1998), y se halla asociada a precarias condiciones de vivienda y determinados materiales y tipos de construcción (i.e., "ranchos") (Mott y col., 1978; Gürtler y col., 1992; Briceño-León, 1990; Dias y Dias, 1982; Cecere y col., 2002), y al número y tipo de fuentes de alimentación (Gürtler y col., 1997; Cohen y Gürtler, 2001; Gürtler y col., 2007a). Las principales estrategias empleadas para interrumpir la transmisión vectorial de *T. cruzi* por *T. infestans* es la eliminación o reducción de su abundancia en las viviendas mediante la aplicación de insecticidas con poder residual, y el manejo ambiental mediante el mejoramiento de la vivienda (WHO, 2002b). Desde 1991 *T. infestans* es el blanco de un programa intergubernamental de eliminación regional llamada "Iniciativa del Cono Sur" (INCOSUR), el cual tuvo como metas principales: i) la eliminación de la transmisión transfusional mediante el tamizaje de los donantes, y ii) la eliminación de *T. infestans* mediante la aplicación de insecticidas con poder residual, el monitoreo de la reinfestación domiciliaria, y la participación de la comunidad y/o agentes de salud en las actividades de control y vigilancia vectorial (Schmuñis y col., 1996; Schofield y Dias, 1999; Dias y col., 2002; Schofield y col., 2006). La estrategia para la eliminación de *T.*

infestans se basó en dos supuestos principales, sustentados por evidencia incompleta y limitada: a) la especie era estrictamente encontrada en ambientes domésticos y peridomésticos, con la única excepción de los valles andinos de Bolivia donde se encuentran vectores silvestres del parásito, y b) *T. infestans* es una especie que presentaría muy poca variabilidad genética y por consiguiente tendría limitada probabilidad de desarrollar resistencia a los insecticidas piretroides en uso.

Como consecuencia de las acciones de control vectorial, el área de distribución de *T. infestans* se ha reducido dramáticamente desde un total estimado de 6,28 millones de km^2 a unos 0,93 millones de km^2 (Gorla, 2002; Schofield y col., 2006), y la transmisión vectorial de *T. cruzi* ha sido interrumpida en Brasil, Chile, Uruguay, en cinco provincias de Argentina y en un departamento de Paraguay (Dias y col., 2002; Schofield y col., 2006). Sin embargo, en la región del Gran Chaco de Argentina, Bolivia y Paraguay sólo se ha logrado un éxito limitado ya que *T. infestans* no ha podido ser eliminado aún y la transmisión doméstica persiste aunque a menores niveles en vastas áreas (Gürtler, 2007; Gürtler y col., 2007b). La transmisión doméstica persiste debido a las reinfestaciones repetidas, especialmente en áreas rurales con poblaciones dispersas donde las acciones de control oficiales son esporádicas, e incluso en áreas bajo control vectorial profesional e intenso; consecuentemente tampoco se ha podido interrumpir la transmisión vectorial de *T. cruzi*, ni solucionar los problemas de acceso de los portadores a los servicios de diagnóstico y tratamiento (Gorla y col., 2007; Gürtler, 2007, 2009; WHO, 2007). Las posibles causas subyacentes incluyen la cobertura irregular y discontinua de las acciones de control; la frecuente ocurrencia de estructuras peridomésticas infestadas que albergan animales domésticos; la limitada efectividad de los insecticidas piretroides en las estructuras peridomésticas; y la emergencia de resistencia a insecticidas piretroides en el noroeste de Argentina y en Bolivia (Cecere y col., 2006a; Gürtler y col., 1999, 2004; Picollo y col., 2005; Toloza y col., 2008). Los mecanismos más probables que determinarían la reinfestación de las comunidades rurales son la dispersión activa por vuelo de *T. infestans* adultos desde focos residuales (peridomiciliarios) o de ninfas caminando, y la dispersión pasiva por el traslado de huevos, ninfas o adultos en los enseres y las vestimentas de las personas que provienen de áreas infestadas (Cecere y col., 2004, 2006b; Schofield, 1985; Schofield y Matthews, 1985; Soler y col., 1969; Vázquez-Prokopec y col., 2004).

1.1.3. La región del Gran Chaco y la enfermedad de Chagas

Con aproximadamente 1,3 millones de km^2, el Gran Chaco constituye la segunda eco-región de América luego de la Amazonia, abarcando parte del norte de Argentina, el este de Bolivia y oeste de Paraguay (Figura 1.2) (The Nature Conservancy y col., 2005). En esta región donde viven alrededor de 5 millones de personas pueden hallarse ciertas características socio-económicas comunes (Bucher y Schofield, 1981; Gürtler, 2007, 2009): elevados niveles de pobreza, baja densidad poblacional (< 5 habitantes por km^2), población principalmente rural estructurada en pequeños poblados o parajes dispersos comunicados por caminos de tierra deteriorados e intransitables en algunas épocas del año, economía rural de subsistencia basada en la ganadería extensiva y en la explotación forestal, elevado grado de abandono institucional, con una escasa participación del Estado en temas relacionados con la salud, la educación, el desarrollo económico y social, elevada carga de enfermedades en la población, y en particular, una elevada prevalencia de infestación doméstica por *T. infestans* y de transmisión vectorial de *T. cruzi* a humanos.

Gran parte del deterioro social y económico del Gran Chaco se halla íntimamente asociado a los drásticos cambios en el paisaje ocurridos a lo largo de los últimos 150 años (Bucher y Schofield, 1981; Bucher y Huszar, 1999), y a la falta de inversiones y de políticas productivas en la región. La sobreexplotación de los recursos forestales y el sobrepastoreo, junto con la interrupción del ciclo de incendios naturales, han convertido al paisaje original del Chaco (una sabana con pastos nativos interrumpidos por montes de quebracho y algarrobo) en un monte espinoso improductivo (Bucher y Schofield, 1981). Estos procesos han limitado en gran medida las actividades productivas locales a la cría de ganado caprino, a la explotación forestal a pequeña escala (e.g., postes para alambrado, carbón de leña), y a la caza y pesca. En la actualidad dichas economías locales están siendo menoscabadas aún más por el rápido avance de la frontera agrícola, y particularmente por el raudo avance del cultivo extensivo de la soja, el cual ha traído aparejado el aumento del costo de la tierra y el desplazamiento de habitantes y hasta comunidades enteras de aquellas tierras que habían ocupado por generaciones. Estos cambios en el uso de la tierra conllevan además un gran impacto sobre el paisaje, una degradación irreversible de los bosques naturales y por lo tanto una significativa pérdida de biodiversidad.

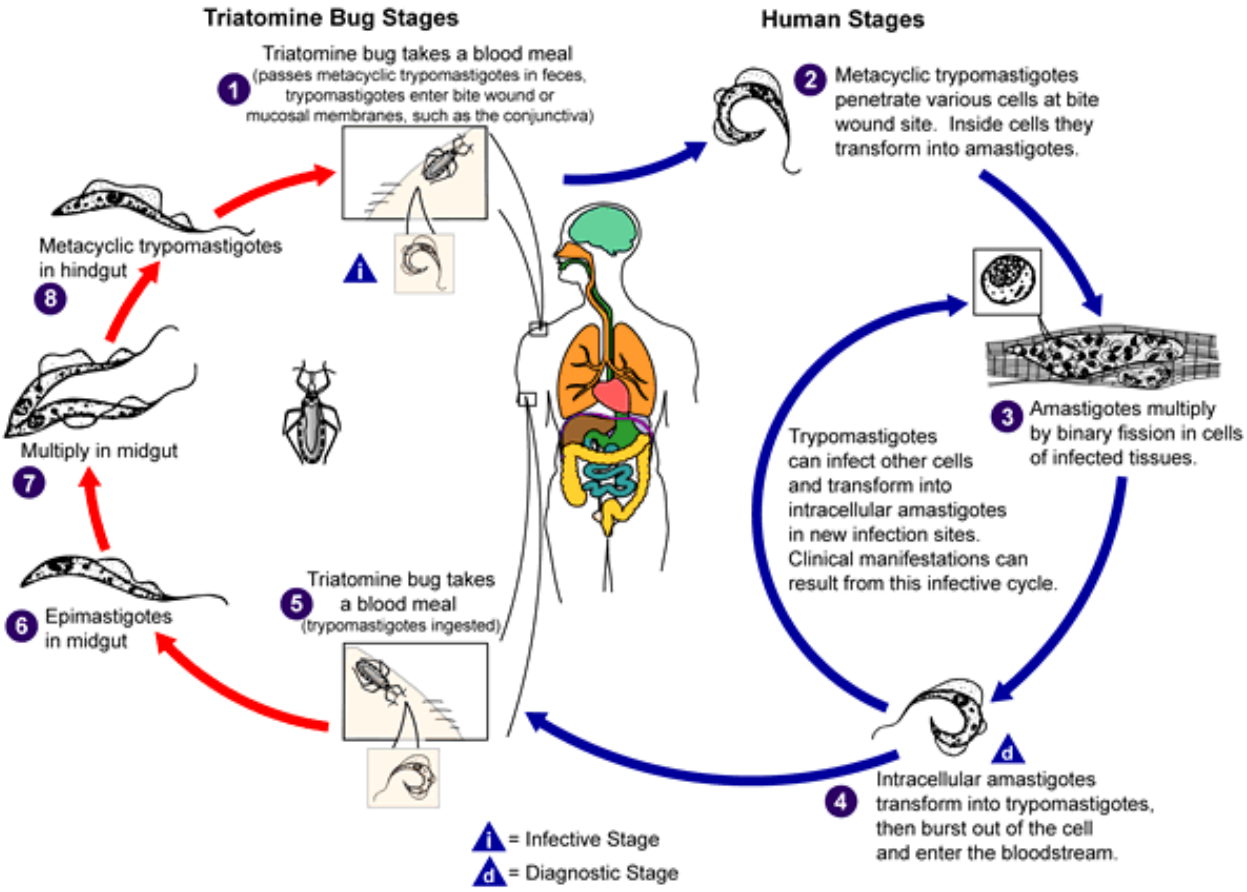
Figura 1.2. Ubicación geográfica de la eco-región del Gran Chaco. Aproximadamente el 62% de la región se halla en Argentina, el 25% en Paraguay, el 12% en Bolivia y menos del 1% en el Sudoeste de Brasil. División eco-regional según Olson y col. (2001).

1.1.4. El Trypanosoma cruzi

El *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* (Chagas, 1909) pertenece al Orden Kinetoplastida y a la Familia Trypanosomatidae, que se caracteriza por ser un protozoo flagelado con un ciclo vital complejo. Su desarrollo tiene varias etapas de reproducción asexual, básicamente clonal (sin intercambio de material genético o con eventos de

intercambio muy raros), que ocurren tanto en los vectores como en los huéspedes vertebrados (Figura 1.3).

Figura 1.3. Ciclo de vida del *T. cruzi*. Fuente, CDC: http://www.dpd.cdc.gov/dpdx.



Desde el descubrimiento de *T. cruzi*, el conocimiento de su amplia variabilidad genética y relaciones filogenéticas entre las diferentes subpoblaciones ha avanzado notoriamente, especialmente a partir del desarrollo de las técnicas de biología molecular.

El parásito *T. cruzi* está compuesto por una diversidad de cepas diferenciadas por características biológicas, bioquímicas y moleculares. Recientemente un comité de expertos llegó a un consenso en la nomenclatura y status de las subdivisiones de *T. cruzi*, clasificándolo en seis “Unidades Discretas de Tipificación” o UDTs (DTU, "Discrete Typing Units"), *T. cruzi* I-VI (Zingales y col., 2009). Una UDT es una colección de stocks de *T. cruzi* que están más estrechamente relacionadas entre sí que con otros stocks cuando son caracterizados con marcadores genéticos, moleculares o inmunológicos (Zingales y col., 2009). A pesar de las controversias existentes acerca de las relaciones filogenéticas entre las diferentes subdivisiones de *T. cruzi*, se han establecido algunos acuerdos generales basados en

las evidencias disponibles en la actualidad: la evolución de las diferentes UDTs ha sido básicamente clonal, con algunos intercambios genéticos antiguos y eventos de recombinación e hibridación que han tenido un impacto importante en la generación de diversidad genética dentro de este taxón (Gaunt y col., 2003; Noireau y col., 2009; Zingales y col., 2009).

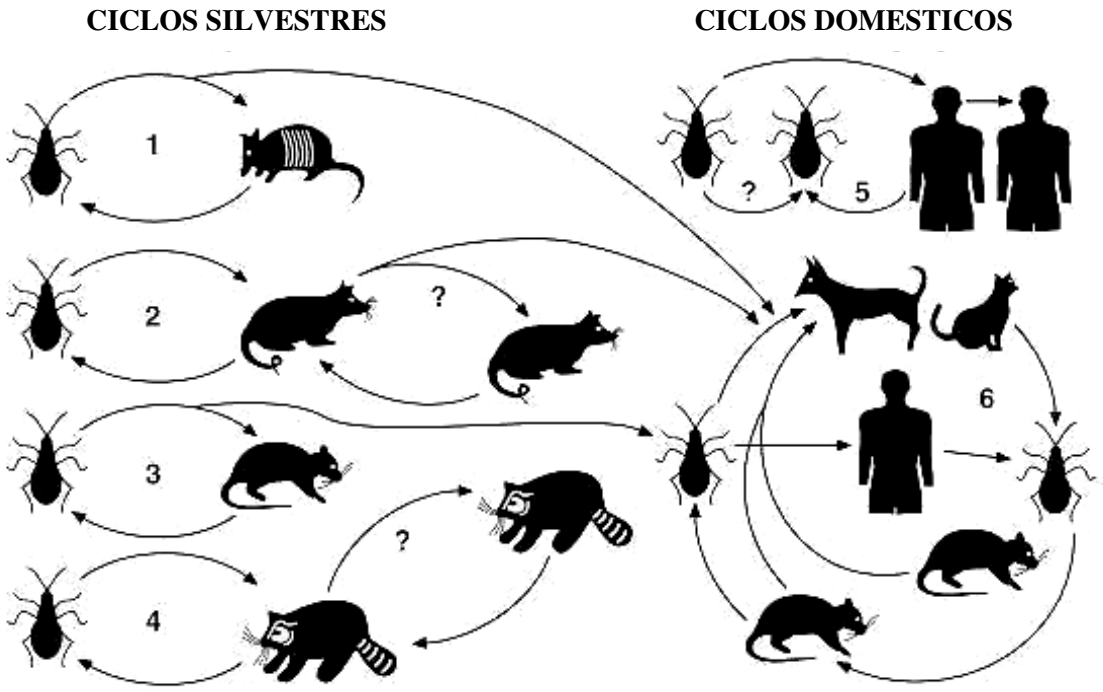
Estas UDTs aparentemente se distribuyen diferencialmente entre las diversas especies de triatominos, hospedadores mamíferos y hábitats en distintas áreas geográficas dentro de las Américas (Higo y col., 2004; Yeo y col., 2005). A pesar que todos las cepas de *T. cruzi* pueden causar la enfermedad en humanos, algunos estudios sugieren que TcII, TcV y TcVI estarían más asociados con ambientes antrópicos y con pacientes con la enfermedad de Chagas crónica; *T. cruzi* TcIV y TcIII con ambientes silvestres, y TcI con ambos (Telleria y col., 2006; Yeo y col., 2005). Aunque existen numerosos estudios sobre la diversidad genética de *T. cruzi*, actualmente se están reexaminando los aislados de los parásitos disponibles para determinar cómo se distribuyen las diferentes UDTs en los diferentes hospedadores y localidades, cómo es la dinámica de su transmisión, y qué tipo de patologías causan al ser humano. A partir de la intensa migración desde Latinoamérica al mundo desarrollado, el *T. cruzi* se ha dispersado a regiones del mundo donde no ocurría siglos atrás (Schmuñis, 2007).

1.1.5. Los ciclos de transmisión del T. cruzi

Como sucede con otras zoonosis, los focos naturales de la tripanosomiasis americana son variados. Esto se debe, por un lado, a la gran variedad de mamíferos de hábitos diversos que sirven de hospedadores y, por otro lado, a la multiplicidad y ubicuidad de los triatominos vectores, muchos de los cuales son eurítopos (i.e., poco exigentes en cuanto a las condiciones ambientales) y casi todos eurítrofos (i.e., relativamente indiferentes en cuanto a los hospedadores sobre los que se alimentan). Entre los tripanosomatídeos, *T. cruzi* tiene uno de los rangos de hospedadores mamíferos e insectos vectores más amplios, siendo capaz de parasitar los más variados tejidos (Hoare, 1972); estas capacidades hacen que se encuentre distribuido a través de casi todos los biomas y hábitats de América. Estos aspectos (multiplicidad y diversidad de focos), junto con la capacidad de mantener distintos ciclos de transmisión entre hospedadores sinantrópicos, le confiere indudables ventajas y caracteriza a *T. cruzi* como uno de los organismos más exitosos al adoptar el modo de vida parasitaría, a la vez que dificulta la interrupción de su transmisión (Barretto, 1967).

Clásicamente se han distinguido dos ciclos de transmisión de *T. cruzi:* el ciclo doméstico involucrando al hombre, animales domésticos y sinantrópicos, y triatominos domiciliados, y el ciclo silvestre involucrando a animales y triatominos silvestres (Figura 1.4) (Zeledón, 1974). Éstos pueden ocurrir simultánea e independientemente involucrando distintos vectores y reservorios, o pueden ocurrir en simpatría con diferentes grados de solapamiento e interrelación (Diotaiuti y col., 1995). El solapamiento puede darse tanto por la invasión de un actor del ciclo doméstico (vector, reservorio) en el medio silvestre como en forma inversa. Ambas formas de provocar un solapamiento de ciclos son más probables en la medida en que el ser humano avanza sobre las áreas naturales para su explotación, pudiéndose producir una re-emergencia de la enfermedad en áreas en que ya fuera controlada. Un ejemplo de lo anterior parece estar ocurriendo en la cuenca amazónica donde cada vez son más frecuentes los brotes de Chagas ocasionados por transmisión oral (i.e., consumo de comestibles contaminados con *T. cruzi*) producto de la exposición humana al ciclo silvestre (e.g., Marcili y col., 2009; Roque y col., 2008).

Figura 1.4. Posibles modalidades y relaciones entre los ciclos de transmisión de *T. cruzi.* Figura tomada de Zeledón (1974). Referencias: 1) triatominos asociados a armadillos; adultos entran a las viviendas atraídos por la luz; 2) zarigüeyas asociadas con varias especies de triatominos, ambos invaden construcciones humanas; 3) ratas y otros roedores asociados con triatominos que también invadirían las viviendas; 4) mapaches asociados con triatominos, y como las zarigüeyas podrían transmitirse *T. cruzi* en forma horizontal; 5) y 6) transmisión doméstica con y sin la participación de animales domésticos.



1.1.5.1. El ciclo doméstico de transmisión de T. cruzi

El ciclo doméstico de transmisión de *T. cruzi* es el de mayor importancia para la salud pública e involucra la circulación del parásito principalmente entre triatominos, humanos, perros y gatos en el ámbito domiciliario (WHO, 2002b). Normalmente este ciclo se enmarca en un escenario de viviendas precarias donde las personas viven en condiciones de necesidades básicas insatisfechas y las viviendas se hallan infestadas por "vinchucas". El ciclo doméstico presenta características diversas dependiendo de la especie que sea el vector domiciliario principal, su preferencia alimentaria por determinados hospedadores, y las costumbres de la región. Por ejemplo, además de los humanos y perros domésticos, en Venezuela el ciclo doméstico puede involucrar a las zarigüeyas y el triatomino vector es *R. prolixus*; en Costa Rica el ciclo incluye gatos, roedores, zarigüeyas y el triatomino vector es *T. dimidiata*; y en los países del cono sur de América del Sur, los perros, gatos y *T. infestans* (Minter, 1976; Gürtler y col., 2007b). Particularmente en Bolivia y Perú los cobayos (*Cavia porcellus*) pueden formar parte del ciclo doméstico, ya que los habitantes habitualmente los crían como fuentes de alimento (Albarracin-Veizaga y col., 1999; Minter, 1976; Zeledón, 1974). En este ciclo los otros hospedadores potencialmente involucrados son los diversos animales domésticos criados para consumo o comercialización (i.e., vacunos, equinos, porcinos, etc.). Los animales peridomésticos poseen poca relevancia en la transmisión del *T. cruzi*, o ninguna en el caso de las aves ya que son refractarias a la infección (Kierszenbaum y col., 1981), pero suelen ser muy importantes (gallinas, cabras, cerdos) como fuente de alimentación de los triatominos y por lo tanto en el mantenimiento de sus poblaciones (Cecere y col., 1997, 2004, 2006b).

Para el caso de las comunidades rurales del noroeste argentino y gran parte del Gran Chaco donde el principal o único vector doméstico es *T. infestans*, los principales actores domésticos además de los humanos son los perros, los gatos y las gallinas. Los perros actúan como una de las principales fuentes de sangre para los *T. infestans* domésticos (Wisnivesky-Colli, 1987; Gürtler y col., 1996, 1997, 2007a) y presentan elevados niveles de prevalencia de infección en ausencia de medidas de control vectorial (hasta un 84% registrado en la provincia de Santiago del Estero) (Gürtler y col., 2007a; Lauricella y col., 1989; Cardinal y col., 2007). Si bien los gatos son menos abundantes que los perros, la evidencia indica que cuando los gatos están presentes contribuyen significativamente a la transmisión doméstica de *T. cruzi* (Gürtler y col., 1993, 2007b). Tanto los perros como los gatos han mostrado una elevada infectividad a los vectores y una incidencia de infección 10 veces mayor que la

respectiva población de niños de un área con transmisión activa (Gürtler y col., 2005, 2007b). Más aún, estudios en comunidades tratadas con insecticidas residuales mostraron que los perros y gatos siguieron siendo los principales reservorios domésticos del parásito a largo plazo (Cardinal y col., 2006, 2007). Respecto a las aves de corral y en especial a las gallinas, éstas juegan un rol distinto a los anteriores hospedadores. Si bien reducen la tasa global de infección por *T. cruzi* en los vectores (por "dilución", Vazquez y col. 1999) y tienen algún efecto depredador sobre los vectores, por otro lado sustentan poblaciones de vectores más abundantes. Estudios realizados en la misma zona demostraron que la presencia de gallinas en el interior de las viviendas contribuye notablemente al desarrollo del ciclo doméstico, ya que al ser una importante fuente de alimentación favorece el crecimiento poblacional del vector (Cecere y col., 1997, 1998; Gürtler y col., 1998; Cohen y Gürtler, 2001).

1.1.5.2. El ciclo silvestre de transmisión de T. cruzi

Al igual que el ciclo doméstico, el ciclo silvestre de transmisión de *T. cruzi* presenta una amplia distribución geográfica, encontrándose asociado a diferentes especies de vectores y hospedadores en las distintas zonas (WHO, 2002a). A lo largo de toda América se han hallado infectadas naturalmente con *T. cruzi* más de 150 especies de mamíferos silvestres que incluyen a marsupiales (zarigüeyas y marmosas), carnívoros (zorros, zorrinos, hurones, gatos monteses, mapaches, etc.), primates, armadillos, murciélagos y roedores de varias especies (Barretto, 1972, 1979, 1985; Noireau y col., 2009). Fue Carlos Chagas quien, además de describir la enfermedad, al parásito y al primer vector conocido, hizo el descubrimiento del primer hospedador silvestre de *T. cruzi*, una especie de armadillo que identificó como *Tatusia novencincta* (actualmente *Dasypus novemcinctus*). Desde entonces se ha identificado un gran número de especies de mamíferos y vectores silvestres naturalmente infectados por *T. cruzi*. A pesar de ello quedan muchas cuestiones sin respuesta acerca del rol que juegan las diferentes especies en el mantenimiento y/o transmisión de *T. cruzi* en el medio silvestre. La mayoría de los estudios están restringidos geográficamente y no incluyen datos sobre las condiciones ambientales, la diversidad local de fauna, la abundancia relativa de los animales infectados o su estructura poblacional (Noireau y col., 2009). De esos tipos de cuestiones se desprende la significación de cada especie de hospedador como reservorio, entendiendo como reservorio a la especie o conjunto de especies (o hábitats) que garantizan la circulación indefinida de un determinado parásito en la naturaleza en un determinado recorte espacial y temporal (Jansen y Cortez, 2007), diferenciándose así de la simple visión de "depósito" de un

parásito o de “fuente de infección para el hombre”. La importancia de un reservorio depende principalmente de su prevalencia de infección, su capacidad para infectar al vector (i.e., infectividad) y su tasa de contacto con el vector (Cohen y Gürtler, 2001). Una alta tasa de infectividad al vector (e.g., medida por xenodiagnóstico) demuestra una alta competencia como reservorio del parásito en comparación con las especies de hospedadores que solamente manifiestan la infección por la presencia de anticuerpos o que se detecta con otras técnicas más sensibles cuando la parasitemia es muy baja (e.g., PCR).

Entre todos los mamíferos silvestres hallados infectados con *T. cruzi*, las zarigüeyas del género *Didelphis* son los que se han encontrado más frecuentemente infectados con dicho parásito. Estos mamíferos son excelentes reservorios ya que suelen tener altas prevalencias y pueden mantener una elevada parasitemia durante un tiempo prolongado (Zeledón, 1974). Estos mamíferos primitivos junto a los armadillos son considerados los hospedadores más antiguos de *T. cruzi* dado que las Familias a las que pertenecen (Didelphidae y Dasypodidae, respectivamente) y el parásito son exclusivamente americanos (Noireau y col., 2009; Gardner, 2007). De los armadillos la especie que aparentemente tendría mayor importancia como reservorio sería *D. novemcinctus* debido a que frecuentemente se la haya infectada y a que posee una amplia distribución geográfica desde Uruguay y noreste de Argentina hasta el sur de los EE.UU (Gardner, 2007). Además de éstas, existe un gran número de especies de mamíferos cuya importancia como reservorio varía según el escenario epidemiológico local y los métodos de diagnóstico utilizados.

El hecho que la Enfermedad de Chagas en el Gran Chaco ocurra mayormente en áreas donde se da un importante solapamiento entre la fauna silvestre, el ganado, los animales domésticos y diversas actividades de los humanos, sumado al incremento pronunciado del avance sobre las áreas naturales poco degradadas, hace que el estudio de los ciclos silvestres de ésta y otras zoonosis tenga gran importancia para la salud pública y los programas de conservación. La comprensión de las distintas relaciones entre los hospedadores, vectores y parásitos, y su impacto sobre la dinámica de transmisión del patógeno podría ayudar a prevenir el riesgo de que la enfermedad se propague o re-emerja en el futuro.

1.2. OBJETIVOS GENERALES

Esta tesis fue desarrollada en el marco de un estudio longitudinal sobre la eco-epidemiología y control de la enfermedad de Chagas en el Gran Chaco, cuyo objetivo es caracterizar la dinámica poblacional de *T. infestans* y de la transmisión de *T. cruzi* y determinar las fuentes de reinfestación de las viviendas sujetas a acciones de control vectorial.

Con el fin de avanzar en el conocimiento sobre el ciclo silvestre de transmisión de *T. cruzi* en comunidades rurales del Gran Chaco, el presente trabajo de tesis tiene por objetivos:

- Determinar la prevalencia de infección por *T. cruzi* en mamíferos silvestres de un área rural de Santiago del Estero, e identificar las especies de reservorios más importantes, haciendo énfasis en los ratones silvestres los cuales no han sido estudiados extensamente en la zona;
- Comparar las prevalencias de *T. cruzi* en mamíferos silvestres con las prevalencias obtenidas dos décadas atrás en dicha área, cuando existía transmisión doméstica activa;
- Identificar cuál o cuáles son las posibles especies de triatominos vectores en el ciclo silvestre de la zona;
- Identificar cuáles son los ecotopos silvestres donde se encuentran los vectores silvestres;
- Evaluar la eventual ocurrencia de focos silvestres de *T. infestans* en el chaco argentino;
- Determinar la ocurrencia y distribución de UDTs de *T. cruzi* en vectores y hospedadores silvestres.

Capítulo II

Prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en mamíferos silvestres: cambios tras dos décadas de control vectorial sostenido de *Triatoma infestans* en un área sometida a una deforestación masiva.

Prevalencia de infección por* Trypanosoma cruzi *en mamíferos silvestres: cambios tras dos décadas de control vectorial sostenido de Triatoma infestans en un área sometida a una deforestación masiva

RESUMEN

Este capítulo desarrolla las investigaciones sobre la prevalencia de infección de *Trypanosoma cruzi* en mamíferos silvestres alrededor de ocho parajes rurales en una zona semiárida de la región chaqueña de Argentina. Se muestran las variaciones a largo plazo en la dinámica e intensidad de la transmisión silvestre de *T. cruzi* entre 2002-2007 y se comparan estos resultados con los datos colectados en el mismo área entre 1984-1991. De 605 mamíferos silvestres pertenecientes a 19 especies identificadas y examinados mediante xenodiagnóstico, sólo 4 (9,1%) de 48 zarigüeyas (*Didelphis albiventris*) y 1 (0,9%) de 107 zorrinos (*Conepatus chinga*) estuvieron infectados por *T. cruzi*. La prevalencia de infección por *T. cruzi* de las zarigüeyas del periodo 2002-2007 fue casi cuatro veces menor que entre 1984-1991 (32-36%). La prevalencia de infección de los zorrinos también disminuyó cinco veces, desde 4,1-5,6% entre 1984-1991 al 0,9% en 2002-2007. Adicionalmente, se encontraron infectados mediante técnicas serológicas 2 ratones de campo (1 *Graomys centralis* y otro sin identificación certera) La infección en las zarigüeyas aumentó con la edad y tuvieron mayor prevalencia en primavera y la menor en otoño en ambos periodos de estudio. La fuerza de infección promedio por cada 100 meses-zarigüeya después del destete disminuyó más de cinco veces desde 8,2 en el periodo 1988-1991 a 1,6 entre 2002-2007. Durante el periodo 1984-1991 las zarigüeyas principalmente se hallaron infectadas por TcI y secundariamente por TcV, mientras que entre 2002-2007 solo lo fueron por TcI. Los zorrinos analizados entre 1984-1991 solo se hallaron infectados por TcV y entre 2002-2007 por TcIII. La llamativa disminución de la infección por *T. cruzi* en zarigüeyas y zorrinos ocurrió en paralelo a: i) un rociado de insecticidas piretroides con una amplia cobertura de comunidades seguido por rociados selectivos que condujeron a una muy baja infestación por *Triatoma infestans* en hábitats domésticos y peridomésticos desde 1992 hasta 2007; ii) la deforestación masiva alrededor de uno de los parajes y extracción selectiva de los árboles más viejos, y iii) una aparente reducción en la abundancia aparente de zarigüeyas conjuntamente con el aumento de zorros y zorrinos. Se discute cómo estos factores podrían explicar la dramática disminución de la infección por *T. cruzi* en sus principales reservorios silvestres.

2.1. INTRODUCCIÓN

2.1.1. Hospedadores silvestres de T. cruzi *en la región del Gran Chaco*

Reconocido desde su descubrimiento el carácter zoonótico de la tripanosomiasis americana (Chagas, 1912, 1918), muchos investigadores han procurado identificar a los reservorios de *T. cruzi* y dilucidar el papel que éstos desempeñan en la epidemiología de la enfermedad de Chagas en diversas épocas y países americanos. Como consecuencia de esas investigaciones, se verificó la presencia de *T. cruzi* (y de algunos otros tripanosomas similares denominados "cruzi-like") en alrededor de 200 especies de mamíferos domésticos y silvestres pertenecientes a ocho órdenes distintos esparcidos a través de todas las regiones fitogeográficas del Neotrópico (Barreto, 1972, 1979).

En Argentina y particularmente en el área que abarca la región Chaqueña, es sabido desde los primeros estudios sobre la enfermedad de Chagas que diversos mamíferos silvestres podían contraer la infección. Ya en 1930 Salvador Mazza y colaboradores describieron la infección natural por *T. cruzi* en armadillos *D. novemcinctus* capturados en la localidad de Florencia, perteneciente al Chaco santafecino. A partir de una amplia (no exhaustiva) revisión bibliográfica de los principales trabajos sobre los hospedadores silvestres de *T. cruzi* en el Gran Chaco (Tabla 2.1), se observa una gran cantidad de especies con infección natural por *T. cruzi* entre los que se encuentran los armadillos *Chaetophractus vellerosus* (pichi llorón), *Chaetophractus villosus* (peludo), *Cabassous unicinctus* (cabasú), *D. novemcinctus* (mulita o tatú negro), *Euphractus sexcinctus* (gualacate o tatú colorado), y *Tolypeutes matacus* (mataco o quirquincho bola); las zarigüeyas *Didelphis albiventris* (comadreja overa o picaza) y *Lutreolina crassicaudata* (comadreja colorada); las marmosas o colicortos *Monodelphis domestica*, *Monodelphis dimidiata* y *Thylamys pusillus*; los zorros *Cerdocyon thous, Lycalopex culpaeus* y *Lycalopex gymnocercus*; el gato montes *Felis yaguaroundi* (gato colorado o moro); los zorrinos (*Conepatus chinga*); los hurones *Tayra barbara* (hurón mayor) y *Galictis cuja* (hurón menor); los coatíes *Nasua nasua*, y varias especies de murciélagos y roedores. En el Chaco semiárido argentino, zona donde se desarrolló el presente estudio, los únicos mamíferos silvestres encontrados infectados con *T. cruzi* fueron las zarigüeyas *D. albiventris,* unos pocos zorrinos *C. chinga,* y un hurón menor *G. cuja* entre 724 a 832 mamíferos de al menos unas 22 especies examinados desde la década de los 1980s (Pietrokovsky y col., 1991; Wisnivesky-Colli y col., 1992; Schweigmann y col., 1999; Diosque y col., 2003, 2004). La imprecisión en el número total de mamíferos examinados surge de la presumible inclusión de algunos especímenes de *C. chinga* y *D. albiventris* en más de un trabajo.

Tabla 2.1. Mamíferos infectados con *T. cruz*i en la región chaqueña. Referencias de Método de diagnóstico: 1: Xenodiagnóstico; 2: Observación de sangre fresca al microscopio; 3: Histopatología; 4: Inoculación de sangre en animales de laboratorio; 5: Cultivo de parásitos; 6: Coloración de extendido; 7: Morfología y biometría; n.i.: No informado. El primer nombre científico (en negrita) es el actualmente aceptado, y los que están entre ¿? son especies que presenta dudas acerca de su identificación o que actualmente el nombre utilizado en la publicación no existe y podría ser asignado a más de una especie.

Grupo	Especie y nombres científicos utilizados	Provincia o País	Localidad, paraje o departamento	Fuente	Nº Examinado	% positivo	Método de diagnóstico	Trabajo original
Marsupiales	***Didelphis albiventris***							
		Chaco	Pampa del Indio	Alvarado-Otegui, 2009	11	27.3	1	
		Chaco	Pampa del Indio	Orozco, en prep.	13	23.1	1	
		Chaco	Tres Estacas, Chacabuco y 12 de Octubre	Diosque y col., 2004	28	35.7	1	
		Corrientes	Ralera	Bar y col., 1999	4	0	1	
		Formosa	Puerto Irigoyen	Mazza, 1936	2	50	2, 3, 4	
		Jujuy	Capital	Mazza y Romaña, 1932	8	0	2, 4	
	D. paraguayensis (albiventris)	Salta	El Algarrobal	Mazza, 1936	2	50	2, 4	
	D. azarae	Salta	Loro Huasi	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	D. azarae	Salta	Misión Chaqueña	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	D. paraguayensis (albiventris)	Salta	Misión San Patricio	Mazza, 1936	2	0	2	
		Salta	Tabacal	Mazza y Romaña, 1932	4	0	2, 4	
		Salta	Depto. Orán	Mazza, 1940	1	n.i.	2, 3, 4	
		Santa Fe	Villa Guillermina	Romaña, 1955	2	n.i.	2, 3, 4	
	D. azarae	Santa Fe	Campo Araza	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	D. azarae paraguayense	Santa Fe	n.i. (chaco santafesino)	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	D. paraguayensis	Santa Fe	n.i. (chaco santafesino)	Mazza, 1936	n.i.	n.i.	3	Mazza y Romaña, 1932
	D. azarae azarae	Santa Fe	Florencia	Mazza y Schreiber, 1938	n.i.	25	2, 3, 4, 6	Mazza, 1936
	D. azarae azarae	Santa Fe	Depto. San Carlos	Mazza y Schreiber, 1938	n.i.	45	n.i.	
		Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Schweigmann, 1994	409	36 (25-50)	1	
		Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Wisnivesky-Colli y col., 1992	72	32	1	
	D. azarae	Santiago del Estero	Capital	Canal-Feijó, 1938	69	49.3	2	
	D. azarae	Santiago del Estero	Isca Yacú	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Paraguay	Boquerón, Alto Paraguay y Depto. San Pedro	Yeo y col., 2005	3	0	1, 5	
	Lutreolina crassicaudata							
		Corrientes	Ralera	Bar y col., 1999	1	0	1	
	L. crassicaudata paranalis	Santa Fe	n.i. (chaco santafesino)	Mazza, 1936	n.i.	n.i.	3	Mazza y Romaña, 1932
	L. crassicaudata paranalis	Santa Fe	Florencia	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Thylamys pusillus							
	Marmosa pusilla	n.i.	n.i.	Barretto, 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Chaco	Pampa del Indio	Orozco, en prep.	10	0	1	Orozco, en prep.
	Marmosa pusilla	Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Wisnivesky-Colli y col., 1992	4	0	1	

Grupo	Especie y nombres científicos utilizados	Provincia o País	Localidad, paraje o departamento	Fuente	Nº Examinado	% positivo	Método de diagnóstico	Trabajo original
Marsupiales	***Thylamys pallidior***							
	Marmosa elegans	Cordoba	n.i.	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Marmosa pallidior	n.i.	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Monodelphis dimidiata							
		Chaco	Tres Estacas, Chacabuco y 12 de Octubre	Diosque y col., 2004	1	0.0	1	
	Monodelphis domestica							
		Paraguay	Boquerón, Alto Paraguay y Depto. San Pedro	Yeo y col., 2005	3	33.3	1, 5	
Edentados	***Dasypus novemcinctus***							
		Chaco	Machagai, H. Campo, Pampa del Indio, Va. Angela, Cotelai, Basail	Martínez y col., 1983	5	0	1	
		Chaco	Horquilla	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Chaco	Pampa del Indio	Alvarado-Otegui, 2009	9	66.7	1	
		Chaco	Pampa del Indio	Orozco, en prep.	5	20.0	1	
		Chaco	Presidencia de la Plaza	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Corrientes	Saladas, San Miguel, Ituzaigó	Martínez y col., 1983	5	0	1	
		Formosa	El Colorado, Pirané	Martínez y col., 1983	3	0	1	
		Santa Fe	Florencia	Romaña y Schurmann, 1932	18	16.7	2, 3, 4	
		Santa Fe	Florencia	Mazza y col., 1931	7	28.6	2, 3, 4	
		Paraguay	Boquerón, Alto Paraguay y Depto. San Pedro	Yeo y col., 2005	38	44.7	1, 5	
	Chaetophractus vellerosus							
		Chaco	Impenetrable, Tres isletas, H. Campo, Basail	Martínez y col., 1983	9	0	1	
		Chaco	Pampa del Indio	Alvarado-Otegui, 2009	2	0	1	
		Chaco	Pampa del Indio	Orozco, en prep.	2	0	1	
		Chaco	Tres Estacas, Chacabuco y 12 de Octubre	Diosque y col., 2004	8	0	1	
		Corrientes	Ituzaigó	Martínez y col., 1983	2	0	1	
		Corrientes	Ralera	Bar y col., 1999	1	0	1	
		Formosa	Las Lomitas, El Colorado, Herradura	Martínez y col., 1983	3	0	1	
	Ch. vellerosus vellerosus	Jujuy	n.i.	Mazza, 1936	n.i.	n.i.	n.i.	Mazza, 1931
		Jujuy	El Carmen	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Jujuy	Perico	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Jujuy	Yuto	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Ch. vellerosus vellerosus	Jujuy		Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Mazza, 1929, 1930
	Ch. vellerosus pannosus	Jujuy		Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Ch. vellerosus vellerosus	Salta	Misión San Patricio	Mazza, 1936	3	0	2	
		Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Wisnivesky-Colli y col., 1992	2	0	1	

Grupo	Especie y nombres científicos utilizados	Provincia o País	Localidad, paraje o departamento	Fuente	Nº Examinado	% positivo	Método de diagnóstico	Trabajo original
Edentados	***Chaetophractus villosus***							
		n.i.	n.i.	Barretto, 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		n.i.	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Formosa	n.i.	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Wisnivesky-Colli y col., 1992	1	0	1	
	Chaetoprhastus spp	Paraguay	Boquerón, Alto Paraguay y Depto. San Pedro	Yeo y col., 2005	28	3.6	1, 5	
	Tolypeutes matacus							
	T. matacos	Chaco	Impenetrable, Tres isletas, Machagai, H. Campo, C	Martínez y col., 1983	8	0	1	
		Chaco	Pampa del Indio	Alvarado-Otegui, 2009	2	0	1	
		Chaco	Pampa del Indio	Orozco, en prep.	11	9.1	1	
		Chaco	Tres Estacas, Chacabuco y 12 de Octubre	Diosque y col., 2004	3	0	1	
	T. mataco	Corrientes	Saladas	Martínez y col., 1983	3	0	1	
	T. mataco	Formosa	Las Lomitas, El Colorado, Pirané, Herradura	Martínez y col., 1983	14	0	1	
	T. mataco	Jujuy	n.i.	Mazza y col., 1931	n.i.	0	n.i.	
	T. matacos	Jujuy, Salta y Chaco		Mazza, 1936	33	0	2, 3	Revisión sin cita
	T. matacos	Salta	Depto. Orán	Mazza, 1940	1	n.i.	n.i.	
	T. matacos	Salta	Manuela Pedraza	Mazza, 1940	n.i.	n.i.	n.i.	
	T. matacos	Salta	Los Blancos	Mazza, 1940	1	n.i.	n.i.	
	T. matacos	Salta	J. V. González	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	T. matacos	Salta	Lozano	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	T. matacos	Salta	Manuela Pedraza, Misión San Patricio, Lozano, Yu	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	T. matacos	Salta	Metán	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	T. matacos	Salta	Misión San Patricio	Mazza, 1936	12	8.3	2, 3	
	T. matacos	Salta	Yuchán	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Tolipeutes matacus	Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Wisnivesky-Colli y col., 1992	15	0	1	
		Paraguay	Boquerón, Alto Paraguay y Depto. San Pedro	Yeo y col., 2005	16	0	1, 5	
	Euphractus sexcinctus							
		Chaco	Pampa del Indio	Orozco, en prep.	1	0	1	
		Corrientes	Ralera	Bar y col., 1999	1	0	1	
		Jujuy	n.i.	Mazza y col., 1931	n.i.	0		n.i.
		Jujuy	n.i.	Schweigmann y col., 1992	1	0	1	
		Paraguay	Boquerón, Alto Paraguay y Depto. San Pedro	Yeo y col., 2005	23	17.4	1, 5	
	¿Cabassous chacoensis?							
	Cabassous unicinctus	Argentina	n.i.	Barretto, 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Cabassous unicinctus	Argentina	n.i.	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Cabassous unicinctus	Argentina	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita

Grupo	Especie y nombres científicos utilizados	Provincia o País	Localidad, paraje o departamento	Fuente	Nº Examinado	% positivo	Método de diagnóstico	Trabajo original
Carnívoros	***Galictis cuja***							
	Grisonella ratellina	Argentina	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Grisonella huronax	Argentina	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Jujuy	n.i.	Schweigmann y col., 1992	2	0	1	
	Galictis cuja furax	Santa Fe	Malabrigo	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Wisnivesky-Colli y col., 1992	1	100	1	
	Eyra barbara							
	Tayra barbara	Jujuy	La Almona	Mazza, 1940	1	100	1, 2, 3, 4	
		n.i.	n.i.	Barretto, 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Conepatus chinga							
		Chaco	Tres Estacas, Chacabuco y 12 de Octubre	Diosque y col., 2004	6	0	1	
		Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Pietrokovsky y col., 1991	49	4.1	1	
		Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Wisnivesky-Colli y col., 1992	36	5.5	1	
		Paraguay	Boquerón, Alto Paraguay y Depto. San Pedro	Yeo y col., 2005	1	0	1, 5	
	Felis yaguaroundi							
		Cordoba	Río Seco	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		n.i.	n.i.	Barretto, 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Wisnivesky-Colli y col., 1992	3	0	1	
	Nasua nasua							
		Chaco	Colonia Benítez	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Cerdocyon thous							
		Argentina	n.i.	Barretto, 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
		Argentina	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Lycalopex culpaeus							
	Pseudoplex culpeus culpeus	Argentina	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Pseudoplex culpeus andinus	Jujuy	La Almona	Mazza, 1940	2	50	1, 2, 3, 4	
	Lycalopex griseus							
	Dusicyon griseus	Argentina	n.i.	Barretto, 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Lycalopex gymnocercus							
	Dusyceon griseus	Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Wisnivesky-Colli y col., 1992	1	0	1	
	Pseudoplex gracilis gracilis	Argentina	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Dusicyon gymnocercus	Jujuy	n.i.	Schweigmann y col., 1992	3	0	1	
	Pseudalopex gracilis gracilis	Salta	Los Blancos	Mazza, 1940	1	100	2, 3	
	Lycalopex gymnocercus	Chaco	Pampa del Indio	Orozco, en prep.	5	0	1	

Grupo	Especie y nombres científicos utilizados	Provincia o País	Localidad, paraje o departamento	Fuente	Nº Examinado	% positivo	Método de diagnóstico	Trabajo original
Chiropteros	***Eumops patagonicus o Eumops bonariensis***							
	Eumops bonariensis bekeri	Argentina	n.i.	Barretto, 1972 y 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Dias y Romaña, 1939
	Eptesicus funiralis							
		Argentina	n.i.	Barretto, 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Desmodus rotundus							
		Chaco	Tres Estacas, Chacabuco y 12 de Octubre	Diosque y col., 2004	1	0	1	
	Histiotus montanus							
	Histiotus montanus	Argentina	n.i.	Barretto, 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Histiotus laephotis	Argentina	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Histiotus montanus	Argentina	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Myotis levis dinellii							
	Myotis dinellii	Argentina	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Myotis nigricans							
	Myotis nigricans nigricans	Salta	Depto. Orán	Mazza, 1940	1	n.i.	n.i.	
	¿Nyctinomops macrotis?							
	Nyclinomus macrolis	Salta	Misión San Patricio	Mazza, 1936	3	0	2	
	¿Nyctinomops macrotis o Tadarida brasiliensis?							
	Tadarida macrotis	Argentina	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
Roedores	*Ratones*							
	Akodon dolores	Cordoba*	La Higuera	Basso y col., 1982	134	15	1, 2, 3, 4, 5, 6	
	Calomys laucha	Cordoba*	Río Cuarto	Moretti y col., 1980	84	1.2	1, 2, 3, 4, 5, 6	
	Calomys laucha	Paraguay	Boquerón, Alto Paraguay y Depto. San Pedro	Yeo y col., 2005	5	0	1, 5	
	Calomys musculinus	Cordoba*	La Higuera	Kravetz y col., 1978	13	7.7	1, 3, 4, 5, 6, 7	Basso y col., 1977
	Histiotus laephotis	n.i.	n.i.	Mazza, 1949	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Phyllotis griseoflavus	Argentina	n.i.	Barretto, 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Rodriguez, y col. 1967
	Phyllotis griseoflavus	La Rioja	Guayapas	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Graomys griseoflavus	Paraguay	Boquerón, Alto Paraguay y Depto. San Pedro	Yeo y col., 2005	3	0	1, 5	
	Cuises							
	Cavia sp	Cordoba*	Ciudad	Carcavallo y Martínez, 1968	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Cavia sp.	Argentina	n.i.	Barretto, 1985	n.i.	n.i.	n.i.	Revisión sin cita
	Galea musteloides							
	Microcavia australis	Santiago del Estero	Amamá y alrededores	Wisnivesky-Colli y col., 1992	19	0	1	
		Chaco	Pampa del Indio	Alvarado-Otegui, 2009	1	0	1	
		Paraguay	Boquerón, Alto Paraguay y Depto. San Pedro	Yeo y col., 2005	26	0	1, 5	

*: límite Región Pampeana

Dada la amplia lista de mamíferos naturalmente infectados con *T. cruzi* (probablemente no definitiva), si existiera la posibilidad de eliminar todas las infecciones humanas, la enzootia aún permanecería como una permanente amenaza potencial en sus variados hospedadores y vectores silvestres. No obstante, y contradiciendo lo recién postulado, llama la atención que existen lugares con ambientes naturales con infección (e.g., en EEUU) donde la infección humana es nula o rara (Barreto, 1985). Por lo tanto, los ciclos de transmisión doméstico y silvestre de *T. cruzi* podrían estar aislados o conectados entre sí (Zeledón, 1974; Diotaiuti y col., 1995; Miles y col., 1977, 2003). El llamado ciclo silvestre de transmisión sería mucho más complejo que lo que habitualmente es asumido debido, entre otras cosas, a la amplia variedad de vectores y hospedadores posibles. Por ejemplo, se ha comprobado la existencia de dos ciclos silvestres de transmisión, independientes y simultáneos, en la misma área de bosque en Brasil (Fernandes y col., 1999; Jansen, 1999; Jansen y col., 2000; Lisboa y col., 2000; Pinho y col., 2000). En consecuencia, hasta el momento resulta difícil establecer generalizaciones o predicciones sobre la dinámica enzoótica de patógenos, y cada sistema (ambiente doméstico más el silvestre) en principio debería ser considerado como único, con características particulares respecto a la circulación del parásito *T. cruzi*.

El tipo de paisaje y el cambio en su uso podrían ejercer un efecto significativo (ya sea positivo o negativo) sobre la tasa de transmisión de numerosas enfermedades transmisibles, y es considerado uno de los responsables directos de la ocurrencia y proliferación de las denominadas “enfermedades emergentes” (Service, 1991; Patz y col., 2000, 2004). La transmisión enzoótica de *T. cruzi* y la distribución de sus vectores en el medio silvestre se hallarían estrechamente asociadas al tipo de cobertura y uso del paisaje (Romaña y col., 1999; Herrera y col., 2007; Vazquez-Prokopec y col., 2008).

A lo largo de América se ha visto que el solapamiento de los ciclos de transmisión silvestre y doméstico de *T. cruzi* varía de zona en zona dependiendo de los hospedadores y vectores involucrados, tanto domésticos como silvestres (Barretto, 1975). En caso que alguno o varios de estos actores estuviera infectado y se desplazara entre ambos ciclos o ambientes, es lógico pensar que cuanto más prevalente sea la infección con *T. cruzi* en un ciclo más probable será que eventualmente se transmita al otro y quizás se establezca. Por lo tanto, una hipótesis plausible es que el control vectorial efectivo en el ciclo doméstico podría provocar, al menos en parte, una reducción en la intensidad de transmisión de *T. cruzi* (solapamiento) en el ciclo silvestre. Si los ciclos silvestre y doméstico fueran discontinuos en una región, el control de la transmisión doméstica de *T. cruzi* podría proceder sin la amenaza de la inmediata

reinvasión desde los hábitats silvestres circundantes. En contraste, donde los ciclos silvestre y doméstico estuvieran interconectados en forma más o menos sustancial, ambos ciclos deberían ser considerados para el control, para lo cual habría que identificar las acciones más convenientes para evitar la (re)introducción del parásito al ambiente humano.

En definitiva, investigar y comprender la estructura y los procesos que modifican al ciclo silvestre de transmisión de *T. cruzi* sirve en primera instancia para determinar su relación con el ciclo doméstico y, si existiera algún nivel de solapamiento o riesgo para el ser humano (también al colonizar o introducirse en el ambiente silvestre), este conocimiento podría ser útil para tomar los recaudos necesarios. Un ejemplo de esto ocurre en la actualidad en toda la cuenca Amazónica (Coura y col., 2002).

2.1.2. Objetivos particulares

- Evaluar el rango de hospedadores y prevalencia de *T. cruzi* en una amplia variedad de mamíferos silvestres en una zona del chaco semiárido, con énfasis adicional en grupos menos estudiados (e.g., roedores y armadillos).
- Evaluar la existencia de variaciones a largo plazo en la dinámica e intensidad de transmisión silvestre de *T. cruzi,* comparando los resultados actuales con datos colectados en la misma área entre los años 1984 y 1991, antes de la vigilancia vectorial sostenida iniciada en 1992 y de una masiva deforestación alrededor de uno de los parajes estudiados.

2.1.3. Hipótesis de trabajo

- Partiendo de la base que pareciera existir un solapamiento al menos parcial de los ciclos doméstico y silvestre de transmisión de *T. cruzi* en el área de estudio en Santiago del Estero durante los 1980s (Wisnivesky-Colli y col., 1992), se hipotetizó que las acciones de control vectorial sostenido durante más de dos décadas habrían disminuido la prevalencia de infección en los mamíferos silvestres si el ciclo doméstico y el silvestre estuvieran conectados.

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. Área de estudio

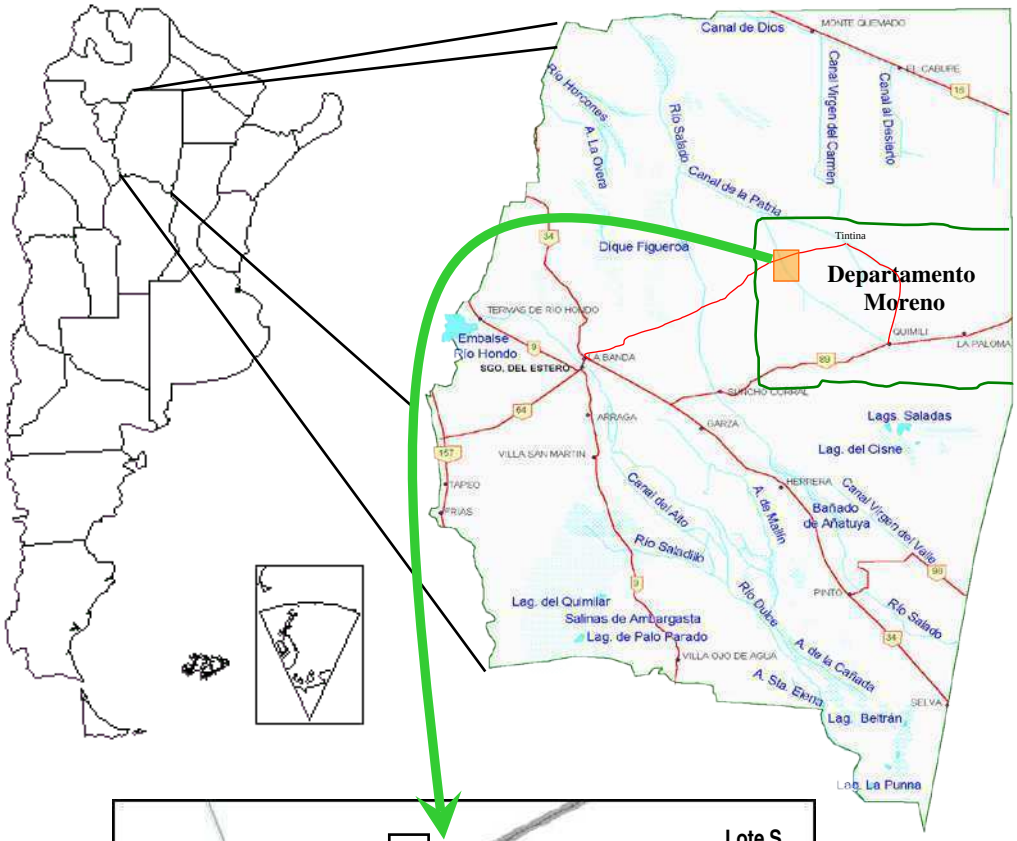
2.2.1.1. Ubicación y aspectos ambientales

Los estudios de campo fueron llevados a cabo en el bosque seco alrededor de Amamá (27º 12’ 30’’S, 63º 02’ 30’’O) y siete comunidades rurales vecinas (Trinidad, Mercedes, Pampa Pozo, Villa Matilde, San Luis, San Pablo y La Curva) y en un asentamiento aislado (Lote S), situados en el Departamento Moreno, Provincia de Santiago del Estero, Argentina (Figura 2.1). Las comunidades están constituidas por pequeños grupos de casas cercanas entre sí que pertenecen a unas pocas familias y que forman los distintos parajes o comunidades. El área es parte del Chaco semiárido, con una estación seca desde abril a octubre. Durante 2002-2007 contamos con una estación meteorológica (Weather Monitor II, Davis Co., Baltimore, MD) localizada en Amamá midiendo la precipitación media anual (740 mm), la humedad relativa (55-68%), y la temperatura media anual (22°C), la que varió desde 28°C en los meses calurosos (enero-febrero) a 15°C en los meses más fríos (julio). El paisaje se caracteriza por un bosque secundario de madera dura con *Schinopsis lorentzii* (quebracho colorado santiagueño), *Aspidosperma quebracho blanco* (quebracho blanco), varias especies de *Prosopis sp*. donde se destacan *Prosopis nigra* (algarrobo negro) y *Prosopis alba* (algarrobo blanco), los cuales han sido fuertemente explotados desde principios de la década de 1920s y especialmente desde los 1990s. Otras especies de árboles característicos son *Caesalpinia paraguariensis* (guayacán), *Prosopis kuntzei* (itín), actualmente fuertemente explotados para madera dada la escasez de las anteriores especies, el *Ziziphus mistol* (mistol), *Parkinsonia praecox* (brea) y la *Acacia aroma* (tusca).

En el año 2002, las comunidades de estudio presentaban un amplio rango de variación en el número de viviendas (6-61), de habitantes (29-304), de superficie habitada (<0,01-5,23 km^2) y de tipo de paisaje circundante (1,2-23,8% de su superficie cubierta por bosques poco modificados) (Vázquez-Prokopec, 2007). Dada la escasez de agua y marcada estacionalidad de las lluvias, la población depende para el consumo de agua del “Canal de La Patria” que atraviesa estos parajes, utilizándola para ellos como para los animales. Además existen varias represas construidas por las comunidades, las cuales se llenan con el agua de lluvia aunque difícilmente persisten hasta la nueva temporada de lluvias.

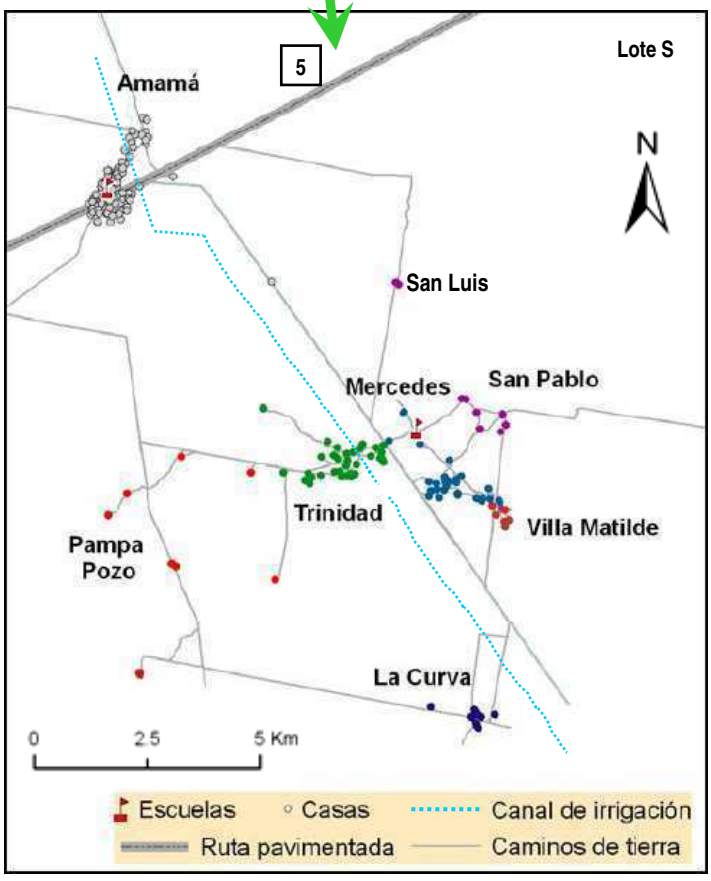
Figura 2.1. A: ubicación del área de estudio en el Dpto. Moreno dentro de la Provincia de Santiago del Estero, en Argentina. B: detalle del área de estudio con la ubicación de las viviendas rurales pertenecientes a cada poblado (indicadas con colores diferentes) y la ubicación de las escuelas primarias.

A:



Gentileza de G.M. Vazquez-Prokopec

B:



2.2.1.2. Historia de tratamiento para el control de la infestación por triatominos

El Departamento Moreno no fue objeto de campañas de control de triatominos hasta bien entrada la década de los 1990s. En 1985 Amamá fue el único paraje rural del Departamento Moreno que fue tratado con insecticidas residuales (piretroides) para la eliminación de *T. infestans*. La ausencia de un sistema de vigilancia permanente contra la reinfestación de las viviendas resultó en un aumento exponencial de la reinfestación doméstica, y la transmisión doméstica de *T. cruzi* recomenzó unos tres años después (Gürtler y col., 1991, 1994, 2005). Un segundo tratamiento con insecticidas piretroides realizado en 1992 incluyó otras comunidades rurales vecinas (Trinidad, Mercedes, Pampa Pozo, San Pablo, San Luis y Villa Matilde) altamente infestadas. Seguido al tratamiento se llevó a cabo un monitoreo más acciones de control entomológico de la reinfestación en forma regular combinando participación comunitaria y rociados focales profesionales durante 1993-1995, y rociados selectivos realizados por los propios pobladores o líderes comunitarios entre 1996 y 2004 (Cecere y col., 1999, 2002). Desde 1996 en adelante, la captura de un *T. infestans* de cualquier estadio (excepto huevos) determinaba el rociado de todas las áreas domésticas y peridomésticas de cada vivienda con una suspensión concentrada de deltametrina (K-Othrina®; Agrevo, San Isidro, Argentina) o beta-cipermetrina (Sipertrin®; Chemotecnica, Cañuelas, Argentina) diluida en agua para lograr una concentración de 25 mg o 50 mg de ingrediente activo/metro^2, respectivamente. Las infestaciones detectadas y las acciones de control efectuadas fueron registradas localmente por los líderes comunitarios o el agente sanitario local. Esta vigilancia vectorial sostenida durante 1993-2004 resultó en un muy bajo número de *T. infestans* y otros triatominos infectados con *T. cruzi* en esas comunidades (Gürtler y col., 1994, 2007b; Cecere y col., 1999, 2002; Marcet y col., 2006a; Cardinal y col., 2006, 2007). Como parte de un nuevo programa de intervención, todas las viviendas fueron rociadas con insecticidas piretroides por personal de la Coordinación Nacional de Control de Vectores (CNCV) en abril de 2004, y la reinfestación fue monitoreada semestralmente hasta noviembre de 2006, con rociados focales de los sitios donde se hallaban *T. infestans*.

2.2.1.3. Aspectos epidemiológicos sobre la Enfermedad de Chagas en la zona

Hacia fines de los 1980s, los relevamientos realizados en Amamá produjeron un total de 1.165 *T. infestans* capturados en 30 (73%) de las casas evaluadas, y la proporción de triatominos domésticos y peridomésticos infectados con *T. cruzi* fue del 21%; dichos valores

fueron significativamente menores a los registrados previo al rociado realizado en 1985 (Gürtler y col., 1991). Para la misma época los parajes de Trinidad y Mercedes (los cuales nunca habían sido rociados por el CNCV) presentaron unas prevalencias de infestación con *T. infestans* del 89% y 92%, respectivamente, y un 42% de los triatominos analizados infectados con *T. cruzi* (Gürtler y col., 1992).

La extensa campaña de aplicación de insecticidas piretroides en todas las comunidades del área de estudio en 1992 (excepto La Curva) y las acciones sostenidas de control del vector durante 1993-2004 redujeron a niveles marginales la abundancia de *T. infestans* infectadas con *T. cruzi* en hábitats domésticos y peridomésticos. La transmisión de *T. cruzi* a los niños menores de 15 años declinó sostenidamente desde 18% en 1994 hasta alcanzar un 0% en 2006 (Gürtler y col., 2007b). En los perros domésticos, centinelas de la transmisión, la prevalencia de infección cayó desde 65% en 1992 a 8,9% y 4,7% a los 7,5 y 10 años después de las acciones sostenidas de control del vector, respectivamente (Castañera y col., 1998; Cardinal y col., 2007; Gürtler y col., 2007a).

En los parajes estudiados, la búsqueda activa de triatominos con la ayuda de un agente desalojante (tetrametrina 0,2%) en todos los sitios domésticos (media hora-hombre por vivienda) y peridomésticos (una hora-hombre por vivienda) por parte de técnicos de la CNCV reveló un total de 56 (42 sitios peridomésticos y 14 domicilios) focos de *T. infestans* (i.e., sitios hallados al menos una vez infestados entre 2004 y 2006) entre 1.029 sitios (869 peridomésticos y 160 domicilios) evaluados en octubre de 2004, abril y diciembre 2005, y noviembre de 2006. La captura total de *T. infestans* durante dichas evaluaciones fue de 268 especímenes, con una media geométrica por sitio de 7,8 *T. infestans* en sitios peridomésticos y 1,8 en domicilios evaluados, con aproximadamente un 50% de los focos con solo un insecto. Cabe destacar que el 59% de los *T. infestans* capturados y el 50% de los sitios que al menos estuvieron una vez infestados entre estas evaluaciones lo fueron en noviembre de 2006. Estos últimos porcentajes, surgidos luego de casi un año sin evaluación ni rociado focal, muestran lo rápido que se producen las reinfestaciones por *T. infestans* cuando se relaja la vigilancia.

2.2.2. Fechas de campañas

El estudio longitudinal constó de 5 campañas realizadas en los meses de marzo, julio y noviembre del año 2003, julio de 2004 y marzo de 2007, y capturas ocasionales en noviembre de 2002 y abril y noviembre de 2004. Adicionalmente, pobladores locales realizaron búsquedas y

capturas dirigidas exclusivamente a zarigüeyas entre agosto a octubre de 2003, y se encargaron de su cuidado hasta que fueron procesadas en noviembre de 2003.

2.2.3. Captura de mamíferos

Se utilizaron tres métodos de captura viva: trampas jaula tipo National, trampas Sherman, y captura manual. Los mamíferos de mediano tamaño fueron atrapados vivos con jaulas tipo National cebadas con carne vacuna, pollo o pescado, y frecuentemente aromatizadas con aceite de anchoas o atún y salsa de pescado. Con el propósito de capturar diferentes especies se usaron trampas de diferentes tamaños: grandes (80 x 30 x 40, largo x ancho x alto en centímetros, respectivamente), cortas (48 x 20 x 20), y largas (100 x 20 x 20), estas últimas con una o dos entradas enfrentadas.

Los roedores (ratones y cuises) y marmosas fueron capturados con trampas Sherman cebadas con semillas (principalmente sorgo, avena y maíz), golosinas a base de pasta de maní (Mantecol®, Georgalos, Buenos Aires, Argentina), y/o frutas secas (pasas de uvas). Las capturas de ratones, su manipulación y el manejo de trampas Sherman fueron realizados únicamente por personas del equipo de trabajo usando medidas de bioseguridad para prevenir contagios por aerosoles como los que producen la Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal (FHSR) o el Síndrome Pulmonar por Hantavirus (SPH) (Mills y col., 1998).

Las capturas manuales fueron en general realizadas por cazadores locales experimentados, algunos de los cuales ya habían participado en similares trabajos previos en la zona, más algunas pocas capturas ocasionales (incluyendo capturas hechas por el propio equipo de investigación).

Las trampas fueron colocadas en su mayoría en el monte, lejos de cualquier construcción humana, aunque varias trampas (especialmente las que operaban los pobladores locales) fueron también colocadas en la interfase entre el peridomicilio (especialmente los corrales de cabras) y el monte perimetral para capturar las especies que tienen cierto grado de sinantropismo. Las trampas fueron revisadas diariamente cada mañana y recebadas cuando la carnada se encontraba reseca (aproximadamente cada 2 a 5 días). A todos los cazadores locales les fueron explicados los objetivos del estudio y cómo debían ser mantenidos los animales hasta que fueran retirados por algún miembro del equipo de trabajo para su procesamiento. Para eso se los visitó diariamente durante toda la campaña.

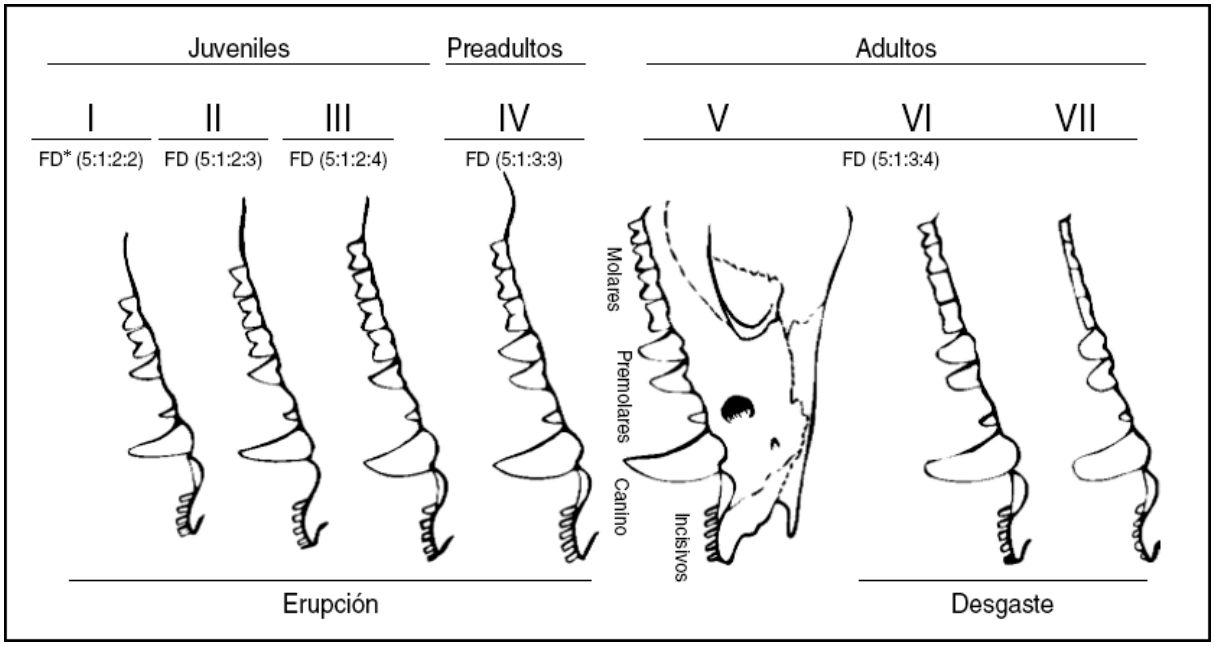
Se registró el lugar de captura de cada animal teniendo en cuenta la distancia y dirección aproximadas con respecto a alguna vivienda o alguna otra referencia notoria en una

imagen satelital Ikonos del área de estudio tomada en octubre de 2002 (resolución espacial de 1 m para la imagen pancromática y 4 m para la multi-espectral). Cuando los animales eran capturados por los cazadores locales se les preguntó el método de captura y la posición aproximada respecto a su vivienda u otra referencia. Con estos datos se realizó un mapa de capturas con el programa ArcGis9 digitalizando la localización aproximada de los sitios de captura identificados sobre la imagen satelital.

2.2.4. Procesamiento de los mamíferos

Los animales capturados fueron transportados para su procesamiento al laboratorio de campo donde fueron examinados clínicamente y monitoreados por un médico veterinario antes, durante y después de la anestesia. La anestesia se realizó con clorhidrato de tiletamina y clorhidrato de zolacepam (Zelazol®, Fort Dodge Sanidad Animal, La Plata, Argentina) o clorhidrato de ketamina (Vetaset®, Fort Dodge) combinado con xilacina (Ronpun®, Bayer) en las dosis apropiadas para cada especie de acuerdo a Carpenter (2001). Los roedores (ratones y cuises) y marmosas no fueron anestesiados. Cada animal fue pesado, sexado y medido desde la nariz a la base de la cola. Las zarigüeyas fueron asignadas a una determinada clase de edad basada en la fórmula dental, erupción y desgaste dental de acuerdo a Schweigmann y colaboradores (1999) (Figura 2.2).

Figura 2.2. Clasificación de zarigüeyas *Didelphis albiventris* en estadios (clases de edad) según dentición propuesta por Schweigmann y colaboradores (1999). Estadio I: erupción de 2 premolares y dos molares, el primero deciduo; Estadio II: se agrega un tercer molar; Estadio III: se agrega un cuarto molar; Estadio IV: el primer molar (deciduo) es reemplazado por el tercer premolar; Estadio V: erupción del último molar; Estadios VI y VII: cúspides de caninos, premolares y molares desgastadas. *: FD = fórmula dentaria



En la medida que fue posible según el estado clínico del animal, tamaño y accesibilidad de los sitios de extracción venosa, se les tomó muestras de sangre para extraer suero excepto a la mayoría de los cuises y marmosas. Dependiendo de cuestiones operativas, a varios individuos se les examinó una gota de sangre fresca diluída con solución fisiológica al microscopio con un aumento de 400× en búsqueda de tripanosomas.

Los animales fueron marcados antes de su liberación por si se producía una recaptura. Cuando fue posible se los tatuó en las orejas con un código único para cada mamífero de la misma especie y sexo. Si no era posible tatuar al animal, como en el caso de los mamíferos pequeños, se los pintaba con tinta indeleble que persistía por lo menos durante el tiempo de esa campaña. En la última campaña se les colocó pequeñas caravanas numeradas en la oreja derecha. Luego de realizar la toma de muestras los animales eran mantenidos en un lugar adecuado hasta su recuperación de la anestesia antes de liberarlos en el lugar de captura, a excepción de los ratones a los cuales se les practicó eutanasia dado que se requería una cantidad de sangre mayor a la de su volemia y que son necesarios sus cráneos para poder determinar la especie. Los especímenes de ratones fueron identificados por Emiliano

Muscheto y Pablo Teta (Depto. EGE, FCEN-UBA), a partir de la comparación de caracteres morfológicos con ejemplares de referencia depositados en el Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" y la bibliografía correspondiente (Ferro y Martínez, 2009; Myers, 1989; Myers y Carleton, 1981; Steppan, 1995).

La bioseguridad y los procedimientos para el procesamiento de los animales fueron llevados a cabo de acuerdo a los protocolos del Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) de la Universidad de Illinois (EE.UU.).

2.2.5. Métodos parasitológicos

Cada animal fue examinado mediante la técnica de xenodiagnóstico (Figura 2.3) con *T. infestans* de tercer o cuarto estadio ninfal contenidos en una o dos pequeñas cajas cilíndricas de madera aplicadas sobre el vientre de los animales (zona de pelaje menos tupido) durante 25 minutos (Gürtler y col., 1996). El número de triatominos que se colocó dependió del tamaño y peso del mamífero. Se colocaron 5 *T. infestans* a los roedores y marmosas, 10 a los armadillos, y 20 a los zorrinos, zarigüeyas y zorros; sólo se usaron 10 triatominos cuando su peso era menor a 500 grs. Los triatominos fueron provistos por el insectario de la Coordinación Nacional de Control de Vectores de Santa María de Punilla, Córdoba, Argentina; se hallaban libres de infección por *T. cruzi* u otros tripanosomatídeos, y no se habían alimentado en las 2 o 3 semanas previas a su aplicación. Después de la exposición al hospedador cada caja fue inspeccionada para asegurarse que los triatominos estuvieran alimentados a repleción y así aumentar la probabilidad de que hubieran ingerido algún *T. cruzi* del torrente sanguíneo del mamífero. En los casos en los cuales los triatominos no se habían alimentado a repleción, se los expuso durante un período adicional de tiempo (5-10 min.). Las cajas de los xenodiagnósticos fueron transportadas al laboratorio de Buenos Aires donde fueron mantenidas a una temperatura entre 24-26ºC y humedad relativa entre 40-60%. Durante los exámenes de infección fue registrado el número de exuvias y triatominos muertos en cada caja para evaluar la calidad del xenodiagnóstico (i.e., los triatominos se alimentaron en forma adecuada). El análisis de infección por *T. cruzi* se realizó agrupando el contenido rectal de 5 vinchucas del mismo xenodiagnóstico, los cuales se examinaron al microscopio con una amplificación de 400× a los 30-40 días post-exposición y a los 60-70 días post-exposición de cada hospedador. Los triatominos de los grupos que dieron positivos para *T. cruzi* fueron re-examinados individualmente. Se calculó la infectividad de los mamíferos al vector como el número de *T. infestans* positivas para *T. cruzi* dividido por el total de insectos

expuestos a un dado hospedador y examinados al menos una vez, excluyendo aquellos insectos que murieron antes del primer examen microscópico (Gürtler y col., 2007a). La infectividad al vector fue calculada sólo para los animales con xenodiagnóstico positivo.

Figura 2.3. Xenodiagnóstico realizado a una de zarigüeyas *D. albiventris*, un armadillo *Ch. vellerosus* y un zorro *L. gymnocercus*.

2.2.6. Aislamiento de parásitos

A partir de las heces provenientes de los triatominos infectados de los xenodiagnósticos se aislaron y cultivaron los parásitos. Los procedimientos para realizar el aislamiento fueron descriptos por Lauricella y colaboradores (2005). Los parásitos de las heces de las vinchucas fueron cultivados en medio bifásico compuesto por infusión de cerebro-corazón (brain-heart-infusion, BHI) enriquecido con suero fetal bovino y agar nutritivo mezclado con sangre de conejo defibrinada; las heces también fueron inoculadas en 2-4 ratones Balb-C. Los ratones fueron sacrificados luego de 1 mes de su inoculación para la realización de hemocultivos. Los cultivos eran mantenidos a 28°C, 50% de humedad relativa y el crecimiento de los parásitos era monitoreado microscópicamente cada 15 días durante 4 meses. Cuando se alcanzaban a desarrollar al menos 3 x 10^5 parásitos/ml, los cultivos se cosechaban y criopreservaban en nitrógeno líquido. Se denominó "aislado" a parásitos de *T. cruzi* cultivados y criopreservados que provenían de un individuo naturalmente infectado (Cardinal, 2008).

2.2.7. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La extracción de ADN a partir de cultivos de *T. cruzi* se realizó siguiendo el protocolo descripto por Marcet y colaboradores (2006a). Las infecciones con *T. cruzi* fueron confirmadas por kADN-PCR, reacción que amplifica un fragmento de 330 pares de bases (pb) de ADN del minicírculo del kinetoplasto usando cebadores y condiciones de ciclado ya publicadas (Schijman y col., 2003; Burgos y col., 2005). Las reacciones de PCR fueron realizadas bajo condiciones óptimas para prevenir la contaminación del ADN. Cada ronda de PCR incluía 100 fg de ADN de *T. cruzi* como control positivo, y agua destilada estéril en vez de ADN como control negativo. Las alícuotas de 12 µl de los productos de la PCR eran visualizadas bajo luz U.V. luego de las corridas de electroforesis en gel de agarosa al 2,5-4% conteniendo bromuro de etidio.

Las UDTs de *T. cruzi* fueron identificados en muestras cultivadas de cada animal infectado mediante estrategias de PCR dirigidas a la secuencia líder (o "mini-exón), 18s rADN, 24s alfa rADN, y el marcador genómico A10 con la incorporación de la enzima polimerasa Taq platinum (Invitrogen, USA) como fue descripto por Marcet y colaboradores (2006a).

2.2.8. Serodiagnóstico e histopatología

A los especímenes de ratones que presentaron algún tripanosomatídeo en la lectura de sangre fresca se le realizó un análisis histopatológico. Dicho análisis fue realizado por la Dra. María Arnaiz (Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chabén"-ANLIS) y constó en la observación macroscópica y microscópica de cortes de corazón, músculo esquelético, pulmón, hígado y bazo. En el mismo instituto se realizó el diagnóstico serológico de la infección por *T. cruzi* de 42 ratones y 3 zorros a cargo de la Dra. Marta Lauricella. Se utilizó un inmunoensayo enzimático (ELISA) para el tamizaje de todos los sueros y la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para corroborar la reactividad obtenida por ELISA en algunos ratones. Para el ELISA, cada suero fue ensayado por duplicado utilizándose una dilución 1:200 y se empleó como segundo anticuerpo un anti-IgG de ratón marcado con HRP preparado en cabra (Vector, EEUU) para los ratones y un anti-IgG de perro preparado en cabra (Biosys, Francia) para los zorros, usando procedimientos estandarizados para dicho fin (Lauricella M.A., resultados no publicados). Para la realización de la técnica de IFI se utilizaron improntas con epimastigotes de la cepa Tulahuén de *T. cruzi* fijados con polilisina (Sigma-Aldrich) diluida 1/10 empleando una anti-gama total de perro marcada con isotiocianato de fluoresceína preparada en cabra (Laboratorio de Inmunodiagnóstico, Buenos Aires, Argentina). Para realizar la titulación del antisuero marcado se utilizaron controles reactivos y no reactivos de ratones. Una absorbancia óptica ≥ 0,2 (para ELISA) y un título ≥ 1:16 (para IFI) fueron usados como valores de corte.

2.2.9. Cambio de paisaje mediante el procesamiento de imágenes satelitales

Se utilizaron imágenes del satélite Landsat 5 TM (resolución espacial de 30 x 30 m) adquiridas en enero 1992, diciembre 1997, diciembre 2004 y enero 2007 (path/row: 229/79). Para la elección de las fechas (i.e., estación del año) se tuvo en cuenta que en el verano es cuando la vegetación está más vigorosa lo cual permite clasificar a la vegetación mejor que en invierno cuando las especies caducifolias y los pastos secos se pueden confundir más fácilmente con otras categorías. El procesamiento tuvo varios pasos sucesivos: 1°) se realizó una integración de las diferentes bandas de las imágenes en las que no se incluyó la banda 6 (infrarrojo térmico: 10,4-12,5 μm). Debido a que no todas las imágenes estaban igualmente georreferenciadas se realizó una corregistración de las imágenes de 2004 y 2007 respecto a la de 1997, la cual estaba proyectada en el sistema de coordenadas Transverse Mercator, datum

WGS1984. La imagen de 1992 estaba proyectada en el sistema de coordenadas Universal Transverse Mercator (UTM), Zona 20S, datum WGS1984. No fue posible cambiar su proyección debido a los errores que se producían al realizar una nueva georreferenciación, por lo cual se utilizó la proyección disponible asumiendo que al recortar el área de interés las diferentes proporciones de coberturas de la escena no cambiarían sustancialmente dado que en esa época había muy poca perturbación del paisaje dominante. 2°) se realizó un recorte del área de interés de aproximadamente 24 x 24 km con centro en el núcleo de las capturas de los mamíferos silvestres (Figura 2.4.). Se partió del supuesto que esta área muy probablemente contendría el área de acción de las especies capturadas. 3°) se realizó la calibración radiométrica de las bandas de la imagen resultante a partir de los coeficientes propuestos por Chander y colaboradores (2007); y se convirtieron los valores a reflectancia teniendo en cuenta el ángulo cenital solar. 4°) Por último se le aplicó una corrección por el método del Mínimo del Histograma o Píxel Oscuro (Chavez, 1996).

Una vez procesadas todas las imágenes se realizó una clasificación de la vegetación por el método no supervisado de Isodata (Iterative Self-Organizing Data Análisis Technique); este algoritmo utiliza el método de mínima distancia espectral para formar las clases. Este es el método de clasificación menos subjetivo, ya que no depende de categorías ni de campos de entrenamiento decididos por el usuario, las cuales pueden modificar los resultados. Sin embargo, este método tiene la desventaja de que los *clusters* identificados no tienen una relación directa con las categorías reales (i.e., un mismo tipo de cubierta del suelo puede separarse en varios grupos, o varios tipos de cubierta incluirse en uno solo) (Chuvieco, 1990). Por lo tanto, se realizaron varias pruebas hasta decidir que el programa genere 10 clases; con un número inferior de clases el algoritmo las agrupaba en forma muy poco realista. Posteriormente se reagruparon las clases a las que se ajustaba mejor la realidad de terreno aplicando para ello una metodología de interpretación visual interdependiente propuesta por la FAO (1996, 2001). Dicha técnica se basa en el corregistro de las imágenes que conforman una serie espacio-temporal y en una interpretación visual donde se comparan continuamente las imágenes involucradas con el objeto de señalar falsos cambios. Éste es un método muy efectivo porque ayuda a reducir al mínimo los errores más comunes que llevan a la detección de falsos cambios: 1) errores de posición, aunque se asume que las imágenes deben estar perfectamente corregistradas, el interprete puede identificar los posibles desplazamientos y no señalarlos como cambio; 2) errores de clasificación, el método permite moverse fácilmente de una fecha a la otra, por lo que el intérprete puede reconocer si se trata de verdaderos cambios o sólo de diferencias en la respuesta espectral de las cubiertas por condiciones particulares de

la toma de la imagen. Además, en este caso, al considerar imágenes de la misma resolución, también se evitan errores por diferencia de escala. Para realizar esta interpretación se contó, además de las imágenes clasificadas, con: una imagen Landsat 7 +ETM de diciembre de 2000; imagen Ikonos (resolución de 1 m) de octubre de 2002; imágenes de alta resolución (Quickbird) de Julio de 2003 y 2004 (en Google Earth); imagen de índice de vegetación NDVI (Normalized Digital Vegetation Index) de las mismas escenas procesadas, las cuales permitieron discriminar áreas de vegetación vigorosa, senescente o sin vegetación (Chuvieco, 1990). La inferencias realizadas estuvieron apoyadas en el proceso natural de sucesión de la vegetación y en tener un amplio conocimiento del área de estudio y de su historia luego de trabajar en ella durante los últimos 11 años. Todos los procesamientos de imágenes se llevaron a cabo con el programa Erdas Imagine 9.1 (Leica Geosystem).

Para cuantificar la deforestación a través de la tasa anual de deforestación (*r*) se utilizó la siguiente fórmula propuesta por Puyravaud (2003):

$$r = \frac{1}{(t_2 - t_1)} \times \ln \frac{A_2}{A_1}$$

Donde:

A_1: superficie de bosque al inicio del período

A_2: superficie de bosque al final del período

t_1: año de inicio del período

t_2: año final del período

Esta fórmula deriva del modelo de crecimiento poblacional exponencial donde *r* sería la tasa de crecimiento poblacional. La tasa anual de deforestación es un indicador de la magnitud de dicho proceso que no considera otros tipos de cambio en la cobertura forestal, tales como la regeneración, la fragmentación de bosques y otros. Si bien esta tasa omite la recuperación, en un bosque semiárido como el de Amamá ésta es tan lenta que se podría considerar despreciable en el lapso de tiempo estudiado. Esta forma de cálculo tiene un mayor significado matemático y biológico que simplemente expresar la deforestación como la proporción de la superficie de bosque presente al inicio del período que continúa siendo bosque al final del período analizado. Esta última expresión tiene el inconveniente de ser un valor relativo, arbitrariamente relacionado con la superficie inicial, lo que limita seriamente las posibilidades de comparación entre estudios. Otra forma de expresar la deforestación es como una proporción de la superficie total del área de análisis, corresponda o no a superficies

de bosque (e.g., el porcentaje deforestado de la superficie total de una provincia). Esta forma de expresión tiene el mismo problema que la anterior al ser una proporción de una superficie definida arbitrariamente que puede corresponder a límites políticos u otro criterio. Por otra parte, a diferencia de las otras formas de cálculo, *r* no subestima la tasa anual de deforestación cuando los cambios son muy grandes y acelerados.

Como el principal cambio del paisaje ha sido la deforestación masiva y el objetivo es cuantificarla en forma aproximada, se agruparon las clases de monte y monte medianamente degradado debido a que si bien la segunda categoría ya implica una perturbación, podemos suponer que dado que la explotación es más artesanal (hacha y motosierra) sigue siendo una zona que da refugio a la mayoría de los mamíferos silvestres, especialmente a los animales sinantrópicos como las zarigüeyas. No ocurriría lo mismo con las zonas donde el desmonte se produjo por procesos más devastadores producidos por de máquinas pesadas o fuego.

2.2.10. Análisis de datos

La fuerza de infección promedio o tasa de incidencia instantánea per capita (λ) fue estimada retrospectivamente a partir de la prevalencia de infección específica por clase etaria usando un modelo catalítico con tasa de recuperación nula (Muench, 1959). Este modelo asume la ausencia de recuperación parasitológica; incidencia de infección independiente del tiempo y la edad; hospedadores individuales homogéneamente expuestos; sin intervalo de tiempo entre infección y comienzo de la infectividad, y que la relación entre edad y prevalencia es observada en el equilibrio. λ fue estimada usando un procedimiento no lineal de cuadrados mínimos (Matlab 6.3, The MathWorks, Natick, MA), y un modelo catalítico $p_a = 1 - \exp(\lambda * a)$, donde p_a es la proporción de zarigüeyas infectadas dentro de cada clase de edad cuyo punto medio es *a* (la marca de clase de edad). Las clases de edad discreta de las zarigüeyas fueron convertidas a variables continuas usando las duraciones aproximadas de cada clase de edad para *D. albiventris* estimadas por Schweigmann (1994) (Anexo I). Debido a que las zarigüeyas *Didelphis* lactantes (hasta 3 meses de edad) parecen no hallarse bajo riesgo de infección por transmisión congénita (ver más abajo), la edad después del destete fue considerada como una mejor representación de la cantidad de tiempo en que las zarigüeyas estuvieron expuestas a la infección transmitida por vectores que la edad absoluta. Los cálculos de λ para las zarigüeyas entre los años 1988 y 1991 se basaron en datos colectados por Schweigmann y colaboradores (1999) que no incluían los datos de prevalencia por edad entre 1984 y 1987 (Anexo II).

Para evaluar la relación entre prevalencia de infección y edad, estación climática de captura, y año de captura se usó un análisis de regresión logística múltiple implementado en Stata 9.1 (StatCorp, College Station, Texas). La variable de respuesta binaria fue la infección individual para un determinado año, edad y estación climática. Los predictores fueron año de captura (una variable categórica, para los años 1988 a 1991 y 2002 a 2007), la clase de edad (una variable categórica con cinco niveles, después de agrupar las clases de edad 1 con 2, y 6 con 7 para aumentar el tamaño de muestra), y la estación climática (una variable categórica con cuatro niveles). Los niveles de referencia fueron las clases de edad 1 y 2 agrupadas, la campaña del año 1988 y 2002, y el verano. Los términos de interacción fueron agregados al modelo y removidos del modelo final si no eran significativos al 5%.

Como medida de la abundancia de mamíferos se calculó el índice de captura por unidad de esfuerzo como cantidad de animales capturados sobre cantidad de trampas colocadas por día por 100 ([animales capturados/trampas-día]*100). Este índice fue calculado tanto para las trampas tipo National como para las Sherman de manera de poder estandarizar el número de capturas y que los resultados fueran comparables.

Para evaluar la relación entre la supervivencia y la muda de los triatominos de los xenodiagnósticos con la especie de hospedador a la que se los expuso (i.e., una medida de calidad de hospedador para *T. infestans*) y la temperatura ambiental durante la realización del xenodiagnóstico, se utilizó un análisis de regresión logística múltiple implementado en Stata 9.1 (StatCorp, College Station, Texas). Las variables de respuestas binarias fueron el número de triatominos supervivientes (a los 30 y 60 días post-exposición) y el número de triatominos que mudaron (también a los 30 y 60 días post-exposición). Los predictores fueron la especie de hospedador (una variable categórica) y la temperatura promedio del día de realización del xenodiagnóstico entre las 9-18 hs (una variable continua). Los términos de interacción fueron agregados al modelo y removidos del modelo final si no eran significativos al 5%.

Para los análisis en que se tiene en cuenta el tipo de paisaje se separó el paraje de Amamá del resto debido a que el monte alrededor de Amamá se hallaba más degradado o directamente era inexistente. Dicha degradación se debió principalmente al uso de maquinaria pesada (topadoras) y quema de arbustos para sembrar pasturas para ganado bovino. Los demás parajes tenían una foresta más homogénea, que si bien estaba degradada parcialmente y en diferentes grados, conservaba la estructura de monte sin grandes interrupciones. Los parajes estaban incluidos en la matriz de monte.

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Esfuerzo de captura

Luego de haber realizado 5 capturas ocasionales en noviembre de 2002 durante una campaña preliminar con otros objetivos, las trampas jaula fueron operadas durante ocho campañas mientras que las trampas Sherman lo fueron en cinco (Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Esfuerzo de captura de mamíferos silvestres por campaña y tipo de trampa en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2003 y 2007.

Fecha		Esfuerzo de captura (trampas-día)	
Año	Mes	Tipo National	Sherman
2003	Marzo	818	232
	Julio	639	905
	Agosto-Octubre	2.785	-
	Noviembre	821	1.161
2004	Abril	483	-
	Julio	1.286	1.169
	Noviembre	419	-
2007	Marzo	2.252	1.031

Para las trampas jaula se totalizó un esfuerzo de 9.503 trampas-día y para las trampas de roedores un total de 4.498 trampas-día (Tabla 2.2.). Por lo tanto, el esfuerzo total registrado fue de 14.001 trampas-día. Durante 2003 no se registró el esfuerzo de captura realizado por los pobladores. Al esfuerzo de captura total habría que sumarle una importante búsqueda activa que originó las capturas manuales. Lamentablemente no fue posible realizar un registro detallado de esa práctica debido a que los pobladores que la realizaron lo hicieron de forma eventual y no se pudo implementar ningún sistema de registro eficaz. Las capturas manuales proveyeron principalmente cuises (93), matacos bolas (64), zorrinos (32), *Ctenomys* (21) y pichis (19), y representaron el 50% de las capturas totales, mientras que las trampas jaula produjeron el 22% y las Sherman el 28% de las capturas totales.

2.3.2. Especies y cantidad de mamíferos capturados

Se capturó un total de 605 mamíferos silvestres de al menos 19 especies diferentes identificadas (Tabla 2.3) cubriendo gran parte del área de estudio (Figura 2.4); 25 ratones no pudieron ser identificados taxonómicamente. Los roedores (ratones, ocultos o *Ctenomys* y cuises) comprendieron la mayoría de las capturas (n = 325) seguidos por los zorrinos (n = 107), tr es especies de armadillos (n = 105), y las zarigüeyas (n = 48).

Figura 2.4. Mapa del área de estudio mostrando los sitios donde se capturaron mamíferos silvestres (puntos amarillos) entre 2002-2007 sobre una imagen Ikonos de octubre de 2002.

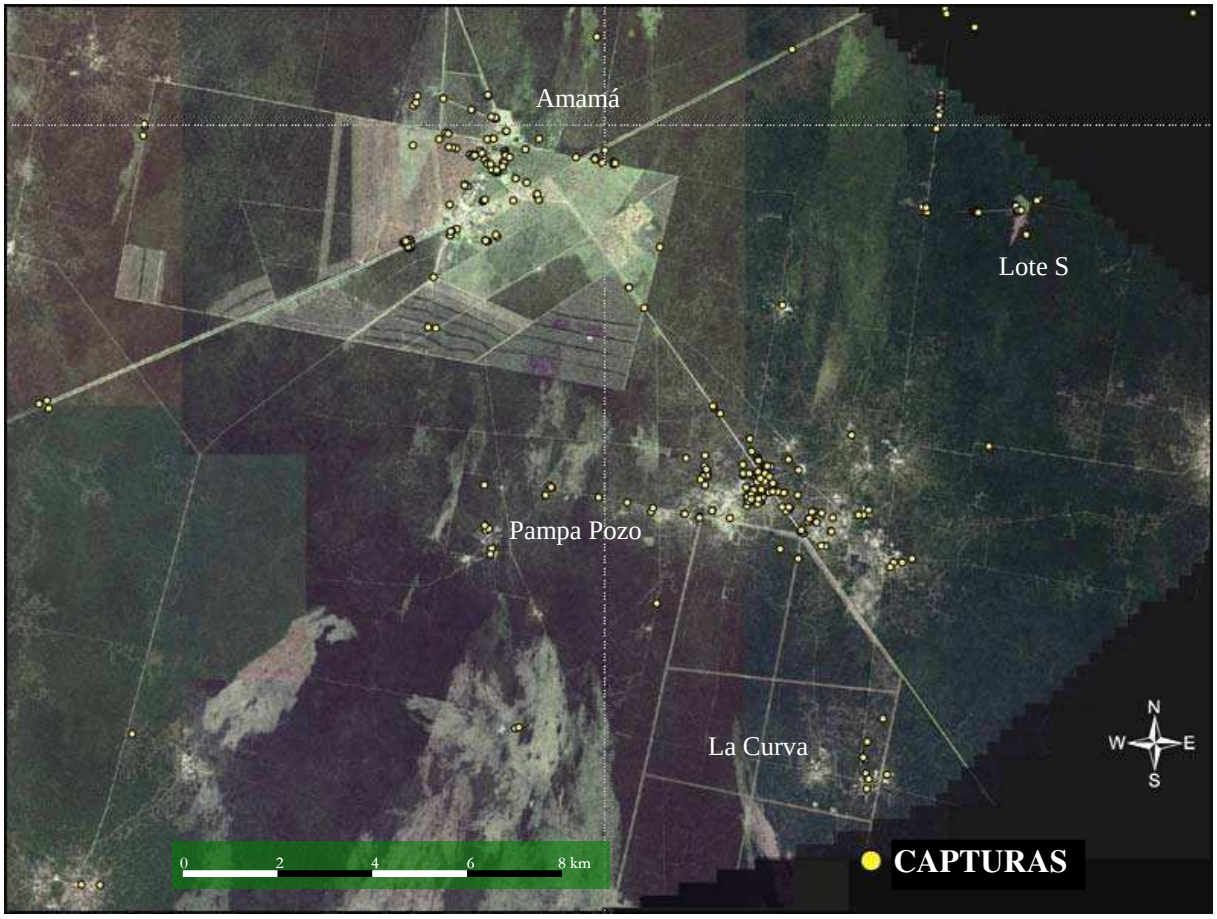


Tabla 2.3. Captura y prevalencia de infección con *Trypanosoma cruzi* determinada por xenodiagnóstico para cada especie de mamíferos silvestres capturada en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2002 y 2007.

Hospedador		N° capturado	N° examinado por xenodiagnóstico	N° infectado con *T. cruzi* (%)
Nombre común	Nombre científico			
Comadreja	*Didelphis albiventris*	48	44*	4 (9,1)*
Zorrino	*Conepatus chinga*	107	106	1 (0,9)
Peludo	*Chaetophractus villosus*	11	11	0
Pichi	*Chaetophractus vellerosus*	29	29	0
Mataco bola	*Tolypeutes matacus*	65	64	0
Oculto/tucu-tucu	*Ctenomys sp.*	21	21	0
Coi/cuis	*Galea musteloides*	131	129	0
Marmosa	*Thylamys pusillus*	10	9	0
Vizcacha	*Lagostomus maximus*	3	3	0
Pecarí	*Pecari tajacu*	1	1	0
Zorro gris	*Lycalopex gymnocercus*	6	6	0
Ratón	*Akodon toba*	21	21	0
Ratón	*Calomys callosus*	22	20	0
Ratón	*Calomys musculinus*	23	22	0
Pericote	*Graomys centralis*	22	22	0
Laucha	*Mus musculus*	5	3	0
Ratón	*Necromys lasiurus*	9	9	0
Colilargo	*Oligoryzomys chacoensis*	28	26	0
Colilargo	*Oligoryzomys cf. flavescens*	18	17	0
Ratones	Sin identificar	25	22	0
Total		605	585	5 (0,9)

* Excluye cuatro *D. albiventris* que fueron recapturadas, una de las cuales se hallaba infectada con *T. cruzi*.

2.3.3. Índice de esfuerzo de captura

Si bien las capturas de mamíferos medianos con trampas jaula fue mayor en las comunidades con paisaje menos degradado (n = 106) que en Amamá (n = 27), la captura media de mamíferos por unidad de esfuerzo fue similar (Figura 2.5). También fue similar el índice de captura entre parajes agrupados según su paisaje para las trampas Sherman, con una captura de 70 roedores en la zona de Amamá y 96 en el resto del área. El índice global de captura varió por campaña y por estación, siendo más eficaces las trampas Sherman en la estación de primavera seguida por el invierno, que durante otoño-verano. Las trampas jaula fueron más eficaces durante los inviernos que en cualquier otra estación, obteniéndose el mayor índice de captura en el invierno de 2004 (Figura 2.6).

Figura 2.5. Captura de mamíferos silvestres por unidad de esfuerzo de acuerdo al tipo de trampas (Sherman, trampa jaula) en comunidades con diferente paisaje. Campañas de marzo y julio de 2003, noviembre de 2003, julio de 2004, y marzo de 2007. Otras comunidades: Trinidad, Mercedes, Villa Matilde, San Pablo, San Luis, La Curva, Pampa Pozo y el campamento del Lote S.

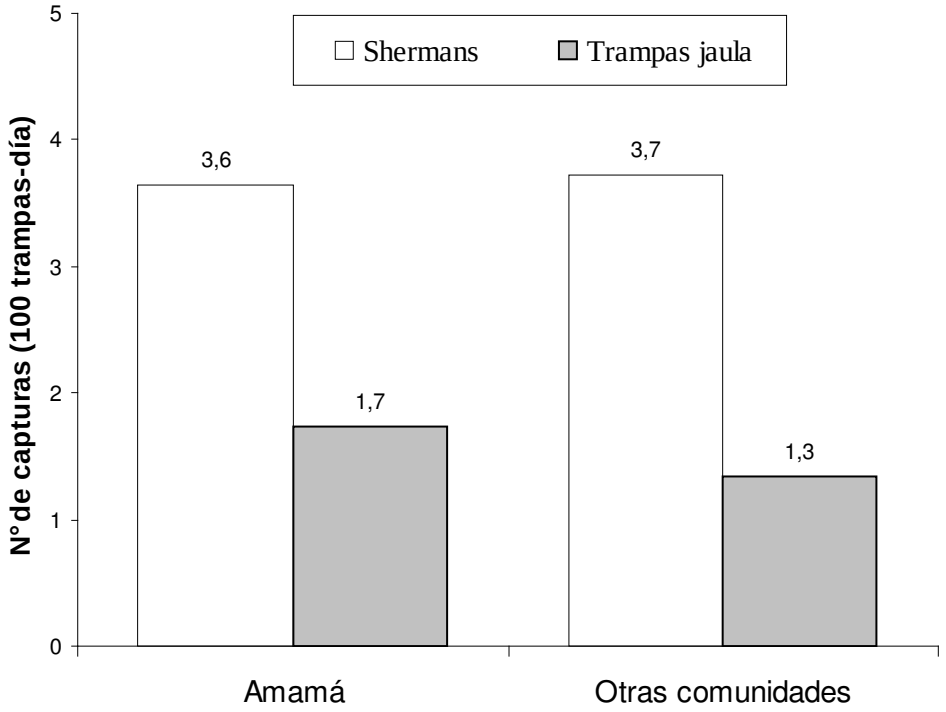
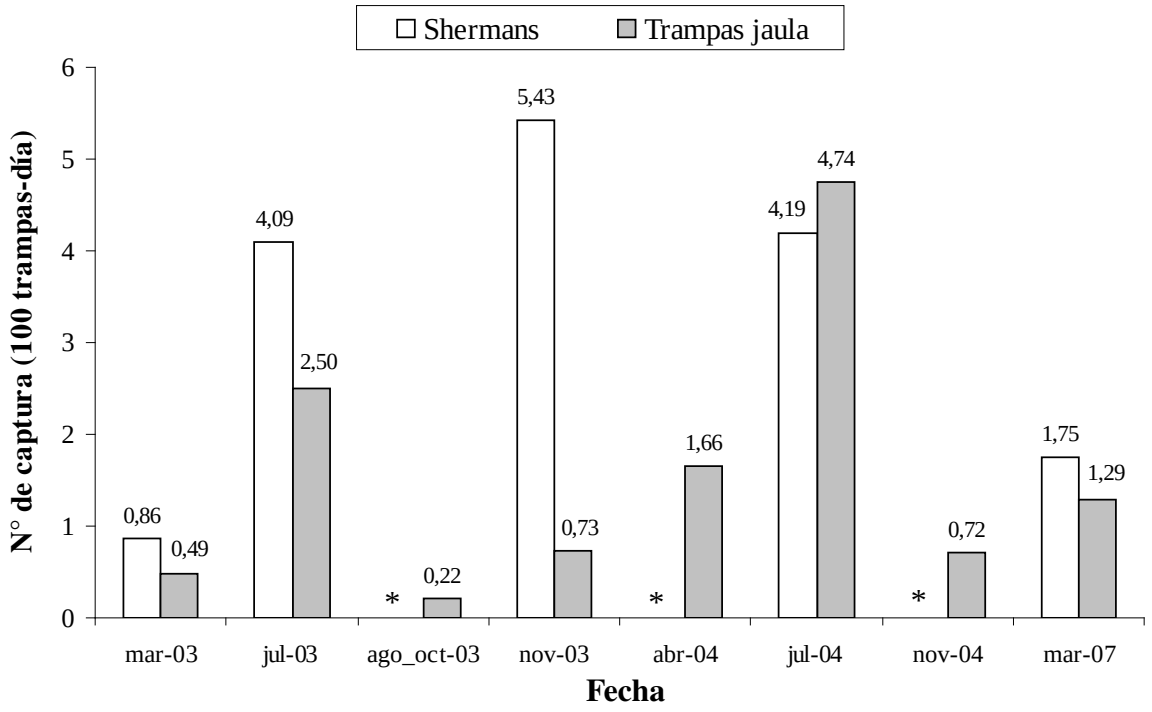


Figura 2.6. Captura de mamíferos silvestres por unidad de esfuerzo de acuerdo al tipo de trampas (Sherman, trampa jaula) para las diferentes campañas. *: sin esfuerzo con Shermans.



2.3.4. Mamíferos infectados con T. cruzi

Sólo 5 de 585 especímenes examinados por xenodiagnóstico (excluyendo los recapturados) fueron positivos para *T. cruzi*, con una prevalencia total de 0,9% (Tabla 2.3). Cuatro (9,1%) zarigüeyas y un (0,9%) zorrino, todos adultos o preadultos, se hallaban infectados por *T. cruzi*.

Tres de las cuatro zarigüeyas infectadas (dos hembras y un macho, de aproximadamente 7-18 meses de edad) fueron capturadas en el bosque secundario alrededor de los parajes de Amamá, Mercedes y Trinidad, cerca (100-450 m) de los cuerpos de agua permanente, y entre 230 m a 600 m de la casa más cercana. La restante zarigüeya infectada (hembra) fue capturada dentro del poblado de Amamá donde tenía su refugio bajo tierra (Figura 2.7). Una de las zarigüeyas infectadas fue recapturada ocho meses más tarde (capturada en noviembre de 2003 y julio de 2004) a 1 km aproximadamente del sitio donde fue capturada por primera vez, y fue nuevamente positiva por xenodiagnóstico. El zorrino infectado, que era hembra y por su peso adulta (Van Gelder, 1968), fue atrapado a 300 m de la vivienda más cercana y muy cerca del canal de agua. Ninguna de las otras tres zarigüeyas

negativas por xenodiagnóstico y que fueron recapturadas 3 a 5 meses después tuvieron conversiones parasitológicas.

Entre los 117 mamíferos examinados por gota de sangre fresca (6 cuises, 7 zarigüeyas, 1 marmosa, 7 mataco bola, 11 ocultos, 6 peludos, 8 pichis, 53 roedores, 17 zorrinos, y 1 zorro), se detectaron flagelados similares a *T. cruzi* en 7 ratones de campo (6 *Graomys centralis* y 1 no identificado). Todos los xenodiagnósticos que se les realizaron en forma inmediata resultaron negativos.

Se examinaron con ELISA los sueros de 40 ratones y 3 zorros, de los cuales sólo 2 (5%) ratones (1 *G. centralis* y uno sin identificación concluyente que por sus medidas morfométricas podría ser *A. toba* o *N. lasiurus*) fueron seropositivos para *T. cruzi*. A estos dos ratones y a otros 5 más con resultados discordantes entre diluciones del suero 1:100 y 1:200 o con títulos algo inferiores al de corte, se les realizó IFI. Se obtuvieron 5 positivos y dos negativos por IFI; uno de estos últimos positivos también había resultado positivo por ELISA. Por lo tanto, sólo un ratón no identificado (*A. toba* o *N. lasiurus*) fue seropositivo para las dos técnicas serológicas que permiten detectar anticuerpos contra *T. cruzi* en ratones de laboratorio, y había tenido xenodiagnóstico negativo. Este ratón fue capturado en el ecotono de un deslinde del campo desmontado de Amamá a poco más de 1.600 m de la casa más cercana, y entre 1.600 m a 8.650 m de los sitios de capturas de las zarigüeyas positivas y a 8.300 m del sitio donde se atrapó al zorrino positivo. Ninguno de los 7 ratones a los que se les realizó anatomía patológica presentó signos de infección (e.g., gigantocitos quísticos). Otros especímenes no pudieron analizarse por encontrarse en mal estado de conservación, probablemente debido a los fuertes calores que ocurrieron durante las campañas.

La infección con *T. cruzi* de los 5 individuos positivos por xenodiagnóstico fue confirmada por PCR de kADN. Las cuatro zarigüeyas se hallaban infectadas con TcI mientras que el zorrino estaba infectado con TcIII (Figura 2.8. Ceballos y col., 2006; nomenclatura actualizada a UDTs).

Figura 2.7. Mapa del área de estudio mostrando los sitios de captura de las zarigüeyas y el zorrino positivo para *T. cruzi* entre 2002-2007 sobre una imagen Ikonos de octubre de 2002. La flecha amarilla indica el sitio de captura y recaptura 8 meses y medio después de la misma zarigüeya.

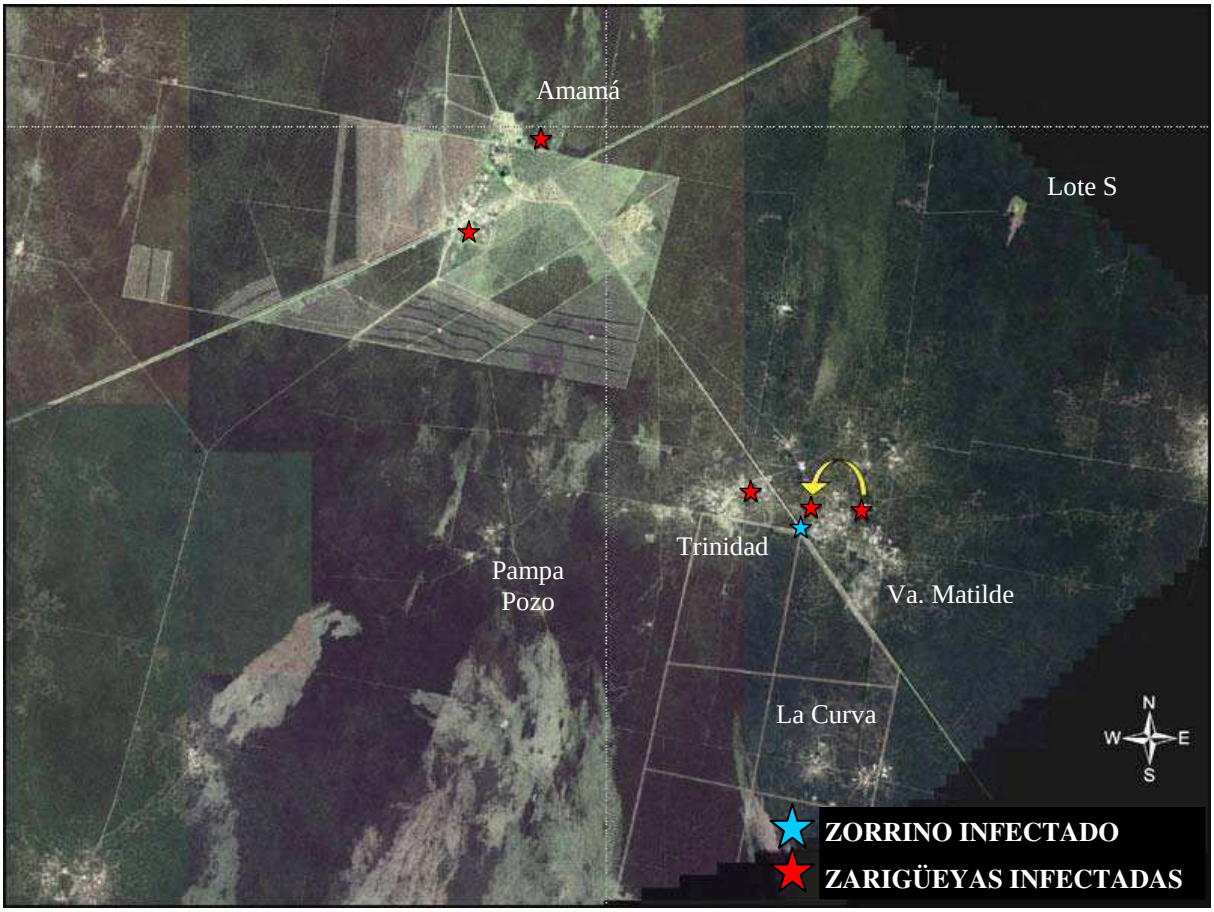
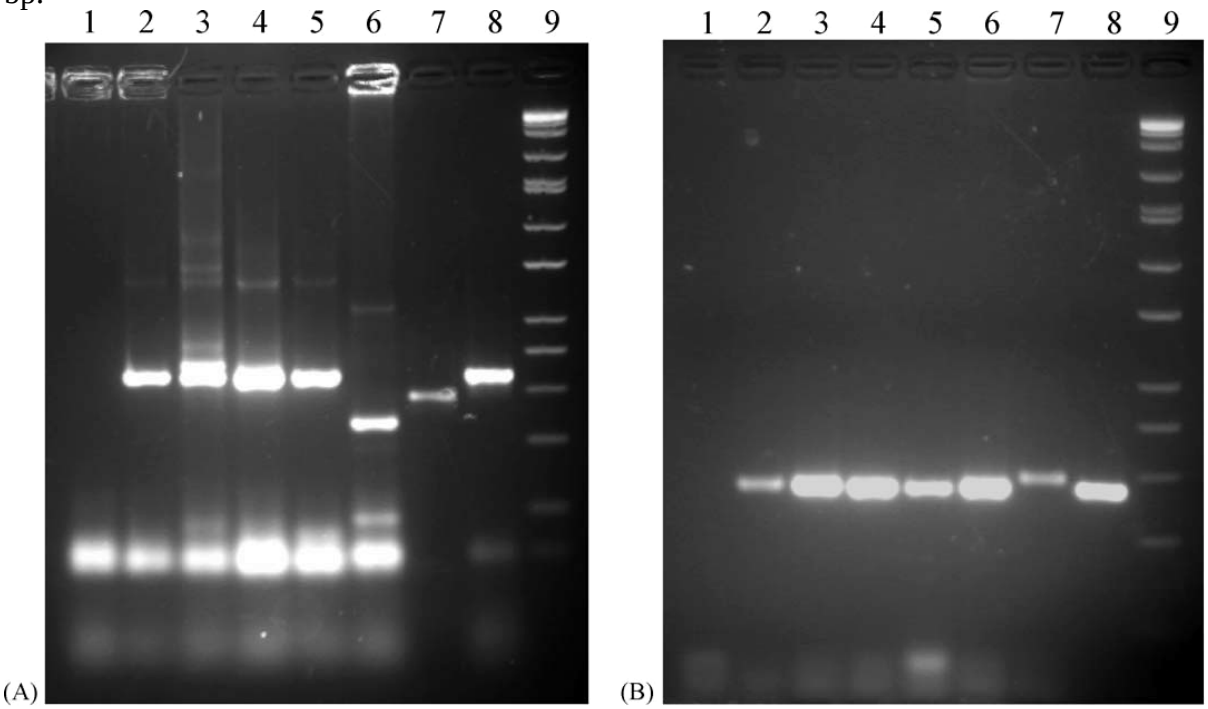
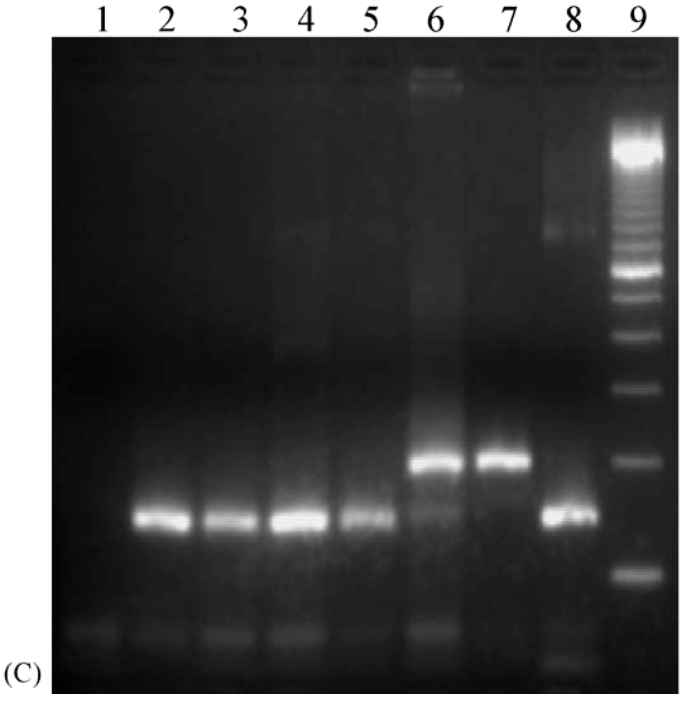


Figura 2.8. Amplificación de la región intergénica de los genes del mini-exón de *T. cruzi* (A), el ADN D7 ribosomal del dominio 24S-alfa (B) y el marcador genómico A10 (C); líneas (1) control negativo; 2–5 UDT TcI de *D. albiventris*, (2) y (3) son el mismo individuo pero de de diferentes ocasiones de captura; (6) UDT TcIII de *C. chinga*; (7) cepa de referencia de UDT TcII (A y B) y TcIV (C); (8) cepa de referencia de UDT TcI; (9), marcador de corrida de 100 bp.





2.3.5. Características generales de las especies capturadas

La Tabla 2.4. muestra la razón de sexos para cada especie capturada. En general hubo predominio de capturas de especímenes machos para la mayoría de las especies, exceptuando a los *T. matacus*, *G. musteloides*, *O. chacoensis* y *Ctenomys sp.* que tuvieron capturas con una relación inversa de sexos, y los *O. cf flavescens* y *Ch. vellerosus* donde la relación de sexos fue pareja. Con propósitos descriptivos del tipo de individuos examinados para infección por *T. cruzi*, las Tablas 2.5. y 2.6. muestran el peso y la longitud de las distintas especies de mamíferos capturados, y las Tablas 2.7. y 2.8. discriminan las anteriores características por clase etaria para las zarigüeyas. La Tabla 2.9. muestra las mismas características por estación del año para los zorrinos.

Tabla 2.4. Razón de sexos (macho:hembra) de los mamíferos capturados en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2002 y 2007.

Especie	Nº examinado	♂:♀
Didelphis albiventris	48	1,18
Conepatus chinga	106	2,03*
Chaetophractus villosus	11	1,20
Chaetophractus vellerosus	29	0,93
Tolypeutes matacus	65	0,76
Ctenomys sp.	19	0,58
Galea musteloides	123	0,60*
Thylamys pusillus	10	1,50
Lycalopex gymnocercus	4	3,00
Akodon toba	20	1,22
Calomys callosus	20	2,33
Calomys musculinus	23	1,56
Necromys lasiurus	9	1,25
Graomys centralis	20	1,22
Mus musculus	4	3,00
Oligoryzomys chacoensis	26	0,86
Oligoryzomys cf. flavescens	18	1,00

*: La proporción de sexos difirió significativamente (χ^2: $p< 0,05$) de la relación 1:1 (macho:hembra)

Tabla 2.5. Estadística descriptiva del peso (en gramos) de los mamíferos capturados en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2002 y 2007.

Especie	Sexo	Nº examinado	Media	DS	CV	Coeficiente de asimetría	Coeficiente de curtosis	Mediana	Q1	Q3	Q1-Q3	Min	Max
Didelphis albiventris	Macho	26	1755,6	730,2	0,4	-0,1	2,2	1875,0	1000,0	2220,0	1220,0	525,0	3150,0
	Hembra	22	1067,8	333,0	0,3	-0,4	2,1	1180,0	700,0	1250,0	550,0	450,0	1600,0
Conepatus chinga	Macho	72	907,4	250,8	0,3	1,0	4,0	860,0	725,0	1020,0	295,0	500,0	1800,0
	Hembra	33	787,6	213,5	0,3	0,5	2,4	750,0	630,0	870,0	240,0	450,0	1250,0
Chaetophractus villosus	Macho	6	1425,0	621,9	0,4	-0,4	1,6	1575,0	800,0	2000,0	1200,0	550,0	2050,0
	Hembra	5	1470,0	602,7	0,4	0,0	1,3	1450,0	950,0	2050,0	1100,0	800,0	2100,0
Chaetophractus vellerosus	Macho	13	740,0	259,4	0,4	0,3	4,7	700,0	650,0	800,0	150,0	190,0	1350,0
	Hembra	15	747,3	87,5	0,1	-0,1	2,0	750,0	680,0	800,0	120,0	600,0	880,0
Tolypeutes matacus	Macho	28	1044,6	234,7	0,2	-0,6	1,9	1155,0	830,0	1220,0	390,0	600,0	1320,0
	Hembra	37	1044,2	180,6	0,2	-0,9	3,2	1100,0	1000,0	1180,0	180,0	600,0	1300,0
Ctenomys sp.	Macho	7	91,9	44,6	0,5	0,2	1,2	73,0	50,0	140,0	90,0	45,0	145,0
	Hembra	12	78,8	29,2	0,4	1,8	6,2	70,0	64,0	90,0	26,0	45,0	160,0
Galea musteloides	Macho	45	188,9	72,8	0,4	-0,2	2,5	185,0	150,0	240,0	90,0	40,0	350,0
	Hembra	75	182,4	84,6	0,5	0,0	2,2	185,0	120,0	245,0	125,0	30,0	360,0
Thylamys pusillus	Macho	4	10,8	3,8	0,4	0,7	2,1	10,0	8,5	13,0	4,5	7,0	16,0
	Hembra	4	16,8	5,4	0,3	-0,3	1,6	17,5	12,5	21,0	8,5	10,0	22,0
Lycalopex gymnocercus	Macho	3	3766,7	1001,7	0,3	0,1	1,5	3700,0	2800,0	4800,0	2000,0	2800,0	4800,0
	Hembra	1	220,0	.	.	.	.	220,0	.	.	.	.	.
Akodon toba	Macho	11	31,9	11,0	0,3	-0,3	2,8	33,0	28,0	36,0	8,0	12,0	51,0
	Hembra	9	26,9	5,2	0,2	0,4	2,0	26,0	23,0	30,0	7,0	20,0	35,0
Calomys callosus	Macho	13	26,5	9,2	0,3	0,6	3,4	26,0	21,0	30,0	9,0	10,0	47,0
	Hembra	6	24,3	10,6	0,4	0,3	2,2	24,0	16,0	30,0	14,0	11,0	41,0
Calomys musculinus	Macho	14	13,2	6,1	0,5	1,4	5,1	12,0	10,0	16,0	6,0	6,0	30,0
	Hembra	9	16,2	7,4	0,5	0,6	2,5	14,0	12,0	20,0	8,0	6,0	30,0
Necromys lasiurus	Macho	5	20,6	1,1	0,1	-0,3	2,0	21,0	20,0	21,0	1,0	19,0	22,0
	Hembra	4	30,0	8,3	0,3	0,9	2,1	27,0	24,5	35,5	11,0	24,0	42,0
Graomys centralis	Macho	11	53,6	15,7	0,3	0,5	2,0	47,0	45,0	72,0	27,0	32,0	80,0
	Hembra	9	46,0	16,3	0,4	-0,9	2,9	50,0	42,0	56,0	14,0	13,0	65,0
Mus musculus	Macho	3	9,0	3,6	0,4	-0,5	1,5	10,0	5,0	12,0	7,0	5,0	12,0
	Hembra	1	7,0	.	.	.	.	7,0	.	.	.	.	.
Oligoryzomys chacoensis	Macho	12	17,9	4,3	0,2	0,2	2,2	18,0	14,5	21,5	7,0	12,0	26,0
	Hembra	14	16,6	4,3	0,3	0,0	1,4	17,0	12,0	20,0	8,0	11,0	23,0
Oligoryzomys cf. flavescens	Macho	9	12,8	3,3	0,3	0,3	2,1	12,0	11,0	15,0	4,0	8,0	18,0
	Hembra	9	16,9	9,4	0,6	1,9	5,3	14,0	11,0	17,0	6,0	10,0	40,0

Tabla 2.6. Estadística descriptiva de la longitud cuerpo-cabeza (en centímetros) de los mamíferos capturados en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2002 y 2007.

Especie	Sexo	Nº examinado	Media	DS	CV	Coeficiente de asimetría	Coeficiente de curtosis	Mediana	Q1	Q3	Q1-Q3	Min	Max
Didelphis albiventris	Macho	26	39,4	5,9	0,1	-0,4	2,5	40,3	35,5	44,0	8,5	27,0	50,0
	Hembra	22	35,4	4,8	0,1	-0,1	3,0	35,3	33,3	38,5	5,2	26,0	46,0
Conepatus chinga	Macho	67	31,0	3,2	0,1	0,5	3,1	31,0	28,5	33,0	4,5	24,0	39,5
	Hembra	33	30,5	3,3	0,1	0,2	2,6	30,0	28,5	33,0	4,5	23,0	37,0
Chaetophractus villosus	Macho	6	30,6	4,5	0,1	0,0	1,9	31,0	26,5	33,5	7,0	24,8	37,0
	Hembra	5	29,0	3,9	0,1	-0,2	1,6	30,5	26,0	31,0	5,0	24,0	33,5
Chaetophractus vellerosus	Macho	13	25,2	4,9	0,2	1,5	6,7	24,5	23,5	26,0	2,5	16,5	39,0
	Hembra	15	25,8	1,8	0,1	-0,3	2,8	26,0	24,5	27,0	2,5	22,0	29,0
Tolypeutes matacus	Macho	26	34,4	3,7	0,1	0,1	1,9	34,2	32,0	38,0	6,0	28,0	40,5
	Hembra	37	35,4	3,2	0,1	0,1	3,2	35,5	33,5	37,0	3,5	28,5	43,5
Ctenomys sp.	Macho	6	13,7	2,2	0,2	0,5	2,0	13,0	12,5	15,5	3,0	11,0	17,0
	Hembra	11	12,9	0,9	0,1	-0,3	3,0	13,0	12,5	13,5	1,0	11,0	14,5
Galea musteloides	Macho	40	19,1	5,0	0,3	-0,5	6,2	19,5	17,0	21,0	4,0	2,0	33,2
	Hembra	71	20,0	3,9	0,2	-0,7	3,0	20,5	18,0	23,0	5,0	10,5	27,0
Thylamys pusillus	Macho	5	8,1	1,0	0,1	-0,1	1,5	8,0	7,5	9,0	1,5	6,8	9,3
	Hembra	4	10,4	4,8	0,5	1,2	2,3	8,0	8,0	12,8	4,8	8,0	17,5
Lycalopex gymnocercus	Macho	3	58,0	5,6	0,1	0,3	1,5	57,0	53,0	64,0	11,0	53,0	64,0
	Hembra	1	54,0	.	.	.	.	54,0	.	.	.	.	.
Akodon toba	Macho	11	10,3	1,2	0,1	-0,8	3,5	10,5	10,0	11,0	1,0	7,5	12,0
	Hembra	9	9,7	0,7	0,1	-1,1	4,0	9,5	9,5	10,0	0,5	8,0	10,5
Calomys callosus	Macho	13	9,8	1,3	0,1	0,5	5,6	10,0	9,4	10,0	0,6	7,1	13,0
	Hembra	6	9,5	1,8	0,2	-0,4	1,6	10,0	7,5	10,8	3,3	7,0	11,5
Calomys musculinus	Macho	14	7,8	1,3	0,2	1,6	6,3	7,5	7,0	8,2	1,2	6,0	11,5
	Hembra	9	7,7	1,2	0,2	-0,4	1,9	8,0	6,5	8,5	2,0	5,6	9,0
Necromys lasiurus	Macho	5	9,2	0,9	0,1	0,3	2,2	9,0	8,8	9,5	0,7	8,0	10,5
	Hembra	4	10,4	0,4	0,0	0,5	1,8	10,4	10,1	10,8	0,7	10,0	11,0
Graomys centralis	Macho	11	12,0	1,1	0,1	0,6	2,2	11,5	11,5	13,0	1,5	10,5	14,0
	Hembra	9	13,6	5,5	0,4	2,3	6,5	12,5	10,5	12,5	2,0	10,5	28,0
Mus musculus	Macho	3	8,2	0,3	0,0	0,7	1,5	8,0	8,0	8,5	0,5	8,0	8,5
	Hembra	1	8,0	.	.	.	.	8,0	.	.	.	.	.
Oligoryzomys chacoensis	Macho	12	9,0	0,6	0,1	0,4	2,5	9,0	8,7	9,4	0,6	8,0	10,2
	Hembra	14	8,8	0,5	0,1	-0,6	2,5	9,0	8,4	9,0	0,6	7,8	9,5
Oligoryzomys cf. flavescens	Macho	9	7,8	1,4	0,2	1,5	4,2	7,5	7,0	8,0	1,0	6,5	11,0
	Hembra	9	8,6	0,7	0,1	-0,1	1,7	8,5	8,0	9,0	1,0	7,5	9,5

Tabla 2.7. Estadística descriptiva del peso (en gramos) de las clases etarias de las zarigüeyas *D. albiventris* capturadas en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2002 y 2007.

Sexo	Clase etaria	Nº examinado	Media	DS	CV	Coeficiente de asimetría	Coeficiente de curtosis	Mediana	Q1	Q3	Q1-Q3	Min	Max
Macho	2	6	754,2	188,69	0,25	-0,08	1,63	775	550	900	350	525	1000
	3	1	1750,0	.	.	.	.	1750,0	.	.	.	.	.
	4	5	1500,0	454,15	0,30	0,63	2,24	1350	1300	1650	350	1000	2200
	5	8	2275,0	444,01	0,20	0,85	2,82	2200	1950	2475	525	1800	3150
	6	5	2134,0	212,79	0,10	-0,16	1,81	2200	2000	2220	220	1850	2400
	7	1	3000,0	.	.	.	.	3000,0	.	.	.	.	.
	General	26	1755,6	730,23	0,42	-0,10	2,15	1875	1000	2220	1220	525	3150
Hembra	2	4	575,0	119,02	0,21	0,00	1,22	575	475	675	200	450	700
	3	1	800,0	.	.	.	.	800,0	.	.	.	.	.
	4	8	1107,5	293,54	0,27	-0,08	2,51	1180	900	1200	300	700	1600
	5	7	1261,7	175,48	0,14	0,37	2,12	1250	1082	1400	318	1050	1550
	6	1	1450,0	.	.	.	.	1450,0	.	.	.	.	.
	General	21	1059,1	338,66	0,32	-0,29	2,01	1160	700	1250	550	450	1600

Tabla 2.8. Estadística descriptiva de la longitud cuerpo-cabeza (en centímetros) de las clases etarias de las zarigüeyas *D. albiventris* capturadas en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2002 y 2007.

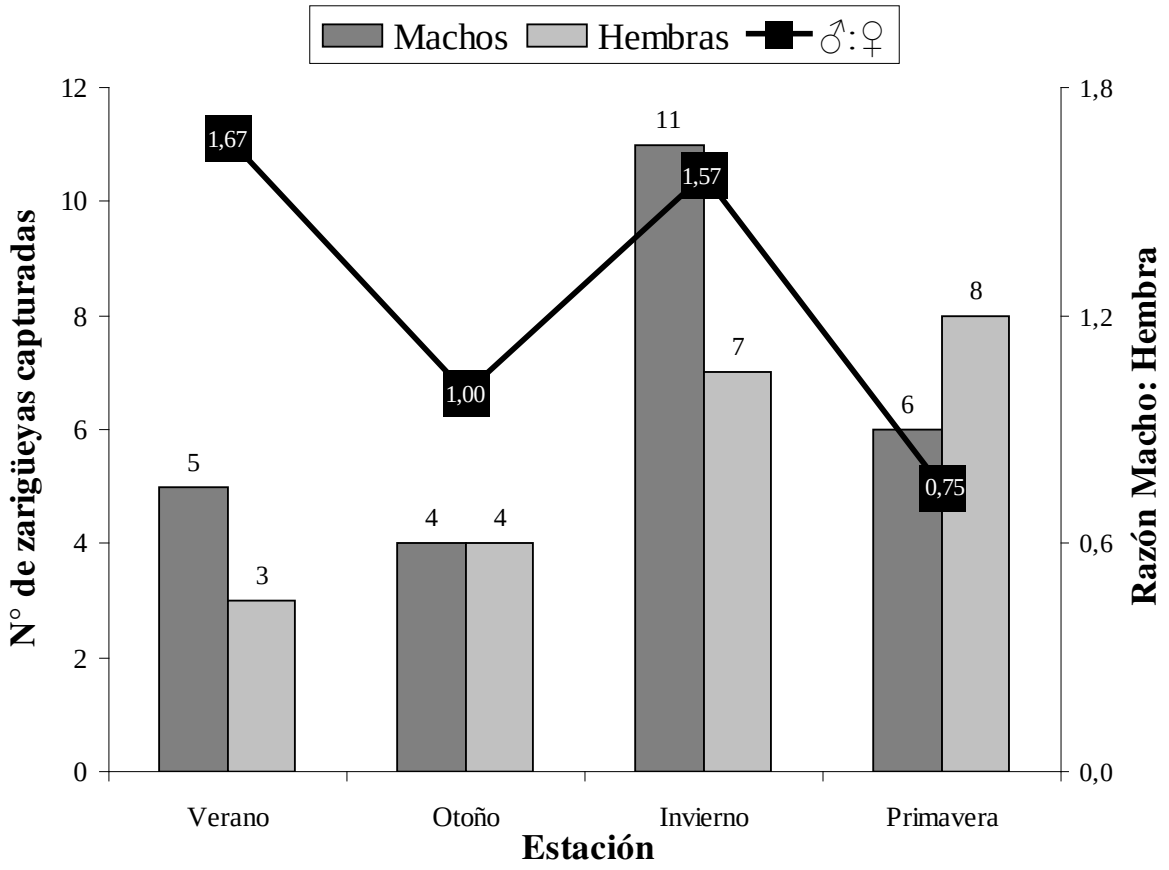
Sexo	Clase etaria	Nº examinado	Media	DS	CV	Coeficiente de asimetría	Coeficiente de curtosis	Mediana	Q1	Q3	Q1-Q3	Min	Max
Macho	2	6	31,8	3,83	0,12	-0,11	1,38	32,0	28,0	35,5	7,5	27	36
	3	1	35,0	.	.	.	.	35,0	.	.	.	.	.
	4	5	38,2	3,29	0,09	0,05	1,36	38,0	35,5	41,0	5,5	34,5	42
	5	8	44,3	3,25	0,07	-0,08	3,22	44,5	43,1	45,5	2,4	38,5	50
	6	5	41,4	2,82	0,07	0,01	1,42	41,0	39,5	44,0	4,5	38	44,5
	7	1	46,0	.	.	.	.	46,0	.	.	.	.	.
	General	26	39,4	5,86	0,15	-0,42	2,47	40,3	35,5	44,0	8,5	27	50
Hembra	2	4	28,1	2,66	0,09	0,96	2,21	27,3	26,5	29,8	3,3	26	32
	3	1	33,5	.	.	.	.	33,5	.	.	.	.	.
	4	8	35,5	2,48	0,07	0,56	1,75	34,5	33,7	37,8	4,1	33	39,5
	5	7	38,9	3,54	0,09	1,21	3,46	38,5	36,0	40,0	4,0	35,5	46
	6	1	42,0	.	.	.	.	42,0	.	.	.	.	.
	General	21	35,4	4,91	0,14	-0,13	2,94	35,5	33,3	38,5	5,2	26	46

Tabla 2.9. Estadística descriptiva del peso (en gramos) y de la longitud cuerpo-cabeza (en centímetros) por estación del año de los zorrinos *C. chinga* capturados en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2002 y 2007.

Sexo	Estación	Nº examinado	Media	DS	CV	Coeficiente de asimetría	Coeficiente de curtosis	Mediana	Q1	Q3	Q1-Q3	Min	Max
Peso (grs)													
Macho	Verano	11	727,3	100,41	0,14	0,71	2,31	730	650	770	120	620	900
Macho	Invierno	58	942,8	259,99	0,28	0,80	3,63	900	750	1100	350	500	1800
Macho	Primavera	3	883,3	202,07	0,23	-0,71	1,50	1000	650	1000	350	650	1000
Macho	Total	72	907,4	250,82	0,28	0,97	3,98	860	725	1020	295	500	1800
Hembra	Verano	4	805,0	160,52	0,20	0,26	1,45	785	675	935	260	650	1000
Hembra	Invierno	28	786,4	226,02	0,29	0,54	2,29	775	600	900	300	450	1250
Hembra	Primavera	1	750,0	.	.	.	.	750	.	.	.	.	.
Hembra	Total	33	787,6	213,54	0,27	0,54	2,44	750	630	870	240	450	1250
Longitud del cuerpo-cabeza (cm)													
Macho	Verano	11	30,3	1,89	0,06	-0,24	2,69	30	30	31	1	27	33,5
Macho	Invierno	53	31,2	3,50	0,11	0,32	2,67	31	28,5	33	4,5	24	39,5
Macho	Primavera	3	29,4	1,01	0,03	0,35	1,50	29	28,5	30,5	2	28,5	30,5
Macho	Total	67	31,0	3,23	0,10	0,46	3,07	31	28,5	33	4,5	24	39,5
Hembra	Verano	4	31,1	0,85	0,03	-0,43	1,85	31	30,5	31,75	1,25	30	32
Hembra	Invierno	28	30,4	3,60	0,12	0,23	2,33	29	28	33	5	23	37
Hembra	Primavera	1	28,5	.	.	.	.	29	.	.	.	.	.
Hembra	Total	33	30,5	3,34	0,11	0,21	2,63	30	28,5	33	4,5	23	37

En el caso particular de las especies que fueron encontradas infectadas con *T. cruzi*, la razón de sexos global (macho:hembra) de las zarigüeyas capturadas fue 1,2:1 (26:22), aunque varió estacionalmente observándose mayor proporción de machos en verano e invierno, igual proporción en otoño, y mayor número relativo de hembras en primavera (Figura 2.9). El limitado número de zarigüeyas capturadas (n = 48) no justifica un análisis más detallado.

Figura 2.9. Razón de sexos (macho:hembra) de las zarigüeyas capturadas en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2002 y 2007.

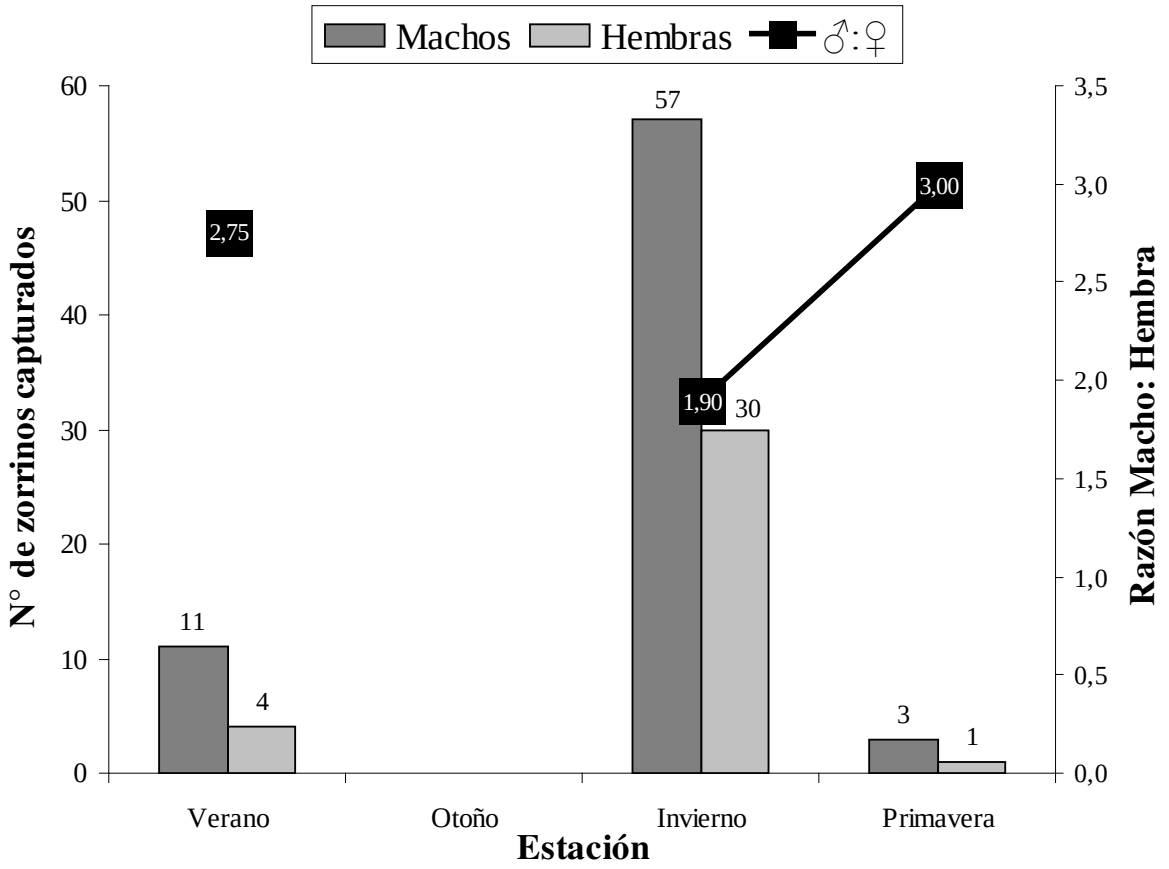


El peso de las zarigüeyas por clase etaria fue marcadamente diferente entre sexos (Tabla 2.7), siendo los machos en promedio un 34% más pesados que las hembras, variando según el estadio entre un 13% a un 54%. Con respecto a la longitud cuerpo-cabeza, no se observaron diferencias tan marcadas, siendo los machos en promedio un 8% más largos que las hembras, variando según el estadio entre un 4% a un 15%.

Para el caso de los zorrinos capturados, la razón de sexos global (macho:hembra) fue 2:1 (72:35), variando estacionalmente pero siempre con mayor proporción de machos (Figura 2.10). Lamentablemente no hubo capturas de zorrinos en otoño; esto podría estar explicado

por un esfuerzo de captura mucho menor para esa estación, pero llama la atención que no haya habido ninguna captura, lo cual podría estar indicando que hay una explicación más de tipo comportamental.

Figura 2.10. Razón de sexos (macho:hembra) de los zorrinos capturados en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2002 y 2007.



Los zorrinos machos fueron en promedio alrededor de un 13% más pesados que las hembras, pero éstas fueron en verano un 7% más pesadas. Con respecto a la longitud cuerpo-cabeza, se observó la misma tendencia pero en menor magnitud, con los machos en promedio un 3% más largos, salvo en verano donde las hembras promediaban una longitud cuerpo-cabeza un 4% mayor (Tabla 2.9). Estos resultados deben ser tomados con cautela ya que los cálculos para los zorrinos no fueron hechos diferenciándolos por algún tipo de categoría etaria.

La mayoría de las zarigüeyas (79%) y zorrinos (84%) fueron capturados alrededor de los parajes más forestados, fuera de la zona de Amamá (Figura 2.11). Al comparar los índices de captura por esfuerzo (descartando las capturas manuales), no se observaron diferencias

significativas entre Amamá y los otros parajes para ninguna de las dos especies (Prueba para dos tasas independientes: $P = 0{,}85$ y $P = 0{,}96$, para zarigüeyas y zorrinos, respectivamente).

Figura 2.11. Sitios de captura de las zarigüeyas y los zorrinos entre 2002-2007 sobre una imagen Ikonos de octubre de 2002.

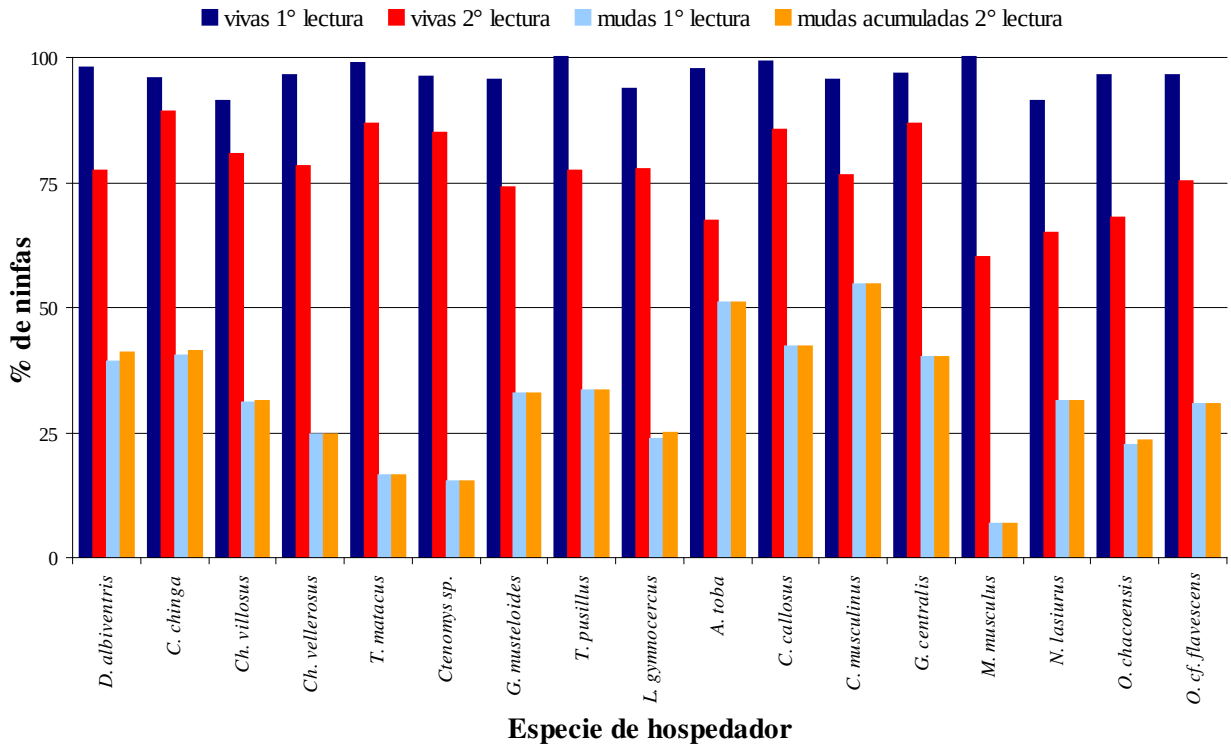
2.3.6. Calidad del xenodiagnóstico

Sumando todos los individuos examinados por xenodiagnóstico, se utilizó un total de 1.525 ninfas de III y 4.196 ninfas de IV estadio de *T. infestans*. Se excluyeron del análisis las especies que tuvieron menos de 4 especímenes examinados por xenodiagnostico (i.e., *L. maximus* y *P. tajacu*) y los ratones no identificados. El porcentaje de triatominos de xenodiagnóstico que sobrevivieron hasta la primera lectura al microscopio fue muy alto y poco variable por especie de hospedador (media: 96,3%; DS: 2,6%; rango: 91-100%). En cambio, el porcentaje de triatominos que sobrevivió desde la exposición al hospedador hasta la segunda lectura fue sensiblemente menor y más variable entre hospedadores (media: 77%; DS: 8,3%; rango: 60-89%) (Figura 2.12). El porcentaje de triatominos que lograron mudar al

cabo de 60-70 días luego de la exposición al hospedador fue más variable (media: 31,8%; DS: 12,6; rango: 7-55%) (Figura 2.12).

El mayor porcentaje de supervivencia de triatominos la presentaron los xenodiagnósticos de los zorrinos (*C. chinga*) y los mayores porcentajes de mudas lo mostraron dos especies de ratones (*C. musculinus* y *A. toba*), seguidas por los zorrinos y zarigüeyas y dos especies de ratones (*G. centralis* y *C. callosus*), lo cual indicaría una muy buena calidad de los xenodiagnósticos realizados. La mayor mortalidad y menor muda la presentaron los triatominos alimentados sobre *M. musculus*.

Figura 2.12. Porcentaje de ninfas de *T. infestans* utilizadas para los xenodiagnósticos que sobrevivieron hasta el primero y segundo examen de sus heces al microscopio óptico, y porcentajes de las que mudaron al estadio siguiente por especie de hospedador para todas las fechas de estudio agrupadas.



La supervivencia de triatominos a los 30 días post-exposición fue significativamente mayor para los ratones *C. callosus* (n = 19) y *M. musculus* (n = 3), y las marmosas (*T. pusillus*, n = 9). Fueron significativas las interacciones entre la temperatura y: *C. callosus*, y *L. gymnocercus* (n = 4). Con respecto a la supervivencia de triatominos a los 60 días post-exposición, fue significativamente mayor para las especies *C. callosus*, *D. albiventris* (n = 46), *Ctenomis sp.* (n = 21) y *Ch. villosus* (n = 11). Fueron significativas las interacciones entre

la temperatura y especie para *Ctenomis sp.*, y *Ch. villosus*. La temperatura no fue significativa con respecto a la supervivencia de los triatominos tanto a los 30 como a los 60 días post-exposición.

Con respecto a la mudas de los triatominos tanto para los 30 como los 60 días post-exposición, estuvieron positiva y significativamente asociadas con la temperatura y fueron significativamente mayores para los *Ch. villosus*. También fueron significativamente mayores para *C. chinga* a los 60 días post-exposición. Fueron significativas las interacciones entre la temperatura y: *D. albiventris*, *M. musculus*, y *Ch. villosus* (Ver Anexo III).

2.3.7. Infectividad al vector

Las zarigüeyas positivas por xenodiagnóstico infectaron 32 (52%) de 61 triatominos analizados individualmente. La infectividad individual fue alta para 3 de las 4 zarigüeyas (zarigüeya-539 = 88%, zarigüeya-729 = 70%, y zarigüeya-375 = 72% en diciembre de 2003 y 80% en agosto de 2004). En el xenodiagnóstico de la otra zarigüeya (ID: 701) sólo se infectó 1 triatomino de los 20 examinados (5%). El zorrino positivo infectó 7 de 8 triatominos examinados (88%).

2.3.8. Prevalencia de infección de las zarigüeyas por año, clase etaria y estación

Las prevalencias anuales de infección de las zarigüeyas entre 2002-2003 (6,7%, 1/15), 2004 (8,7%, 2/23) y 2007 (16,7%, 1/6) no fueron significativamente diferentes, al igual que no hubo diferencias significativas entre clases de edad, las que aumentaron desde 0% en los juveniles (clases II y III) y preadultos (clase IV) hasta el 28,6% en los adultos más viejos (clases VI y VII) (Figura 2.13), ni entre estación del año, que aumentó desde otoño (0%) a primavera (14%) o verano (12,5%) (Figura 2.14) ($LR\chi^2 = 7,5$, gl = 5, n = 27, $P = 0,19$). Todas las zarigüeyas capturadas entre 2002-2007 en primavera fueron adultos o sub-adultos.

Figura 2.13. Prevalencias de infección con *T. cruzi* determinada por xenodiagnóstico en zarigüeyas por clase etaria en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2002-2007. Los números sobre los puntos son las zarigüeyas examinadas; las barras representan el error estándar para cada clase de edad.

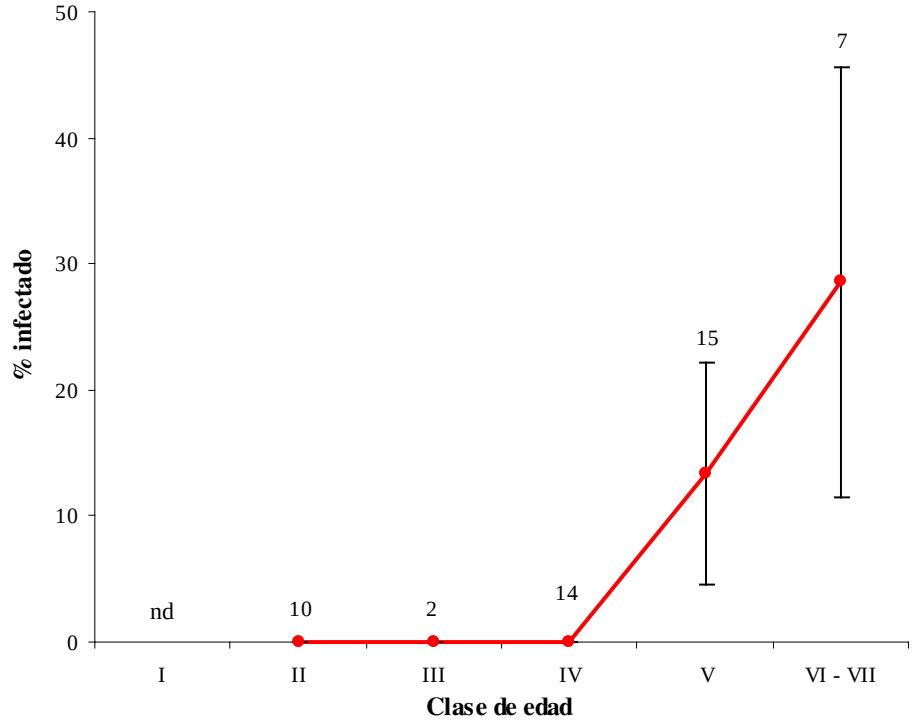
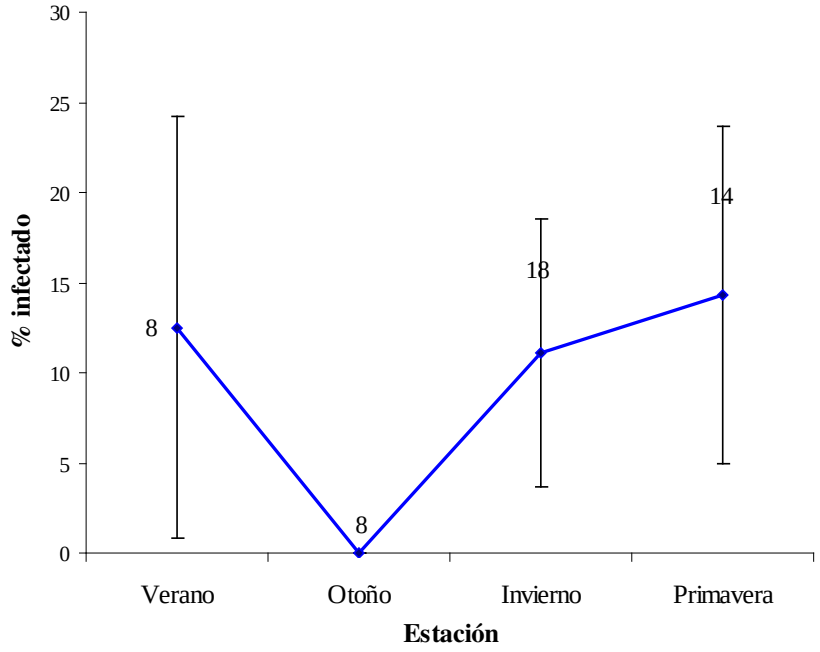


Figura 2.14. Prevalencias de infección con *T. cruzi* determinada por xenodiagnóstico en zarigüeyas por estaciones en el área de Amamá y comunidades vecinas entre 2002-2007. Los números sobre los puntos son las zarigüeyas examinadas; las barras representan el error estándar para cada estación.



2.3.9. Comparación de la infección de las zarigüeyas con estudios previos y fuerza de infección promedio

Al comparar los resultados de este trabajo con los datos colectados en forma similar en la misma área de estudio entre 1984 y 1991 (Wisnivesky-Colli y col., 1992; Pietrokovsky y col., 1991; Schweigmann y col., 1999), se observa que la prevalencia global de *T. cruzi* en zarigüeyas cayó significativamente desde 31,9% (1984-1987, n = 72) y 35,9% (1988-1991, n = 409) a 9,1% en 2002-2007 (n = 48; χ^2, gl = 1, *P* = 0,005 y *P* = 0,0003, respectivamente) (Tabla 2.10). La prevalencia de infección en zorrinos también disminuyó cinco veces desde 5,6% (1984-1987, n = 36) y 4,1% (1985-1989, n = 49) a 0,9% en 2002-2007 (n = 106), aunque la disminución no fue estadísticamente significativa (Prueba de Fisher, *P* = 0,16 y *P* = 0,24, respectivamente) (Tabla 2.10).

Tabla 2.10. Prevalencia de infección con *T. cruzi* determinada por xenodiagnóstico en zarigüeyas y zorrinos en el área rural circundante a Amamá, antes (1984-1991) y después de la vigilancia vectorial sostenida desde fines de 1992 hasta 2007.

		Hospedador			
		Zarigüeyas		Zorrinos	
Trabajos	Años de estudio	Número examinado	% positivo	Número examinado	% positivo
Wisnivesky-Colli y col. (1992)	1984-87	72	31,9	36	5,6
Pietrokovsky y col. (1991)	1985-89	-	-	49	4,1
Schweigmann y col. (1999)	1988-91	409	35,9	-	-
Presente estudio	2002-07	44	9,1	106	0,9

En el periodo 1988-1991 la prevalencia de infección con *T. cruzi* en zarigüeyas aumentó significativamente con la clase de edad desde 5,7% en la clase I a 50% en clases VI-VII en 1988-1991, (Figura 2.15). Para el periodo 1988-1991, la diferencia relativa de infección estimada como las razones de probabilidades ajustadas ("odds ratios") y sus intervalos de confianza del 95% (IC) con respecto a las clases de edad I-II aumentaron desde 6,1 (IC = 2,5-14,5) en clase III, 9,5 (IC = 4,2-21,4) en clase IV, 14,0 (IC = 6,0-32,6) en clase V, a 32,9 (IC = 10,4-104,7) en clases VI-VII (Tabla 2.11). Sólo fueron observadas diferencias significativas con el resto de los años para 1990 (odd ratio = 2,3, IC = 1,2-4,2) (χ^2 = 83,2, gl = 7, n = 409, *P* < 0,0001). La variable estación de captura no fue significativa y fue eliminada

del modelo. Tampoco fueron significativas las interacciones entre clase de edad y año de la campaña.

Figura 2.15. Comparación de las prevalencias de infección con *T. cruzi* determinadas por xenodiagnóstico en zarigüeyas por clase etaria entre 1988-1991 (Schweigmann y col., 1999) y 2002-2007 (antes y después de la vigilancia vectorial sostenida, respectivamente) en el área de Amamá y comunidades vecinas. Datos 1988-1991 tomados de Schweigmann, 1994.

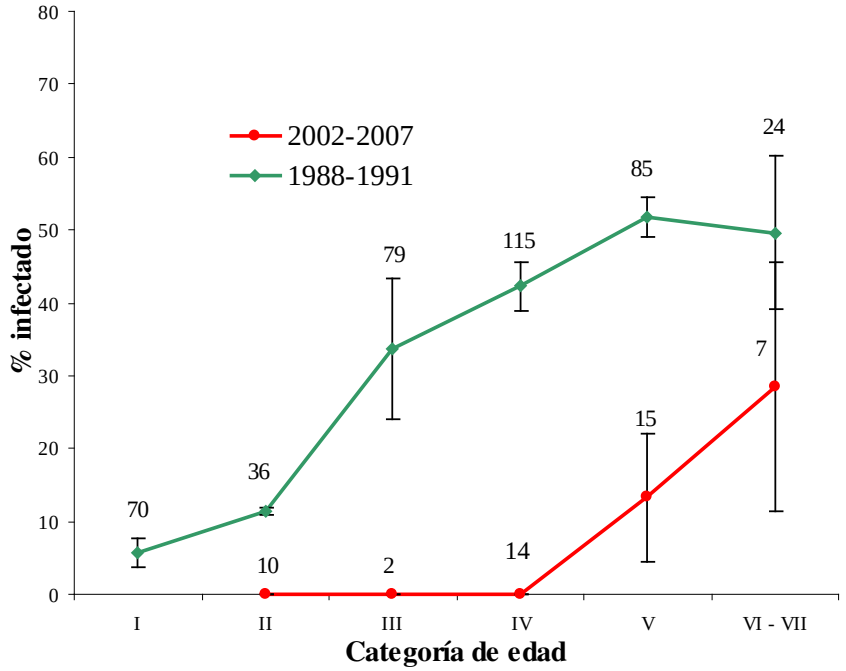


Tabla 2.11. Análisis de regresión logística múltiple de la prevalencia de infección con *T. cruzi* de las zarigüeyas (variable de respuesta) sobre la edad (las clases 1 y 2 agrupadas fueron la referencia para las otras categorías), y año de estudio (año 1988 fue la referencia para las otras categorías del 1989 al 1991) (variables explicativas). Datos 1988-1991 tomados de Schweigmann, 1994.

Factor	OR	IC 95%		*P*	Prevalencia de *T. cruzi* (%)
Categoría de edad					
I-II	1	-	-	-	7,6
III	6,1	2,5	14,5	0,000	31,7
IV	9,5	4,2	21,4	0,000	44,4
V	14,0	6,0	32,6	0,000	55,3
VI-VII	33,0	10,4	104,7	0,000	50,0
Año de estudio					
1988	1	-	-	-	20,2
1989	1,8	0,8	4,3	0,160	35,6
1990	2,3	1,2	4,2	0,010	41,9
1991	1,9	0,9	4,1	0,102	33,3

Basada en la curva de prevalencia-edad para el periodo 2002-2007, la fuerza de infección promedio λ fue 1,6 cada 100 meses-zarigüeya después del destete (IC = 0,23-2,89%). Comparando con el periodo 1988-1991, la fuerza de infección media declinó más de cinco veces desde 8,2 (IC = 4,66-11,70%). La fuerza anual de infección fue muy similar entre 1988 (λ = 5,5%; IC = 3,6-7,4%), 1989 (λ = 10,2%; IC = 6,8-13,5%), 1990 (λ = 9,7%; IC = 5,0-14,5%), y 1991 (λ = 6,6%; IC = 0,3-13,5%) (Figura 2.16). A diferencia de lo observado para el periodo 1988-1991, cuando la prevalencia de infección aumentó significativamente desde el verano a la primavera (Schweigmann y col., 1999), entre 2002-2007 no hubo diferencias significativas entre estaciones, lo cual podría derivar de una captura mucho menor (Figura 2.17).

Figura 2.16. Comparación de las prevalencias de infección con *T. cruzi* determinadas por xenodiagnóstico en zarigüeyas por edad entre 1988-1991 (Schweigmann y col., 1999) y 2002-2007 (antes y después de la vigilancia vectorial sostenida, respectivamente) en la zona rural alrededor de Amamá. Las líneas punteadas son las prevalencias esperadas calculadas a partir de la tasa de incidencia instantánea per capita (λ).

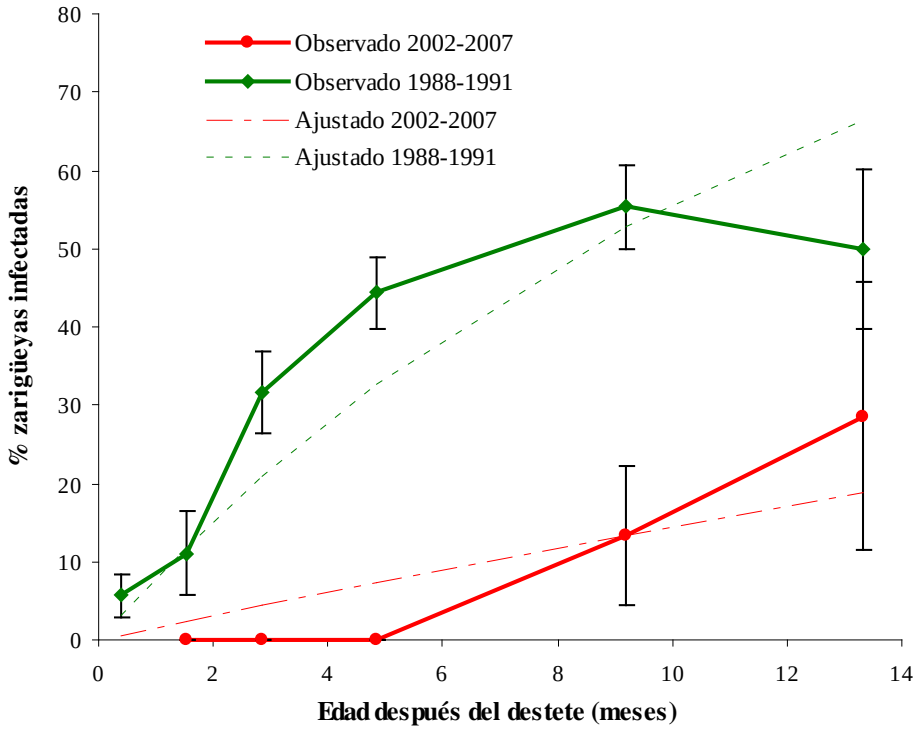
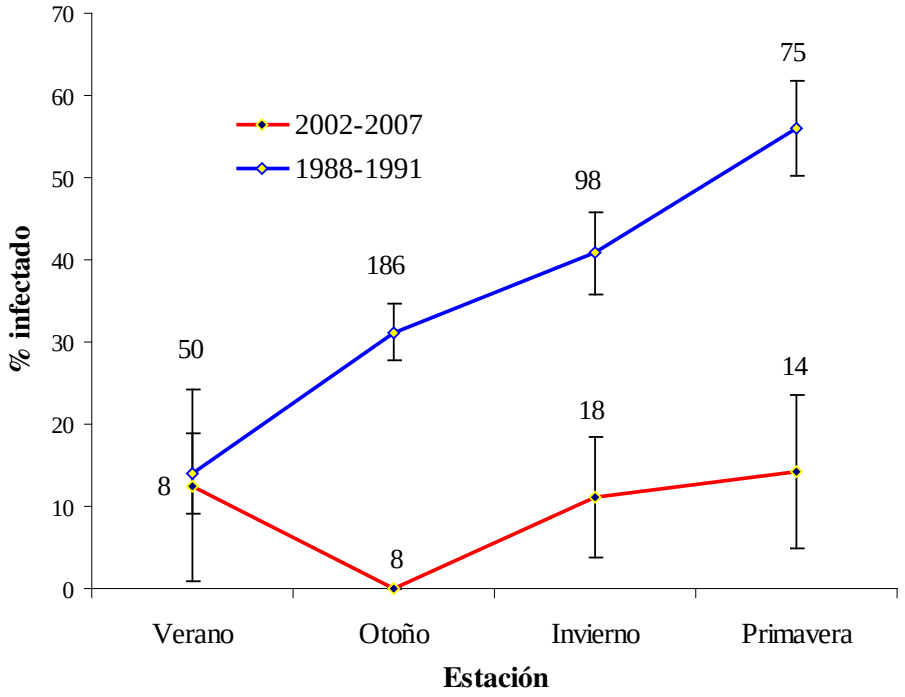


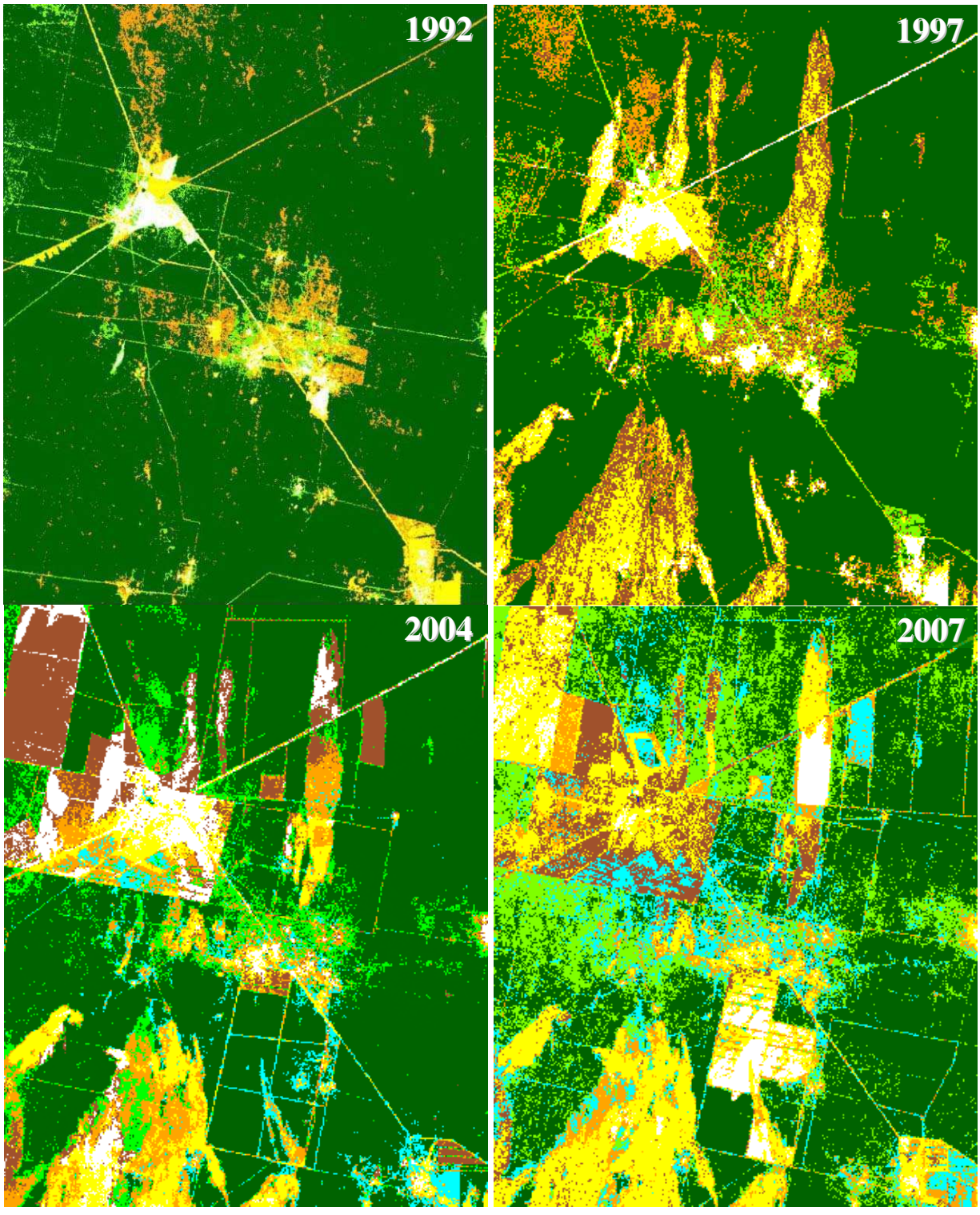
Figura 2.17. Comparación de las prevalencias de infección con *T. cruzi* determinada por xenodiagnóstico en zarigüeyas por estaciones entre 1988-1991 (Schweigmann y col., 1999) y 2002-2007 (antes y después de la vigilancia vectorial sostenida, respectivamente) en el área de Amamá y comunidades vecinas.



2.3.10. Cambio de paisaje: estimación de la tasa de deforestación

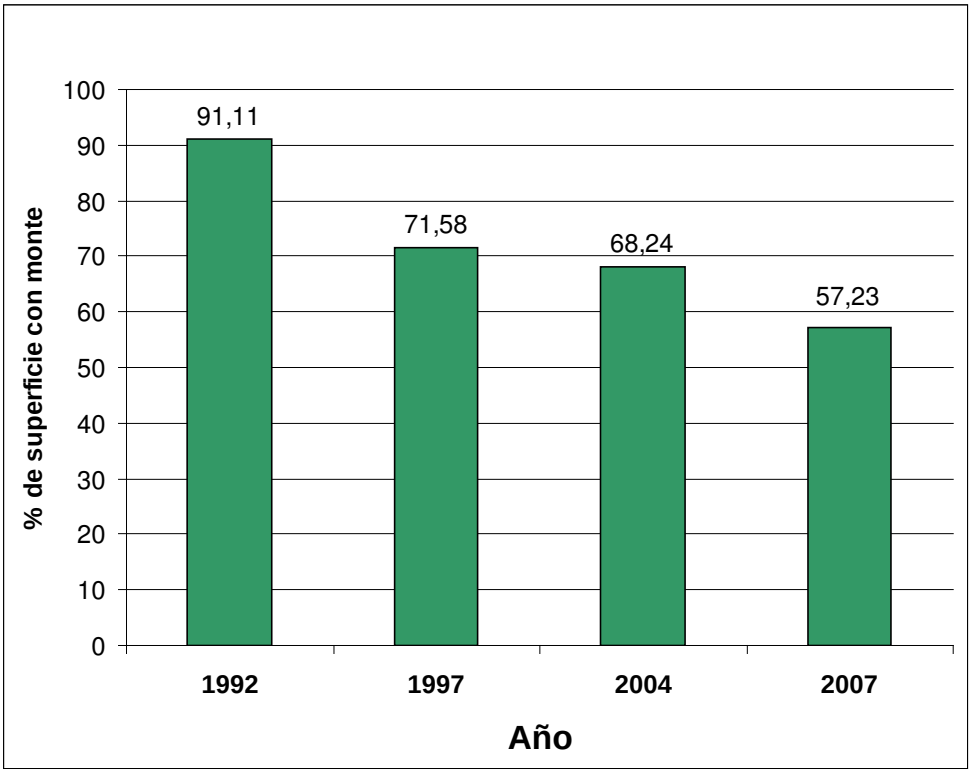
La figura 2.18 muestra los mapas clasificados para las diferentes imágenes (fechas) procesadas. Se observa una diversificación de ambientes propia de los procesos naturales de sucesión de la vegetación del lugar y de la actividad de explotación del hombre. La primera imagen arroja una clasificación en 4 clases, lo cual no significa que las otras clases no existieran sino que estaban tan poco representadas que el método y la resolución de las imágenes no las detecta. Luego el sistema se va tornando más complejo, lo que muestra el grado de disturbio producido por el hombre; aparece más suelo desnudo y zonas deforestadas que evolucionan a zonas de pastizal, para dar luego paso a los arbustos bajos, luego a los más altos, los primeros árboles de menor porte, y así muy lentamente hacia el bosque original, aunque es muy difícil que se produzca ese retorno debido al poco tiempo transcurrido y a la persistente actividad humana.

Figura 2.18. Clasificaciones de las coberturas vegetales presentes en el área de estudio en 1992, 1997, 2004 y 2007 derivadas de imágenes Landsat 5 TM.



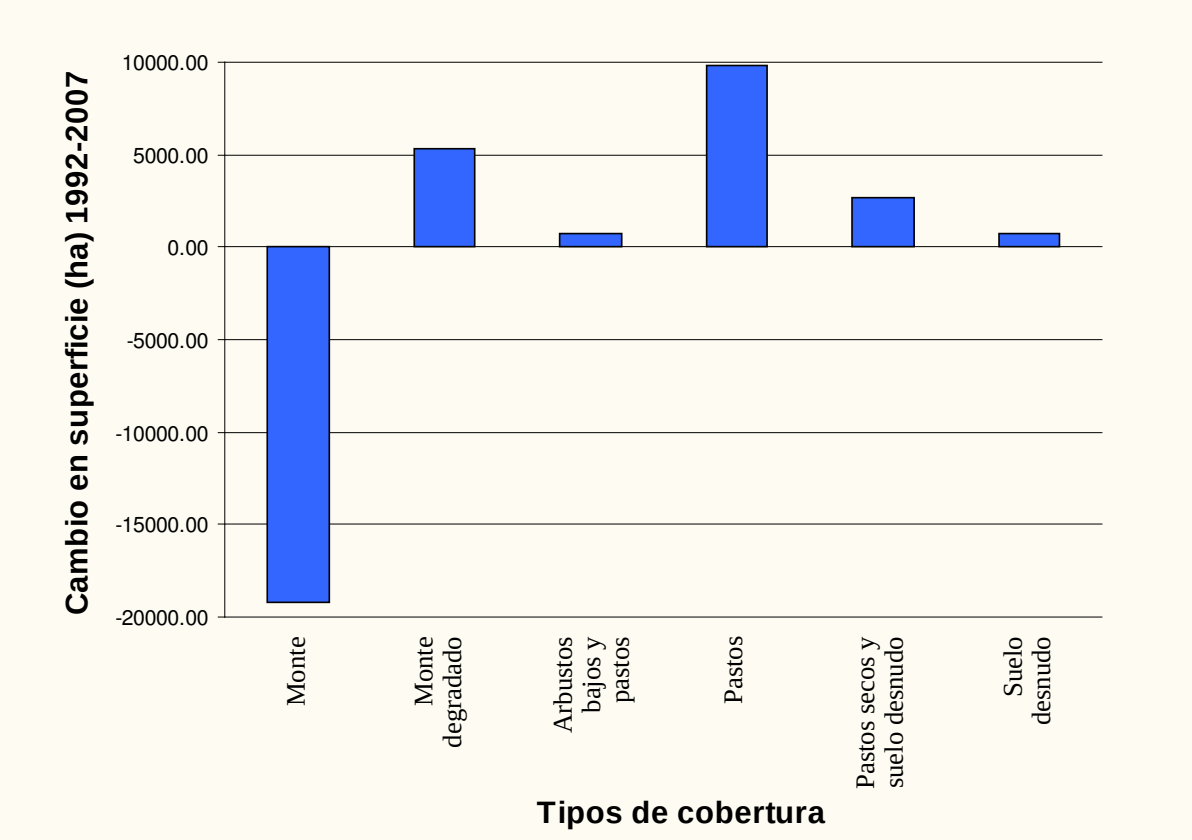
Al agrupar las categorías del monte no modificado con el monte degradado y calcular el porcentaje de dichas coberturas de bosque para cada fecha sobre el total de superficie (i.e., sumando todas las categorías), se observa de manera más clara cómo avanzó el desmonte y la pérdida progresiva de bosques densos (Figura 2.19).

Figura 2.19. Porcentaje de monte en buen estado o poco degradado de la superficie total estudiada para 1992, 1997, 2004 y 2007 (Amáma y comunidades vecinas).



Según las cifras obtenidas, de 1992 a 1997 se perdieron alrededor de 8.000 hectáreas de monte en buen estado o poco degradado, mientras que entre 2004 a 2007 dicha pérdida alcanzó las 4.550 hectáreas. El total de hectáreas perdidas en todo el periodo estudiado rebasó las 13.900 hectáreas (Tabla 2.12). Esto tiene su contraparte en el incremento de áreas de pastos y suelo desnudo, en menor medida áreas con arbustos (Figura 2.20).

Figura 2.20. Diferencia en la superficie de las diferentes coberturas entre 1992 y 2007 (Amáma y comunidades vecinas).



Al calcular las tasas de deforestación anual (*r*) para los diferentes períodos considerados se observa como en los últimos años se incrementó la deforestación, especialmente teniendo en cuenta que en el primer período (1992-1997) hubo grandes zonas incendiadas las cuales en principio no podrían ser tomadas como intencionales, con un aumento muy importante de *r* en el periodo 2004-2007 (Tabla 2.12).

Tabla 2.12. Cálculo de la superficie deforestada y tasa anual de deforestación para los períodos estudiados en Amamá y comunidades vecinas. Ver fórmula página 38.

	Periodo			
	1992-2007	1992-1997	1997-2004	2004-2007
Meses	181	71	85	25
t_2-t_1 (años)	15,08	5,92	7,08	2,08
A_2 (ha)	23.514,4	29.444,2	28.063,5	23.514,4
A_1 (ha)	37.459,0	37.459,0	29.444,2	28.063,5
A_2/A_1	0,63	0,79	0,95	0,84
r	-3,09	-4,07	-0,68	-8,49

2.4. DISCUSIÓN

2.4.1. Mamíferos silvestres infectados con T. cruzi. *Disminución de su prevalencia*

Este estudio muestra una importante disminución en la prevalencia e incidencia de infección de *T. cruzi* en hospedadores silvestres en poco menos de dos décadas. Entre las especies estudiadas las zarigüeyas siguieron siendo el principal reservorio silvestre de *T. cruzi*, seguidas por los zorrinos. Además fue hallado serológicamente positivo (por dos técnicas) un ratón de campo que no pudo ser identificado taxonómicamente en forma concluyente pero podría ser un *A. toba* o *N. lasiurus*. Ningún otro mamífero estudiado fue encontrado infectado con *T. cruzi*, a pesar de la mayor cobertura espacial, intensidad de muestreo, y la inclusión de otros hospedadores comunes (roedores) que no habían sido estudiados tan intensamente en el Gran Chaco. Un extenso relevamiento de cuatro especies de armadillos mediante xenodiagnóstico en tres provincias del noreste de Argentina también dio resultados negativos para *T. cruzi* (Martínez y col., 1983), a diferencia de los relevamientos mediante hemocultivo en el Chaco paraguayo (Yeo y col., 2005). Es interesante notar que también se registraron altas prevalencias de infección en las zarigüeyas *D. albventris* (36%) en la vecina provincia de Chaco entre 1999 y 2002 (Diosque y col., 2004) y en 2008 (27,3%) (Alvarado-Otegui, 2009). En otras partes de América las prevalencias de *T. cruzi* en zarigüeyas del género *Didelphis* llegaron hasta el 52% en áreas infestadas con otras especies de triatominos (Grisard y col., 2000; Telford y Tonn, 1982; Travi y col., 1994). No hay disponibles en la literatura específica estudios longitudinales separados por extensos lapsos de tiempo que permitan evaluar las variaciones temporales de la prevalencia de infección por *T. cruzi* en los principales reservorios animales.

Las prevalencias de *T. cruzi* en zarigüeyas y zorrinos examinados por xenodiagnóstico fueron estables entre 1984 y 1991 (Pietrokovsky y col., 1991; Wisnivesky-Colli y col., 1992; Schweigmann y col., 1999) y disminuyeron desde 3,5 hasta 6 veces para el periodo 2002-2007. Las zarigüeyas mantuvieron las mismas tendencias etarias y estacionales en su prevalencia de infección aunque las diferencias no fueron significativas, probablemente debido al limitado número de individuos examinado en la segunda época. Esto sugiere que podría existir un mismo proceso subyacente aunque actuando a diferente intensidad. Dado que los métodos parasitológicos y serológicos (IFI) fueron igualmente sensibles para detectar infecciones de *T. cruzi* en *Didelphis* (Fernandes y col., 1991; Grisard y col., 2000) y que las infecciones con *T. cruzi* de los 5 especímenes positivos por xenodiagnóstico fueron

confirmadas por PCR de kADN (Cardinal y col., 2008) y por detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* mediante TIA (Trans-Sialidase Inhibition Assay) (tanto las 4 zarigüeyas positivas como otras 18 negativas examinadas por xenodiagnóstico; Sartor P. y col., resultados no publicados, 2008, 2009), las estimaciones basadas en los xenodiagnósticos deberían ser muy cercanas a la prevalencia real de infección por *T. cruzi*. La transmisión vertical (incluyendo las infecciones adquiridas congénitamente y durante la lactancia) y la transmisión horizontal (a través de la orina o secreciones de las glándulas anales) parecen ser rutas poco probables para que se infecten los *Didelphis* sp. (Jansen y col., 1994; Grisard y col., 2000; Telford y Tonn, 1982; Travi y col., 1994), y no pudieron ser demostradas en las zarigüeyas del área de estudio (Conti y col., 1995; Schweigmann, 1994). La prevalencia por edad en zarigüeyas aumentó con el tiempo de exposición (medido por la edad después del destete); este patrón es consistente con la transmisión mediada por vectores (aunque no solamente) y no con la transmisión congénita, ya que al vivir más tiempo existen más posibilidades que se produzcan contactos entre el hospedador y los vectores (u otros hospedadores) infectados.

Con respecto a los zorrinos, también fueron confirmados los resultados de los xenodiagnósticos tanto por kADN (del único positivo) como por TIA (tanto del positivo como de otros 62 zorrinos negativos) (Cardinal y col., 2008; Sartor P. y col., resultados no publicados, 2008, 2009). Hasta la fecha aún no se conocen investigaciones sobre transmisión vertical u horizontal en zorrinos. En resumen, el uso de otros métodos de diagnóstico más sensibles y específicos corroboran tanto los resultados positivos como los negativos obtenidos por xenodiagnóstico.

A pesar del gran número de ratones de por lo menos 8 especies diferentes examinados por xenodiagnóstico (n = 162) sólo fueron hallados positivos para *T. cruzi* por métodos serológicos 2 ratones de 40 analizados. Además, de 45 ratones examinados por TIA (Paula Sartor, resultados no publicados), 2 *G. centralis* y 1 presunto *A. toba* (según sus medidas morfométricas) fueron positivos. El presunto *A. toba* fue también positivo para ELISA sólo a una dilución 1/100. Dado que las diferentes técnicas serológicas antes mencionadas no fueron específicamente estandarizadas para cada una de las especies de roedores examinadas, los resultados aquí presentados no pueden ser tomados como concluyentes o inequívocos. Sin embargo, el hecho que varias especies de ratones hayan sido halladas infectadas con *T. cruzi* tanto en el Gran Chaco (Tabla 2.1) como en otras regiones de América y que los géneros *Akodon* y *Graomys* han sido reportados infectados con *T. cruzi* (Tabla 2.1), permiten al menos especular que las dos especies de roedores aquí halladas seropositivas podrían ser hospedadores naturales de *T. cruzi*. Posiblemente, al igual que algunas cepas de ratones de

laboratorio inoculados experimentalmente, algunas especies silvestres puedan presentar una fase aguda corta, para luego pasar a una fase crónica con parasitemia subpatente (Guarner y col., 2001; Engman y Leon, 2002), lo que dificultaría el diagnóstico de estos mediante técnicas parasitológicas (xenodiagnóstico, gota fresca, etc.). En todo caso, la muy baja (indetectable) parasitemia con *T. cruzi* sugiere que estos roedores podrían jugar solo un papel secundario en el ciclo de transmisión comparado a las zarigüeyas e incluso los zorrinos. Sin embargo, dado que los roedores son abundantes localmente éstos podrían potencialmente actuar como especies reservorios para *T. cruzi*, tal como lo son de otros tripanosomas (e.g., *Trypanosoma conorhini*). Adicionalmente, algunas especies de ratones que tienen hábitos tanto silvestres como peridomésticos (e.g., *G. centralis*, *Mus musculus*) podrían llegar a ser un puente entre los ciclos de transmisión silvestre y doméstico.

En cuanto a la calidad de los xenodiagnósticos, el alto porcentaje de triatominos que sobrevivieron a la primera lectura de infección y el hecho de que hubo un bajo porcentaje de xenodiagnósticos (17,8%) sin mudas a la primera lectura indicaron en forma conjunta que la calidad de los xenodiagnósticos fue en general muy buena. Algunos de los factores que afectarían la supervivencia y la muda de los triatominos de los xenodiagnósticos incluyen: i) la cantidad de sangre ingerida: esta puede depender de la temperatura corporal del mamífero (que depende de la especie y estado fisiológico del especímen), de su piel (vellosidad, dureza y cantidad de vasos superficiales), inmovilización durante el xenodiagnóstico y el tiempo de exposición a los insectos; ii) calidad de la sangre: depende de la especie de hospedador y de su estado de salud e hidratación (hematocrito), y iii) manipulación para el análisis de la infección al microscopio: intensidad y número de veces que se apretó el insecto para que defeque. La chance de mudar luego de una sola alimentación no fue una cuestión del tiempo disponible ya que en general el porcentaje de mudas no registró aumentos entre la primera y la segunda lectura. Dado que la proporción de triatominos que mudaron estuvo positivamente relacionada con la temperatura, tal como lo indicaron estudios experimentales, pareciera entonces que ésta condiciona a la actividad de ingesta de los triatominos (Lazzari y Nuñez, 1989). A mayor temperatura (dentro de un rango no perjudicial para el triatomino) mayor diligencia en la ingesta, y por lo tanto mayor probabilidad de que se produzca la muda al siguiente estadio ninfal. Por otro lado, el tamaño de la ingesta (influenciado por la temperatura) no afectaría tanto a la supervivencia de los triatominos dentro del rango de días que son mantenidas para su análisis. Eso se debería a que con poca sangre que ingieran los triatominos sería suficiente para sobrevivir dicho lapso de tiempo, pero no sería necesariamente suficiente para que muden.

La inesperada declinación en la prevalencia e incidencia de *T. cruzi* en zarigüeyas y zorrinos ocurrió en paralelo tanto en Amamá como en los otros parajes estudiados. En principio, esos cambios podrían estar relacionados con: (i) cambios masivos o selectivos en el paisaje (principalmente por desmonte) durante dos décadas; (ii) vigilancia vectorial sostenida en los hábitats domésticos y peridomésticos con rociados selectivos de insecticidas que causaron la interrupción de la transmisión (peri)doméstica de *T. cruzi*, solo o combinado con los cambios de paisaje, lo cual disminuyó la abundancia y prevalencia de infección de *T. cruzi* en *T. infestans*, y (iii) fluctuaciones estocásticas en la prevalencia de infección en mamíferos silvestres. La primera hipótesis está basada sobre el más importante cambio ambiental reciente que tomó lugar alrededor de Amamá desde aproximadamente 1990, los cuales incluyen la deforestación masiva para pastoreo de ganado vacuno y un aumento en el número de viviendas desde 1993 a 2002 (e.g., 31% de aumento en Amamá, 25% en Trinidad y 22% en Mercedes). Alrededor de Amamá, el alambrado de los campos y la extracción selectiva de arbustos y algunas especies de árboles fueron seguidas por fuegos controlados y la siembra de pasturas exóticas (gaton panic: *Panicum maximum*) para el ganado; algunos sectores sufrieron una deforestación indiscriminada (ver Figuras 2.4 y 2.18) con maquinaria pesada (topadoras, cadenas, etc.). A diferencia de los otros parajes estudiados, en Amamá varias viviendas fueron relocalizadas a lo largo de la ruta pavimentada o de los caminos de tierra principales, y el poblado terminó encerrado por un alambrado y un pastizal bastante homogéneo (Figura 2.4). Estos cambios afectaron las prácticas tradicionales de pastoreo de cabras de los campesinos locales y su economía de subsistencia, y probablemente también redujeron la disponibilidad de refugios para las zarigüeyas y otras especies en la vecindad de las viviendas. En teoría, la deforestación ejerce un gran impacto negativo sobre la abundancia de la fauna silvestre, pero el impacto sobre los mamíferos sinantrópicos con gran capacidad de adaptación a los cambios ecológicos (tales como las zarigüeyas) debería ser mucho menor. La deforestación podría también acrecentar la tasa de contacto de zarigüeyas y zorrinos (por ejemplo) con los sitios peridomésticos y domésticos en búsqueda de alimento; aunque este aumento no fue particularmente percibido ni reportado por los pobladores locales. La degradación de los hábitats silvestres, incluyendo la extracción selectiva de los árboles más grandes y viejos (que son los que principalmente tienen los huecos que usan de refugio las zarigüeyas) podría también haber afectado la abundancia de triatominos silvestres y las tasas de contacto entre zarigüeyas y triatominos a través de la reducción de hábitats adecuados para tales encuentros. Sin embargo, resta identificar en forma concluyente cuáles son los vectores silvestres de *T. cruzi* a nivel local (ver más abajo). A pesar de existir varios ejemplos de enfermedades de

transmisión vectorial que sufren cambios importantes en su epidemiología producto de la deforestación del entorno donde ocurren, los supuestos impactos de la deforestación y cambios en la abundancia de la fauna silvestre sobre las poblaciones de triatominos silvestres carecen de evidencia empírica que los apoye (Walsh y col., 1993). Tanto en el área de estudio (Schweigmann y col., resultados no publicados, 1995a) como en los pastizales pampeanos (Perez-Carusi L., resultados no publicados, 2006), los perros domésticos fueron identificados como una fuente muy importante de mortalidad para las zarigüeyas *D. albiventris*. La reducida disponibilidad de hábitats o refugios apropiados y el aumento de la mortalidad de zarigüeyas debido al mayor contacto con el ambiente peridoméstico y por lo tanto con los abundantes perros (2,4 perros por casa en promedio, Cardinal y col., 2007) podría explicar, al menos parcialmente, la mucho menor captura de zarigüeyas que en los relevamientos realizados a fines de los 1980s y principios de los 1990s. Esta disminución ocurrió a pesar de que se usaron los mismos métodos de captura, un esfuerzo de captura de gran magnitud, y se trabajó con varios de los cazadores que habían realizado estas tareas en las décadas previas. Los cambios en el paisaje fueron cualitativamente menores y más graduales en los parajes fuera de Amamá (ver Figuras 2.4 y 2.18), pero no parecería ser una diferencia importante ya que si bien hubo un mayor número de zarigüeyas capturadas en esos parajes, al ponderarlo por el esfuerzo realizado tales diferencias prácticamente desaparecen, y por lo tanto el cambio del paisaje no explicaría la marcada disminución de la abundancia local de zarigüeyas. Los pobladores locales reportaron obsevar zarigüeyas y sus rastros mucho menos frecuentemente que en décadas pasadas, mientras que las abundancias aparentes de zorrinos y zorros aumentaron llamativamente luego de que prácticamente desapareciera el comercio de sus pieles. Otro hecho que podría estar relacionado al aumento de zorrinos en la zona sería el aumento de zonas de monte más degradadas, las cuales serían seleccionadas por éstos (Carbajo y col., resultados no publicados, 1996). No resulta evidente si estos cambios aparentes en la fauna local de mamíferos omnívoros están interrelacionados. La abundancia de zarigüeyas podría también haber disminuido debido al aumento de la depredación o de patógenos. El aumento de depredadores medianos (como los zorros) y el contacto con los perros acrecentarían la mortalidad de las zarigüeyas y causarían una disminución de la prevalencia de infección en el equilibrio y de la abundancia de hospedadores infectados, independientemente de si los depredadores tienden a atacar a presas infectadas o saludables (Ostfeld y Holt, 2004). Para una población estable de vectores, la menor abundancia de zarigüeyas debería reducir su tasa de contacto con los triatominos. Un modelo matemático de transmisión de *T. cruzi* sugiere que una dramática reducción en la abundancia de un

reservorio primario que tiene una infectividad para el vector alta y persistente (tales como los perros o su equivalente silvestre, las zarigüeyas) disminuiría el riesgo de transmisión y reduciría la prevalencia de infección en triatominos y hospedadores en el equilibrio cuando otros parámetros (i.e., número de triatominos infectados) se mantienen constantes (Cohen y Gürtler, 2001).

La segunda hipótesis (efectos de la vigilancia vectorial sostenida junto a rociados selectivos con insecticidas) implican una fuerte conexión o solapamiento entre los ciclos de transmisión doméstico y silvestre, con el ciclo doméstico "derramando" *T. cruzi* y/o triatominos (infectados o no) al ciclo silvestre. Antes de 1992, sólo Amamá experimentó un transitorio período de bajo riesgo de transmisión doméstica entre fines de 1985 y mediados del 1988 luego del primer rociado residual con insecticidas hecho en el Departamento Moreno, mientras que Trinidad, Mercedes y todos los otros parajes rurales se hallaban altamente infestados y con transmisión activa hasta fines de 1992 (Gürtler y col., 1991, 1992, 1993). La transmisión de *T. cruzi* a las zarigüeyas fue marcadamente estable durante un extenso periodo, tal como lo demuestra: (i) la casi constante prevalencia de infección media entre 1984-1987 y 1988-1991 (31,9-35,9%), y (ii) las muy similares curvas de prevalencia por edad registradas anualmente entre 1988 y 1991 (Schweigmann y col., 1999). Además, durante 2002-2007 la prevalencia media de *T. cruzi* en zarigüeyas fue nuevamente estable aunque a niveles sustancialmente más bajos; los mamíferos silvestres infectados fueron capturados alrededor de los parajes que tenían las infestaciones más bajas, y solo una prevalencia marginal de *T. cruzi* (<1%) fue detectada en *T. infestans* y otros triatominos (Cardinal y col., 2007). Por lo tanto, la probabilidad de ocurrencia de contactos potencialmente infectivos entre triatominos domésticos o peridomésticos infectados por *T. cruzi* de los parajes de estudio y los mamíferos silvestres fue probablemente demasiado remota como para explicar la ocurrencia de mamíferos infectados. Sin embargo, el "derrame" de triatominos domésticos o peridomésticos hacia el monte y subsiguiente creación de focos silvestres de transmisión es posible en nuestro sistema, y es apoyada al menos por un ejemplo donde tal "derrame" fue detectado en zarigüeyas del género *Didelphis* y *T. infestans* en Minas Gerais, Brasil (Diotaiuti y col., 1995), y por el hecho de haber encontrado colonias de *T. infestans* en el medio silvestre del área de estudio (ver capítulo III).

Las zarigüeyas y los zorrinos son mamíferos nocturnos, omnívoros, que comen insectos (especialmente en verano), con un área de acción promedio limitada (~50-200 ha., respectivamente), esperanza de vida corta (12-18 meses y quizás 2-4 años, respectivamente), y alta fecundidad que se traducen en un rápido recambio poblacional (Schweigmann y col.,

1994; Donadio y col., 2001; Travaini y col., 1998; Van Gelder, 1968). *D. albiventris* es a veces considerada semi-nómade, donde cada individuo usa múltiples refugios principalmente en huecos de árboles y cuevas bajo tierra. Tanto las zarigüeyas como los zorrinos podrían adquirir la infección con *T. cruzi* al comer *T. infestans* (u otros triatominos) infectados (i.e., vía oral de transmisión), cuando se aproximan a las viviendas en búsqueda de comida, o cuando los triatominos adultos eventualmente se dispersan por vuelo dentro del hábitat silvestre, o por contaminación con heces de triatominos. Dado que las zarigüeyas frecuentemente se aproximan a las habitaciones humanas, han sido propuestas como un posible hospedador "puente" entre el ambiente silvestre y el doméstico (Diotaiuti y col., 1995, Schweigmann y col., 1999). De igual manera, se sabe por relato de los pobladores que los zorrinos realizan incursiones nocturnas a los peridomicilios en búsqueda de comida (i.e., gallinas y sus huevos) y hasta se refugian en ellos (observación personal). En la misma área de estudio de la presente tesis, Carbajo y colaboradores (resultados no publicados, 1996) comprobaron que la presencia y actividad (i.e., desplazamientos) de los zorrinos aumentaba con la proximidad a las viviendas. Este hecho junto a que se había hallado un zorrino infectado con una cepa de *T. cruzi* relacionada al ciclo doméstico (ver más adelante) sugirieron que estos mamíferos podrían estar involucrados en un solapamiento entre los ciclos doméstico y silvestre de transmisión de *T. cruzi* en el área de estudio. Sin embargo, dada la abrupta declinación en la abundancia y prevalencia de *T. cruzi* en zarigüeyas en nuestra área de estudio, esta ruta de adquisición del parásito parecería poco probable en tiempos recientes. La probabilidad de que una zarigüeya se infectara con *T. cruzi* por ingestión o contaminación experimental fue alrededor de 6-8% (Rabinovich y col., 2001). En cuanto al mecanismo preciso y lugar donde ocurriría la transmisión mediada por vector, si los *T. infestans* (triatomino con mucho mayor prevalencia de infección que el resto de las especies) domésticos o peridomésticos infectados con *T. cruzi* estuvieran implicados en la infección de las zarigüeyas y zorrinos, al disminuir la abundancia de estos triatominos infectados (como fue el caso) el riesgo de infección para estos mamíferos locales debería tornarse insignificante.

En el área de estudio *D. albiventris* se refugia en cavidades de árboles y cactus, bajo hojas de bromeliáces y en madrigueras en la tierra (Schweigmann, 1994). Los triatominos que a veces se hallan en estos hábitats se hallaron alimentados sobre Didelphidae (Wisnivesky-Colli y col., 1992, 1993b), lo cual abre la posibilidad que durante estos contactos exista transmisión del parásito. A pesar de la frecuente infección de las zarigüeyas en el área de estudio, menos del 1% de los triatominos capturados de los refugios de zarigüeyas (0 a 14

insectos por ecotopo) tuvieron flagelados tipo *T. cruzi* al miscroscopio (Wisnivesky-Colli y col., 1993b; Schweigmann y col., resultados no publicados, 1995b,c; Vezzani y col., 2001).

En vista de los patrones (etarios y estacionales) estables de infección de las zarigüeyas entre 1984 y 1991 y entre 2002 y 2007 y del rápido recambio de sus poblaciones, la hipótesis que plantea que la principal causa de la declinación a largo plazo en la prevalencia de *T. cruzi* pudiera ser explicada por fluctuaciones aleatorias (tercera hipótesis) no parece contar con sustento.

2.4.2. Origen de la infección. Variedad de T. cruzi *en los mamíferos silvestres*

Una evidencia crucial que podría dar luz sobre el origen de la infección de los mamíferos silvestres es la diversidad de *T. cruzi* en hospedadores y triatominos domésticos y silvestres. Estudios previos basados en la electroforesis de enzimas multilocus (EEML) concluyeron que los ciclos domésticos y silvestres de transmisión de *T. cruzi* se solapaban parcialmente en Argentina, incluyendo áreas rurales dentro de la región Chaqueña (Wisnivesky-Colli y col., 1992; De Luca d'Oro y col., 1993; Diosque y col., 2003).

Las zarigüeyas del género *Didelphis* han sido encontradas infectadas predominantemente con TcI en las Américas (revisiones de Brisse y col., 2000, y Yeo y col., 2005). Sin embargo, en el área de estudio de este trabajo y basándose en la corriente división de *T. cruzi* (Zingales y col., 2009), tres de 18 zarigüeyas, dos hurones menores y un zorrino se hallaban infectados con zimodemas equivalentes a TcV (anteriormente *T. cruzi* IId) hasta inicios de los 1990s (Wisnivesky-Colli y col., 1992; Luca d'Oro y col., 1993). Esta UDT TcV también infectaba perros domésticos y *T. infestans* en Santiago del Estero, cuando la transmisión doméstica de *T. cruzi* era intensa y generalizada. En ese contexto epidemiológico de intensa transmisión, la distribución de UDTs observada probablemente fuera un "derramamiento" de cepas de *T. cruzi* desde el hábitat doméstico hacia el silvestre. Las zarigüeyas analizadas en este trabajo solo presentaron infección por TcI, mientras que sólo uno de 33 perros infectados con *T. cruzi* tipificados (a partir de 57 perros infectados sobre 697 examinados), y tres *T. infestans* (peri)domésticos de 54 con *T. cruzi* tipificados (a partir de 94 infectados sobre 2.243 *T. infestans* examinados) fueron encontrados infectados por TcI en los parajes estudiados (Cardinal y col., 2008). Para esta área por lo tanto, sería altamente improbable que las zarigüeyas adquirieran TcI en los hábitats domésticos o peridomésticos, es decir que el 100% de las zarigüeyas positivas se infecten de sólo el 0,24% de los triatominos (peri)domésticos infectados con *T. cruzi*. Si las zarigüeyas adquiriesen la infección por *T.*

cruzi a partir de fuentes domésticas, otras UDTs parasitarias distintos de TcI deberían infectarlas, tal como se observó en el pasado (Wisnivesky-Colli y col., 1992; De Luca d'Oro y col., 1993). Por otro lado, el zorrino infectado fue el primer registro de un mamífero silvestre infectado con TcIII (*T. cruzi* IIc) en Argentina (Cardinal y col., 2008). Esta UDT, que junto a TcI frecuentemente están asociados con el medio silvestre en el Gran Chaco, también ha sido encontrado infectando un *T. infestans* y un perro en el área de estudio (de 54 y 33 con *T. cruzi* tipificados, respectivamente) (Cardinal y col., 2008). Si bien este hallazgo abre la posibilidad de que haya un leve solapamiento de los ciclos silvestre y doméstico de transmisión de *T. cruzi*, este evento también es muy poco probable dado que solo un 0,08% de los triatominos se hallaría infectado con TcIII. En la provincia de Chaco, Alvarado-Otegui (2009) encontró infectado con TcIII al 67%(6/9) de los *D. novemcinctus* capturados, lo que señalaría a dicha especie como un importante reservorio de parásitos TcIII. En el chaco paraguayo, TcIII también ha sido aislado de dos especies de armadillos (*D. novemcinctus* y *Chaetophractus spp.*) y de una marmosa o colicorto *M. domestica*, pero no de *T. infestans* (Yeo y col., 2005). En el área de estudio no ha sido detectado ningún armadillo infectado por *T. cruzi* ni en la presente tesis ni por Wisnivesky-Colli y colaboradores (1992), a pesar que entre ambos estudios se analizaron 123 especímenes de tres especies distintas. *D. novemcinctus* no habita el área de estudio y evidentemente, de todas las especies de armadillos estudiados, es la que más ligada está con el ciclo silvestre de transmisión de *T. cruzi* (especialmente TcIII), debido a que presenta altas prevalencias (ver Tabla 2.1) e infectividad a los triatominos (84% de infectividad promedio a *T. infestans*; Alvarado-Otegui, 2009). Estas características hacen que *D. novemcinctus* sea un muy buen reservorio de *T. cruzi* en todo su rango de distribución, que no incluiría esta área de Santiago del Estero.

Si el solapamiento entre ciclos tuviera una dirección inversa, la introducción de parásitos silvestres hacia el ambiente doméstico podría ocurrir a través de diversos mecanismos, como por ejemplo: triatominos y mamíferos silvestres que invaden ecotopos artificiales, y mamíferos sinantrópicos (i.e., ratas, ratones, perros y gatos domésticos) o las personas mismas visitando focos naturales (e.g., en los típicos campamentos internados en el monte donde los hacheros pasan la semana de trabajo) (Barreto, 1975; Diotaiuti y col., 1995). Como se manifestó antes, dado que las zarigüeyas frecuentemente se aproximan a las habitaciones humanas, podrían ser un hospedador "puente" que introduciría parásitos al ciclo doméstico. El contacto con animales silvestres fue comprobado en el 9% de 136 triatominos peridomésticos (incluyendo 117 *T. infestans*, y 19 *T. guasayana* y *T. garciabesi*) a partir de la determinación de la fuente de alimentación mediante pruebas de doble difusión en gel de agar,

donde se detectaron ingestas sobre mustélidos, armadillos, didelditos y reptiles (Gajate y col., resultados no publicados, 1995). Dada la abrupta declinación en la abundancia y prevalencia de *T. cruzi* en zarigüeyas en nuestra área de estudio, este tipo de introducción del parásito al medio doméstico parecería poco probable en el presente y podría explicar la tan baja prevalencia de TcI en el medio (peri)doméstico. El sorprendente hallazgo de una zarigüeya infectada con TcI en el 2007, cuando la abundancia de *T. infestans* domésticos y peridomésticos era muy baja o nula y ninguna infección por *T. cruzi* se había detectado en triatominos después del rociado con insecticidas en el 2004 (Gürtler y col., 2007b), brinda más sustento a la ocurrencia en el área de un ciclo de transmisión silvestre independiente con un muy bajo nivel de intensidad. En teoría, tanto los perros como los gatos del área podrían mediar la introducción de UDTs de *T. cruzi* silvestres al ambiente doméstico ya que frecuentemente visitan el monte para cazar (Cardinal y col., 2006, 2008). Los perros podrían infectarse con TcI o TcIII al internarse en el monte o a cazar, ya que los perros matan zarigüeyas en el área de estudio (Schweigmann y col., 1999). En esta área, los perros infectados ya habían sido hallados infectados con TcI antes de 1992, cuando ocurría una intensa transmisión de *T. cruzi* y los ciclos de transmisión se solapaban parcialmente. El hecho que los perros infectados con TcI o TcIII fueran cazadores (Cardinal, 2008) sugiere una posible ruta oral de la infección, pero este mecanismo de transmisión es improbable que suceda dado la muy baja prevalencia actual de *T. cruzi* en mamíferos silvestres (0,9%). La actual contribución de los gatos a la introducción de *T. cruzi* desde el medio silvestres parecería despreciable ya que los pocos gatos hallados solo estaban infectados con TcVI, UDT solo encontrado en el ámbito doméstico en el área de estudio. Lamentablemente no se pudo identificar la UDT del parásito que lo infectaría al roedor serológicamente positivo, lo cual no permitiría especular más de lo antedicho (ver sección 2.4.1) sobre su eventual papel en los ciclos de transmisión de la enfermedad. Las infecciones de *T. cruzi* en roedores son comunes en Bolivia, Chile y Brasil (Cortez y col., 2006; Herrera y col., 2007; Rozas y col., 2007) y ha sido comprobada en Argentina en el sur de Cordoba (Tabla 2.1) y en Jujuy (Schweigmann y col., 1992). La predominancia de TcI entre los aislados del hábitat silvestre probablemente se deba al rol de las zarigüeyas como el principal reservorio de *T. cruzi* silvestre local (Wisnivesky-Colli y col., 1992; Schweigmann y col., 1999) y a la ausencia de infección por *T. cruzi* entre armadillos.

La co-ocurrencia de dos especies de mamíferos silvestres simpátricos infectados con dos diferentes UDTs de *T. cruzi* sugiere: (i) la existencia simultánea de dos ciclos silvestres de transmisión independientes mediados por diferentes especies de vectores, o (ii) la selección de

determinada UDT de *T. cruzi* por parte del hospedador. La primera hipótesis es apoyada por la existencia de dos ciclos silvestres de transmisión, independientes y simultáneos, en la misma área de bosque en Brasil (Pinho y col., 2000). Además, existen múltiples evidencias que sugieren que los mamíferos que habitan cuevas (tales como los armadillos y zorrinos) están asociados estrechamente con TcIII (y en menor medida con TcII y TcV), mientras que los mamíferos de hábitos más arborícolas (tales como las zarigüeyas) están asociados estrechamente con la UDT TcI (Yeo y col., 2005; Marcili y col., 2009). La persistencia de TcI en zarigüeyas y la ocurrencia de una UDT diferente en zorrinos (TcV hasta los 1990s y TcIII más recientemente) también sugieren que esos dos hospedadores mantuvieron ciclos de transmisión separados durante décadas. La muy baja frecuencia de zorrinos infectados sugiere que ellos podrían ser hospedadores incidentales de *T. cruzi*.

Con respecto a la selección de la cepa o variedad de *T. cruzi* por parte del mamífero hospedador, ha sido probado experimentalmente que hay un control efectivo e incluso la eliminación de la infección con diferentes cepas o variedades de *T. cruzi* por el sistema inmune de los diferentes mamíferos (Deane y col., 1984a; Jansen y col., 1999). Esto también ha sido sugerido por datos de campo (Breniere y col., 1998). Las infecciones experimentales de zarigüeyas del género *Didelphis* con TcII fueron consideradas menos persistentes que las infecciones con TcI (Fernandes y col., 1994a). En teoría, los métodos de aislamiento de parásitos (a través del cultivo o subinoculación de ratones) podrían seleccionar ciertas cepas y UDTs de *T. cruzi*. Sin embargo, esta selección de UDTs no fue registrada entre 145 aislados de zarigüeyas a pesar de que se usaron diferentes métodos de aislamiento (Fernandes y col., 1991). Las infecciones mixtas con UDTs diferentes tanto experimentales en ratones (Deane y col., 1984b) como naturales en humanos (e.g., Di Noia y col., 2002; Burgos y col., 2007, 2008), perros (e.g., Cardinal y col., 2008) y zarigueyas del género *Didelphis* (e.g., *D. marsupialis* en Fernandes y col., 1998, y *D. aurita* en Lisboa y col., 2007) no apoyan la hipótesis de selección estricta de una UDT por el hospedador.

2.4.2. Cambio de paisaje

La gran deforestación general y progresiva que se observó en Amamá no es privativa de esta área del parque chaqueño. Si comparamos las tasas de deforestación del área de estudio con las de otras provincias que tienen bosque de tipo chaqueño (Tabla 2.13) y con las de los departamentos del este de Santiago del Estero (los cuales tienen la mayor superficie deforestada de la provincia; UMSEF, 2004) o incluso con la tasa promedio a nivel mundial

(Tabla 2.14), en el período 2004-2007 esta tasa fue de las más altas observadas, solo superada en el periodo 2002-2004 por el Departamento 12 de Octubre de la Provincia de Chaco.

Tabla 2.13. Superficie de bosque nativo correspondiente a los años 1998, 2002 y 2006, superficie deforestada y tasa anual de deforestación para los períodos 1998-2002 y 2002-2006 por provincia (UMSEF, 2007).

Tabla 1. Superficie de bosque nativo correspondiente a los años 1998, 2002 y 2006, superficie deforestada y tasa anual de deforestación para los períodos 1998-2002 y 2002-2006 por provincia.

Provincia	Superficie bosque nativo (ha)			Superficie deforestada (ha)		Tasa anual de deforestación (%)	
	1998	2002	2006*	1998-2002**	2002-2006*	1998-2002	2002-2006*
Chaco	5.107.780	4.939.466	4.811.975	117.974	127.491	-0,57%	-0,65%
Córdoba	1.108.769	979.095	885.165	122.798	93.930	-2,93%	-2,52%
Formosa	3.073.011	3.052.119	3.021.823	19.977	30.296	-0,16%	-0,25%
Salta	7.235.736	6.931.705	6.516.771	194.389	414.934	-0,69%	-1,54%
Santa Fe	554.799	530.354	519.027	20.737	11.327	-0,95%	-0,54%
Santiago del Estero	6.608.826	6.193.836	5.678.608	306.055	515.228	-1,18%	-2,17%
Total	23.688.921	22.626.575	21.433.369	781.930	1.193.206	-1,01%	-1,35%

* datos preliminares ** la superficie deforestada 1998-2002 no resulta de la diferencia entre la superficie de bosque nativo en dichos años dado que existen otros cambios como degradación y regeneración que no se presentan en esta tabla.

Tabla 2.14. Deforestación de los departamentos del este de Santiago del Estero, departamentos significativos y provincias de Argentina, y dato mundial (UMSEF, 2004).

Lugar	Período	Deforestación* (ha)	Tasa anual de deforestación (%)
Dpto. Alberdi	**2002-2004**	**41.592**	**-2,40**
Dpto. Juan F. Ibarra	**2002-2004**	**9.741**	**-1,18**
Dpto. Moreno	**2002-2004**	**92.679**	**-5,50**
Dpto. Gral. Taboada	**2002-2004**	**28.094**	**-7,67**
Total 4 departamentos	**2002-2004**	**172.106**	**-3,74**
Dpto. Alberdi	1998-2002	37.118	-1.02
Dpto. Juan F. Ibarra	1998-2002	21.101	-1.24
Dpto. Moreno	1998-2002	91.712	-2.45
Dpto. Gral. Taboada	1998-2002	38.802	-4.48
Total 4 departamentos	1998-2002	188.733	-1.90
Prov. de Santiago del Estero	1998-2002	306.055	-1,18
Dpto. 12 de Octubre (Chaco)	2002-2004	12.224	-9,34
Provincia del Chaco	1998-2002	117.974	-0,57
Dpto. Anta (Salta)	2002-2004	66.838	-2,09
Provincia de Salta	1998-2002	194.389	-0,69
El mundo (Puyravaud, 2003)	1990-2000	SD	-0,23

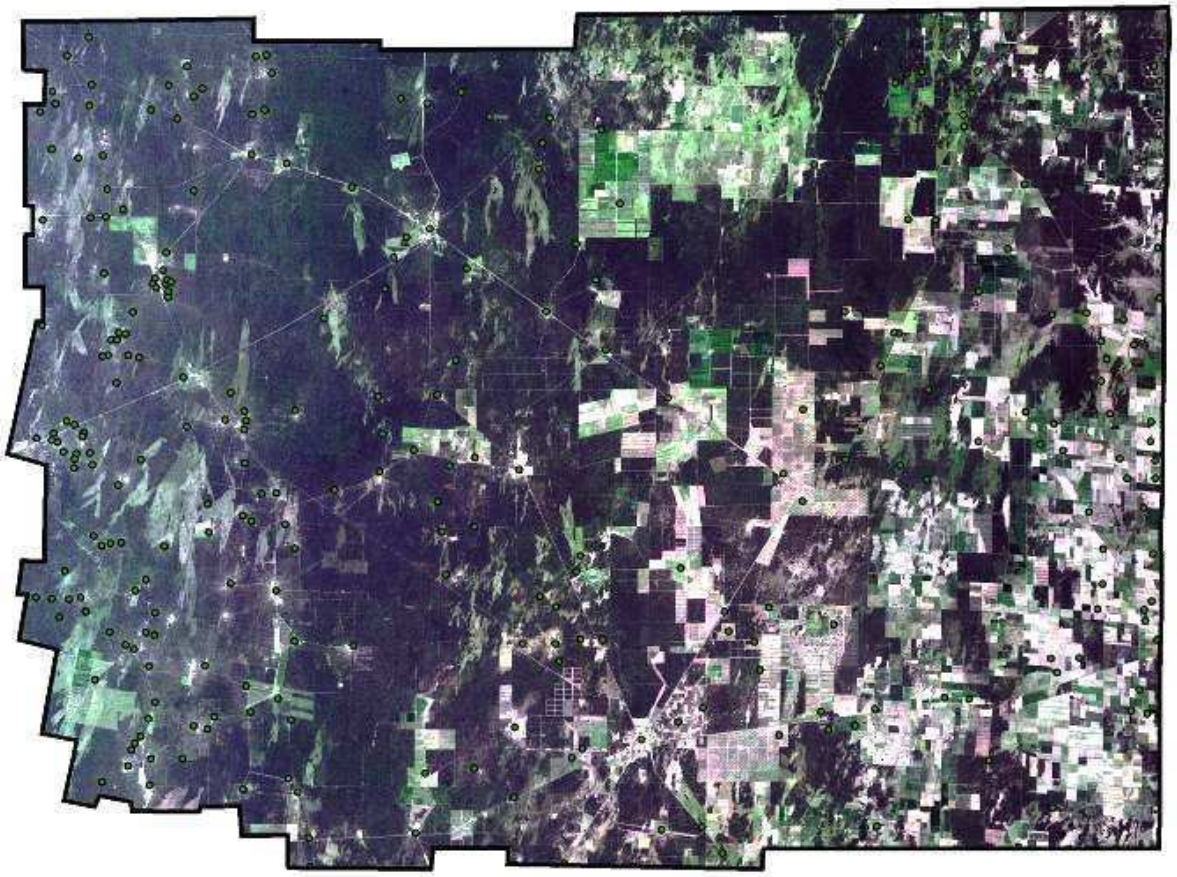
*Pérdida de bosques nativos (Tierras forestales + Bosques rurales)
SD Sin dato.

Históricamente, el algodón y la soja se cultivaban en la zona este del departamento Moreno, en el límite con la provincia del Chaco, pero en la actualidad estas actividades se han extendido hacia el oeste (Figura 2.21). Esto podría deberse a un aumento en los niveles de precipitación del noroeste argentino en los últimos años (Villalba y col., 1998), lo cual habría causado un aumento del área con precipitaciones adecuadas para la agricultura de secano. Por otra parte, las innovaciones tecnológicas (nuevas maquinarias, cultivos transgénicos resistentes a plagas y estrés hídrico) pueden reducir las limitaciones para que se produzca la expansión agrícola. También hay que tener en cuenta que los recursos forestales (maderas duras) se han agotado en las zonas que demandaban menor inversión para su explotación.

Una clara evidencia que el proceso de deforestación está asociado con los grandes terratenientes puede verse en que la mayor parte de la pérdida de bosques densos se dio dentro de las estancias (localidades de Amamá y La Curva), precedida por los deslindes que se ven como líneas rectas angostas de desmontes marcando grandes parcelas (Figura 2.18).

Las tendencias actuales de aumento en la precipitación así como la alta rentabilidad de ciertos cultivos, principalmente de soja, acompañadas de la innovación tecnológica disminuirían las restricciones a la expansión agrícola resultando en la pérdida masiva de la superficie boscosa de la provincia de Santiago del Estero.

Figura 2.21. Avance desde el este de la frontera agropecuaria en el Departamento Moreno de la Provincia de Santiago del Estero. Imagen Landsat 7 ETM+ de diciembre de 2000. Tomada de Tesis doctoral de Gonzalo Vázquez-Prokopec (UBA, 2007).



2.5. Limitaciones del estudio

No se pudo analizar la distribución espacial de las capturas en el área de estudio dado que no fue posible registrar gran parte (>50%) de los sitios donde se colocaron las trampas, principalmente las que operaban los pobladores, quienes las cambiaban de lugar casi continuamente. La distribución espacial de las capturas en general y la de los mamíferos infectados con *T. cruzi* en particular podrían estar afectadas por la distribución espacial de las trampas. El método de asignación aleatoria ("random labeling") permite tomar en cuenta la distribución de todas las trampas (positivas y negativas) y evaluar la distribución de las positivas dada la distribución de todas las trampas. Para ello este método genera un modelo nulo reasignando aleatoriamente el valor (en este caso, positivo o negativo) de cada trampa entre todas las trampas. Este modelo nulo se compara con la distribución observada. Desafortunadamente el muy bajo número de animales infectados (positivos) no justifica realizar un análisis de su distribución espacial.

La distribución de UDTs de *T. cruzi* entre vectores y hospedadores debe interpretarse con cautela ya que diversas características biológicas de las cepas, como la eventual selección diferencial del hospedador, histotropismo, y la selección de UDTs durante el cultivo del parásito, podrían estar afectando los patrones observados. Nuestros resultados podrían estar sesgados por el hecho de no haber trabajado con clones, ya que existe evidencia de infecciones mixtas con dos UDTs sólo reveladas cuando se tipifican los clones (Montamat y col., 1992; Yeo y col., 2005, 2007). El pasaje por cultivo de los parásitos analizados también podría haber reducido la actual variabilidad genética existente en las poblaciones naturales de *T. cruzi* ya que se ha documentado una mayor diversidad cuando los parásitos se tipifican directamente de las muestras de heces (Bosseno y col., 1996; Marcet y col., 2006a) o de otro tipo de muestras clínicas (Burgos y col., 2007, 2008). Dado que las poblaciones naturales de *T. cruzi* desarrollan diferentes tropismos tisulares en los hospedadores mamíferos (Macedo y col., 2004; Burgos y col., 2005, 2008), no podemos rechazar la posibilidad que otras UDTs de parásitos pudieran estar presentes en las especies analizadas pero con menores grados de parasitemia no detectables por xenodiagnóstico durante la etapa crónica.

Con respecto a los métodos serológicos, en este trabajo se examinaron tanto los sueros de los ratones silvestres y zorros con antisueros comerciales lo más taxonómicamente cercanos posibles (antisueros de ratones de laboratorio y de perros) ya que no se cuenta con los antisueros específicos. Asimismo, se usaron como controles positivos sueros de perros y ratones de laboratorio por no contarse con sueros positivos para *T. cruzi* específicos para animales silvestres. La estandarización de una técnica serológica que permita utilizarla para varias especies silvestres es una línea de trabajo en sí misma y supera ampliamente los objetivos de este trabajo.

Capítulo III

Focos silvestres de *Triatoma infestans* en el chaco seco santiagueño

Focos silvestres de **Triatoma infestans** *en el chaco seco santiagueño*

RESUMEN

Este capítulo desarrolla las investigaciones sobre focos silvestres de *Triatoma infestans*. Se reporta el inesperado hallazgo de colonias de *T. infestans* silvestres en el noreste de Santiago del Estero en 2005 y 2006. Dichas colonias se encontraban alejadas hasta 1.900 m de las casas más cercanas, y a 2.300 m de la casa más cercana con infestación detectada en las evaluaciones entomológicas después de un rociado de insecticidas con poder residual de todas las viviendas realizado 18 meses previos al hallazgo. En forma paralela se detectaron muy pocos *T. infestans* adultos y pequeñas colonias de triatominos recientemente establecidas en hábitats (peri)domésticos cuyo origen era desconocido. De los 174 triatominos silvestres totales capturados (24 *T. infestans*, 138 *T. guasayana*, 4 *T. garciabesi*, 1 *Triatoma platensis* y 7 ninfas pequeñas no identificadas), 7 *T. guasayana* y 2 *T. infestans* fueron detectadas infectadas por *T. cruzi* mediante PCR-kADN. Basado en marcadores de ADN mitocondrial y de microsatélites, morfometría geométrica de alas y análisis espacial, se concluye que los *T. infestans* hallados en hábitats silvestres probablemente derivaron de poblaciones (peri)domésticas. Se discute si los hábitats silvestres proveen un refugio efímero o permanente para las poblaciones (peri)domésticas de *T. infestans* después de los intervenciones con insecticidas (i.e., si esos refugios pueden servir como una fuente para la reinfestación (peri)doméstica) y si las colonias son viables en ausencia de inmigración. La ocurrencia de focos silvestres de *T. infestans* en el Gran Chaco podría ser una amenaza para los esfuerzos de eliminación del vector, y necesita ser investigada en profundidad en múltiples áreas. Los resultados del análisis de infección por *T. cruzi* mediante PCR-kADN apoyan la hipótesis que *T. guasayana* es el principal vector silvestre de *T. cruzi* y abren la posibilidad que los *T. infestans* silvestres participen en la transmisión en dicho ciclo.

3.1. INTRODUCCIÓN

3.1.1. Vectores de Trypanosoma cruzi *en la región del Gran Chaco*

En toda América existen unas 138 especies conocidas de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), la mayoría de las cuales son silvestres y generalmente están asociadas con diferentes hospedadores vertebrados en una gran variedad de hábitats naturales. Casi todas las especies de triatominos pueden infectarse natural o experimentalmente con *T. cruzi* y por lo tanto son potenciales vectores de la Enfermedad de Chagas (Lent y Wygodzinsky, 1979; Carcavallo y Martínez, 1985; Sherlock y col., 1998), aunque solamente 10 especies colonizan activamente las viviendas humanas y son consideradas de importancia epidemiológica (Schofield, 1994). No obstante, una gran cantidad de especies identificadas como "silvestres" o "peridomésticas" ocasionalmente invaden las viviendas humanas, pudiendo contribuir en menor medida a la fuerza de transmisión de *T. cruzi* al hombre y a la introducción de *T. cruzi* desde el ciclo de transmisión silvestre al doméstico (Noireau y col., 2005; Schofield y col., 1999; Silveira, 1999).

En la región del Gran Chaco habitan las siguientes especies del género *Triatoma*: *T. infestans, T. guasayana*, *T. sordida* y *T. garciabesi* (complejo sordida), *T. delpontei*, *T. platensis*, y las menos frecuentes *T. circummaculata*, *T. breyeri*, *T. patagonica*, *T. ninioi*; del género *Panstrongylus*, *P. guentheri*, *P. geniculatus*; y *Psammolestes coreodes* (Abalos y Wygodzinsky, 1951; Lent y Wygodzinsky, 1979; Carcavallo y Martínez, 1985). Algunas de esas especies de triatominos han colonizado los hábitats peridomésticos, tales como corrales (i.e., de cabras, ovejas, cerdos, equinos, etc.), gallineros, depósitos, cocinas y otros, y unas pocas especies invaden los ambientes domésticos. Sólo *T. infestans* se ha domiciliado y es la principal responsable de la transmisión de *T. cruzi* al hombre y animales domésticos, la cual ocurre principalmente en las habitaciones y galerías de las viviendas y en los depósitos o cocinas adyacentes donde suelen dormir perros y gatos. Los focos peridomésticos de *T. infestans* son importantes y frecuentes fuentes de triatominos pero muy raramente estos se hallan infectados por *T. cruzi.*

La otra especie epidemiológicamente importante es *T. guasayana,* considerada por varios autores como el principal substituto potencial de *T. infestans* en la región chaqueña de Argentina, Bolivia, y Paraguay debido a que frecuentemente invade la vivienda humana y se la halla infectada por *T. cruzi* (Wisnivesky-Colli y col., 1993c; Gajate y col., 1996; Noireau y col., 1999b, 2000a; Cecere y col., 1999). *T. guasayana* es un triatomino silvestre que ocupa

una gran variedad de ecotopos naturales y peridomésticos y ha sido crecientemente reportado invadiendo las viviendas (Forattini, 1980; Diotiaiuti y col., 1995; Wisnivesky-Colli y col., 1993c; Noireau y col., 1996). En Santiago del Estero, *T. guasayana* coloniza ecotopos silvestres como bromeliáceas (cuatro especies incluyendo *B. serra*), cactus, ramas, troncos y huecos de árboles (Wisnivesky-Colli y col., 1997, Vezzani y col., 2001; Vázquez-Prokopec y col., 2008), ecotopos peridomiciliarios, especialmente en corrales que incluyen cactus y bromeliáceas en su estructura, donde se alimentan de los animales domésticos (Gajate y col., 1996), e invaden activamente (i.e., adultos voladores) las habitaciones humanas (inclusive se alimentan de humanos) pero no las colonizan (Wisnivesky-Colli y col., 1993c; Gürtler y col., 1999; Canale y col., 2000). Su importancia como vector "puente" entre los ciclos de transmisión silvestre y doméstico se basaría en su abundancia y capacidad para ocupar una amplia diversidad de ecotopos, y en particular, los hábitats "semi-silvestres" (Vázquez-Prokopec y col., 2008): hábitats intermedios entre los ecotopos peridomésticos (i.e., corrales) y los hábitats silvestres en términos de abundancia y tipos de fuente de sangre para *T. guasayana* y otros triatominos. *T. guasayana* fue encontrada en estos hábitats "semi-silvestres" de las comunidades rurales de Santiago del Estero, teniendo una distribución agregada (Wisnivesky-Colli y col., 1997), dependiente del efecto conjunto de la abundancia local de cabras y la densidad espacial de los hábitats semi-silvestres (Vázquez-Prokopec y col., 2008). Las altas tasas de infección con *T. cruzi* detectadas en *T. guasayana* (peri)domésticos en Izozog (Bolivia) apoyan la percepción que se tiene sobre su potencial rol como vector (Noireau y col., 1999b).

3.1.2. Focos de T. infestans *silvestres*

A pesar del notable progreso logrado en el control vectorial de *T. infestans* en diferentes lugares del Cono Sur americano, el Gran Chaco es la región donde el control ha tenido mayores problemas. Uno de los obstáculos para la eliminación de *T. infestans* de esta región aparentemente se debe a la reducida efectividad de los insecticidas piretroides en los hábitats peridomésticos que albergan a los animales domésticos (Gürtler y col., 2004, 2007b; Cecere y col., 2006a; Porcassi y col., 2006). Las reinfestaciones recurrentes luego del rociado con insecticidas piretroides y la ausencia de programas de vigilancia vectorial sostenible resultan en una renovada transmisión de *T. cruzi* 3-5 años después de las campañas de aplicación de insecticidas que abarcan toda la comunidad (Gürtler y col., 2007b).

El papel que cumplen las poblaciones silvestres de *T. infestans* en la recuperación de las poblaciones domésticas o peridomésticas luego de la aplicación de insecticidas no está resuelto, a pesar de ser bien conocidos los focos silvestres de *T. infestans* presentes entre las rocas asociados con roedores (ratones y cuises) y pequeños marsupiales (e.g., *Thylamys elegans*) en los valles andinos de Cochabamba y Sucre en Bolivia (Dujardin y col., 1987; Noireau y col., 2005; Cortez y col., 2006). Hasta los inicios de los 1980s los hallazgos ocasionales de *T. infestans* bajo rocas, en huecos de árboles en pie o caídos, bajo cortezas, en nidos de roedores o aves en el norte de Argentina (Carcavallo y Martínez, 1985; Lent y Wygodzinsky, 1979), en Paraguay (Velazquez y González, 1959) y en Brasil (Barretto y col., 1963) fueron considerados de poca relevancia debido a que eran raros; los ecotopos estaban relativamente cercanos a las construcciones humanas, y las especies de vectores podrían haber sido mal identificadas (Noireau y col., 2005). Un amplio consenso indicaba que en la región del Gran Chaco no había focos silvestres de *T. infestans* (Abalos y Wydgozinsky, 1951; Usinger y col., 1966; Schofield, 1988, 1994; Coura, 2007). Por lo tanto, el status de fuertemente domiciliado que se le asignó a *T. infestans* implicó que podía descartarse que la reinfestación (peri)doméstica pudiera originarse a partir de focos silvestres después de los rociados con insecticidas con poder residual.

Los registros de búsquedas de *T. infestans* silvestres que han sido publicados son muy escasos, probablemente debido a que las publicaciones científicas se hallan sesgadas a los resultados positivos (i.e., encuentros). Sin embargo, a mediados de los 1990s se descubrieron poblaciones silvestres de *T. infestans* en huecos de árboles en el Chaco boliviano (Noireau y col., 1997, 2000ayb). Estos triatominos se diferenciaban de la forma típica de *T. infestans* en que eran mucho más oscuros por lo que fueron llamados ‘dark morphs’ (morfo oscuro o melánico) (ver capítulo IV). Varios métodos corroboraron que los *T. infestans* de fenotipo normal y los melánicos constituían poblaciones distintas y separadas de la misma especie (ver capítulo IV). En cambio, los *T. infestans* silvestres de los valles bolivianos eran indistinguibles de los domésticos locales (Dujardin y col., 1998), y diferían en varios aspectos de los morfos oscuros colectados en el Chaco boliviano. Fuera de Bolivia, recientemente se detectaron *T. infestans* silvestres asociados a matorrales de bromeliáceas terrestres (*Puya sp.*) y roedores infectados con *T. cruzi* (*Octodon degus*, *Phyllotis darwini* y *Rattus rattus*) en sectores suburbanos o rurales (los autores usan una u otra denominación) cercanos a Santiago de Chile (Bacigalupo y col., 2006; Galuppo y col., 2009).

En un área más amplia (650 km^2) que la que originalmente incluía el área de estudio de esta tesis alrededor de Amamá, se observó que luego de un rociado extenso con

insecticidas piretroides de 278 viviendas de varias comunidades rurales por parte del personal de los programas de control vectorial en abril de 2004, se hallaron algunos pocos adultos de *T. infestans* recientemente establecidos en domicilios o peridomicilios, además de colonias muy pequeñas principalmente en hábitats peridomésticos. El origen de estos insectos reinfestantes era desconocido. Dilucidar cuáles podrían ser las posibles fuentes de dichos triatominos es crucial para lograr una eliminación total de *T. infestans* y por lo tanto de la transmisión de *T. cruzi* mediada por ellos.

Uno de los desafíos para lograr un programa de control de vectores exitoso radica en comprender el origen de las reinfestaciones de *T. infestans* y los mecanismos de reestablecimiento de las poblaciones luego de un rociado masivo con insecticida de efecto residual. Para ello y como complemento de estudios de focos residuales (peri)domésticos sería necesario determinar si existen focos silvestres de *T. infestans* y si existe flujo génico entre ellos y el medio doméstico.

3.1.3. Objetivos particulares

Se realizaron búsquedas intensivas de triatominos en hábitats silvestres para:

- identificar a los vectores silvestres de *T. cruzi*.
- hallar evidencias que contribuyan a explicar la aparición de focos domésticos o peridomésticos de *T. infestans* luego del rociado masivo con insecticidas piretroides, y
- dado su inesperado hallazgo, caracterizar los focos silvestres de *T. infestans* en cuanto a el tipo de ecotopo, abundancia, persistencia, etc.

3.1.4. Hipótesis de trabajo

- Basados en hallazgos previos de *T. infestans* silvestres en el Chaco boliviano (Noireau y col., 1997, 2000a) y antes de los informes de su hallazgo en Chile, se especuló que podrían existir focos silvestres de *T. infestans* en el Chaco argentino.
- Dado que existe un ciclo de transmisión silvestre activo (capítulo II) y que se trata del triatomino más abundante en hábitats silvestres en el área de estudio y que ocasionalmente infectado con *T. cruzi* en la zona (Gajate y col., 1996; Cecere y col., 1999; Marcet y col., 2006a), se esperaba que el principal vector del ciclo silvestre de transmisión de *T. cruzi* fuera *T. guasayana* (Wisnivesky-Colli y col., 1997; Schweigmann y col., 1999).

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Área de estudio

El área de estudio abarcó los montes circundantes a los parajes de Amamá, Mercedes, Trinidad, San Luís, Villa Matilde, La Curva y el asentamiento aislado de Lote S, del Departamento Moreno de la provincia de Santiago del Estero. La descripción del área y su historia epidemiológica fue realizada en el capítulo II.

3.2.2. Fechas de campañas

Se realizaron 4 campañas de muestreo intensivo de triatominos en hábitats silvestres en octubre y noviembre de 2005, abril y noviembre-diciembre de 2006. Tres de las 4 campañas fueron realizadas bien entrada la primavera asumiendo que para esa época del año las poblaciones de triatominos ya habrían tenido un reclutamiento de individuos considerable y serían más detectables. Otro motivo por el cual muestrear en esa época fue porque es el momento cuando más se capturan *T. guasayana* y ésta es la especie más abundante en el medio silvestre; por lo tanto se esperaba que hubiera una mayor captura de triatominos y mayor probabilidad de obtener *T. cruzi* de los triatominos silvestres. La campaña realizada en otoño tuvo como objetivo principal el evaluar la persistencia de los focos de triatominos silvestres descubiertos durante las dos campañas anteriores.

3.2.3. Colección de triatominos

Se utilizaron dos métodos: trampas adhesivas con cebo vivo y trampas de luz.

3.2.3.1. Trampas adhesivas con cebo vivo

Las trampas adhesivas con cebo vivo (de aquí en adelante las llamaré ‘trampas adhesivas’, hoy comúnmente denominadas trampas Noireau) fueron utilizadas antiguamente para la captura de triatominos (Carcavallo, 1985; Rabinovich y col., 1976; Tonn, 1976), pero fue sólo hace una década que con las modificaciones pertinentes su uso fue realmente exitoso para la captura de triatominos en el medio silvestre (Noireau y col., 1999a, 2000a). Este sistema de captura ha sido puesto a prueba exitosamente en varios tipos de ecosistemas (chaco, catinga, cuenca amazónica, y bosques húmedos subtropicales) y en distintos tipos de hábitats (huecos de árboles, copas de palmeras, entre rocas y rajaduras en riscos). Tiene la

ventaja de evitar una meticulosa disección del hábitat, lo cual a veces es muy dificultoso o imposible (e.g., árboles de madera dura). A diferencia de la trampa de luz que se usa en lugares abiertos, la trampa adhesiva con cebo vivo no depende de la visibilidad de la trampa.

El sistema consiste en un pequeño frasco de plástico de unos 250 cm^3 con una tapa a rosca que tiene una abertura tapada con una malla de alambre galvanizado de cuadrícula de 1 mm (malla mosquitero), el cual permite el intercambio gaseoso con el exterior, y está parcialmente cubierta con una cinta adhesiva doble faz (Plasto®, Brasil) (Figura 3.1). La superficie del frasco es lijada suavemente para que su superficie sea rugosa y los triatominos puedan trepar por ella hasta la cinta adhesiva donde quedan pegados. Además, al frasco se le realizó un pequeño orificio inferior para drenaje en caso que le entrase agua de lluvia. El frasco contiene un ratón de laboratorio como fuente de atractantes (olores, CO_2 y calor) junto con una pequeña cantidad de viruta de madera como "cama" y comida (un pellet de alimento balanceado y un trozo de manzana como fuente de agua y azúcares). Cuando la trampa es colocada en forma colgante (por ejemplo, en huecos profundos) se le agrega un hilo que sirve para sostenerla a la altura adecuada. Se contó con dos grupos de ratones para que cada ratón solo pasara una noche por medio dentro de la trampa.

Figura 3.1. Trampa adhesiva con cebo vivo (trampa Noireau) con un macho de *T. infestans* capturado en 2005.

En esta tesis me referiré a los lugares donde eran puestas las trampas como ‘hábitat’ siendo éste el ambiente circundante, es decir su entorno (e.g., bosque, desmonte, pastizal); a ‘ecotopo’ como el tipo y característica del elemento de la naturaleza (e.g., árbol en pie, árbol caído, cactácea); y a ‘sitio’ como al lugar particular donde se puso la trampa el cual llevaba un número de registro (e.g., hueco del árbol con la trampa adhesiva N°001).

El mayor esfuerzo de muestreo se realizó alejado de las viviendas en secciones del bosque que mostraban diferentes niveles de disturbio, como bosque (o monte) secundario con distintos tipos de degradación o explotación, desmontes recientes, el ecotono entre los anteriores, y en áreas de desmonte selectivo (i.e., de arbustos y algunas especies de árboles para sembrar pasturas para el ganado) (Figura 3.2). El grado de explotación del monte se ve reflejado en la presencia de diferentes especies de árboles. Cuanto más degradado esté el monte hay menos especies leñosas, de menor tamaño y valor económico. Por ejemplo, un monte que mantiene quebrachos colorados altos con los estratos más bajos en buen estado se considera menos degradado que otro en el cual solo quedan árboles de menor porte y valor económico como mistoles, guayacanes, etc. Estas diferencias están bien marcadas en la zona y son producto de la historia de explotación de cada lote o parcela en particular. En esos hábitats, las trampas fueron colocadas en distintos tipos de ecotopos: en huecos de árboles en pie o caídos (vivos o muertos), o de troncos en el suelo, o huecos de tocones (parte inferior de los árboles que queda enraizada cuando es cortado con motosierra), cactus (quimiles: *Opuntia quimilo* y tunas: *Opuntia ficus-indica*) en pie o caídos, vivos o secos, y entre acumulaciones de ramas o bromeliáceas terrestres (‘chaguares’: *Bromelia serra* y *Bromelia hieronymi*) (Figura 3.3). Algunos sitios (i.e., ecotopos grandes o con varios huecos) fueron examinados con dos o tres trampas adhesivas.

Figura 3.2. Distintos tipos de hábitats muestreados: A) bosque secundario, B) desmonte reciente, C) ecotono, D) desmonte selectivo para pasturas.

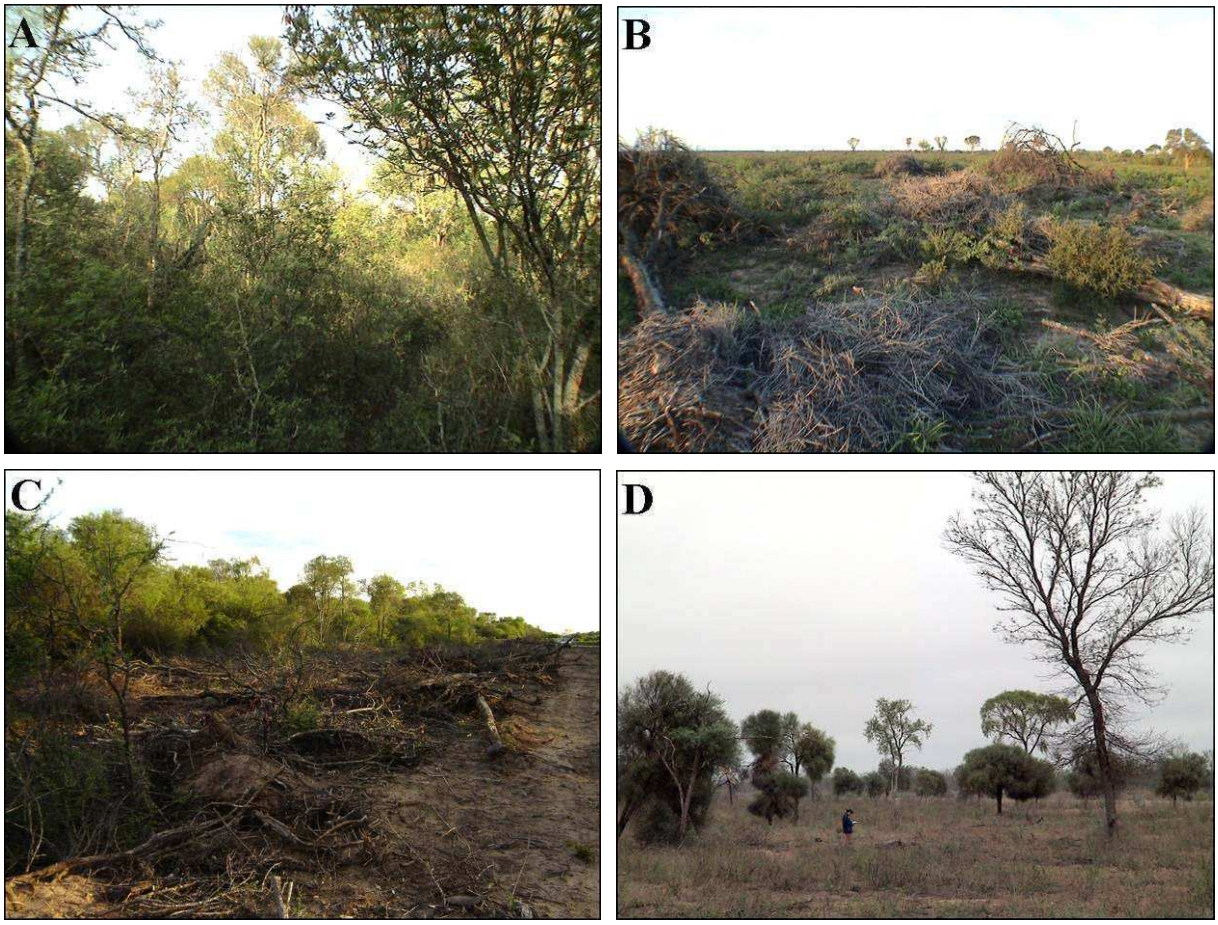


Figura 3.3. Distintos tipos de ecotopos muestreados: A) árbol en pie, B) cactus seco en suelo, C) bromeliáceas, D) ramas amontonadas, E) tocón, F) tronco hueco en suelo.

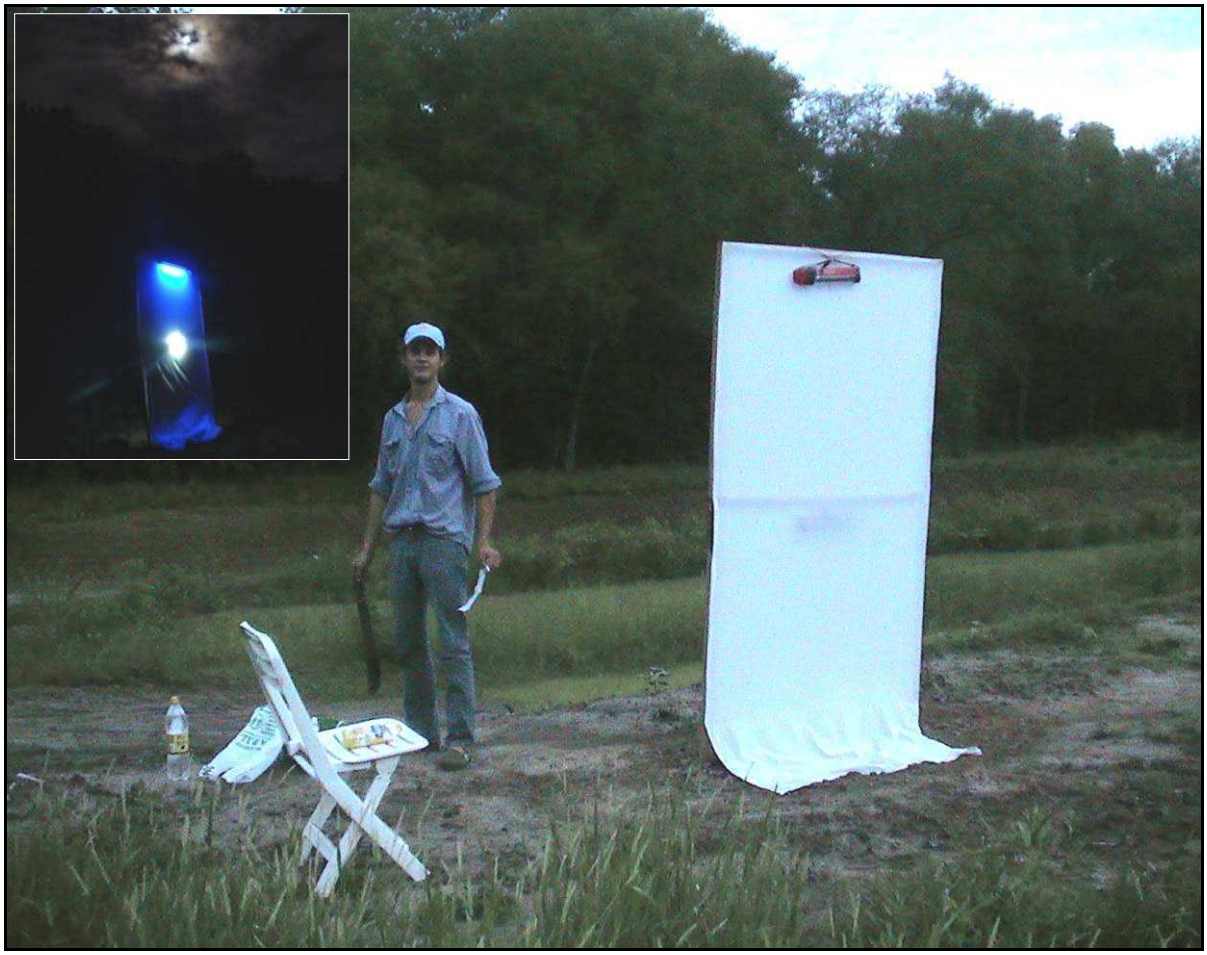
Las trampas fueron colocadas aproximadamente entre las 17-18 hs y retiradas antes de las 10 hs de la mañana siguiente, para evitar el calor del mediodía y preservar a los ratones en las mejores condiciones posibles. Salvo contadas ocasiones (e.g., en lugares que fueron positivos o tardes de mucho frío), las trampas eran colocadas en un mismo sitio solo una noche durante la misma campaña. Se registró la localización geográfica de cada trampa con un GPS (Garmin, Etrex Legend C) (Figura 3.7). Con estos datos se realizó un mapa GIS con el programa ArcGis9 (ESRI) de los sitios de captura identificados sobre una imagen satelital Ikonos (Space Imaging, Atlanta, GA) del área de estudio tomada en octubre de 2002 (resolución espacial de 1 m para la imagen pancromática y 4 m para la multi-espectral).

Durante la campaña de abril de 2006 se repitieron los mismos sitios de muestreo con trampas adhesivas que en las dos campañas anteriores (octubre y noviembre de 2005), priorizando los lugares que habían tenido alguna captura de triatominos, con el objetivo de observar si había persistencia de focos y si se originaban otros.

3.2.3.2. Trampas de luz

Las trampas de luz han sido utilizadas exitosamente por varios autores para la captura de triatominos tanto silvestres como domésticos (Tonn y col., 1978; Wisnivesky-Colli y col., 1993c; Schweigmann y col., 1988; Noireau y col., 1999b; Vázquez-Prokopec y col., 2004, 2006). Las trampas aquí utilizadas constaron de una tela blanca montada sobre un marco de madera de 1,25 x 2,50 m. enterrado verticalmente unos 50 cm., con una linterna portátil (Energizer multifunction lantern, Mod. Nº 9450) conteniendo un tubo de luz negra de 6W (Satellite, F6T5BLB) o un tubo fluorescente de 12 W alimentado por la batería del vehículo utilizado (Figura 3.4). Las trampas fueron distribuidas en las afueras de los parajes, alejadas de las viviendas y donde existía un frente de bosque amplio, dependiendo de las posibilidades de acceso.

Figura 3.4. Trampa de luz operada por poblador de la zona de estudio. Recuadro: vista sin luz solar.



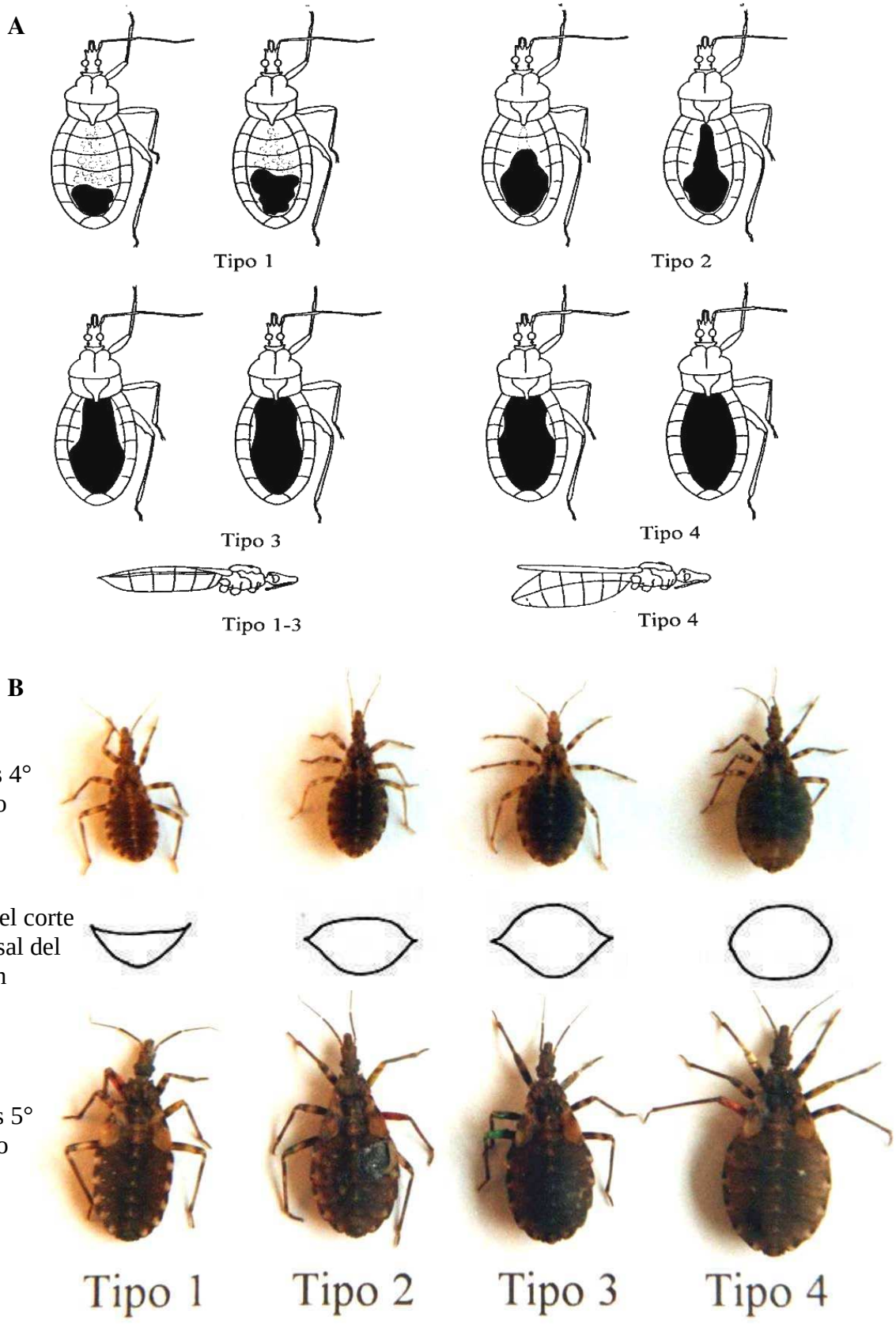
Para aumentar el esfuerzo de captura se contó con la ayuda de pobladores de la zona que ya tenían experiencia en las capturas con trampa de luz en estudios previos (i.e., Vázquez-Prokopec y col., 2004). A cada poblador que quedaba a cargo de una trampa de luz se lo proveyó de guantes de látex descartables, una linterna manual de luz blanca, un reloj pulsera, un lápiz y una planilla simple donde anotar las capturas. El operador de la trampa debía colectar todo triatomino (o insecto parecido) en o alrededor de la trampa guardándolos individualmente en un pequeño recipiente plástico acondicionado con papel y etiquetado con la inicial del nombre del operador de la trampa y el número de captura, y anotar en la planilla el número de recipiente y la hora y lugar de captura (tela, suelo, sobre él) de cada triatomino. En general, las trampas de luz se operaron de 19:45 (15 minutos antes del ocaso) a 22-23 hs. debido a que la actividad del vuelo de *T. infestans* alcanza su máximo durante la primera hora post-atardecer (Lehane y Schofield, 1981, 1982; Schofield y col., 1992; Vázquez-Prokopec y col., 2004). Solo se realizaron capturas con trampa de luz las noches con temperaturas

superiores a 20ºC, sin lluvias y con nada o poco de viento debido a que la iniciación del vuelo de *T. infestans* se asocia positivamente con temperaturas por encima de 23ºC (Lehane y col., 1992, Gurevitz y col., 2007) y negativamente con la velocidad del viento (Vázquez-Prokopec y col., 2004, 2006). Debido a estos factores las capturas con trampas de luz solo fueron realizadas en las campañas desarrolladas durante la primavera dado que en abril de 2006 las condiciones de temperatura y viento no fueron las adecuadas. Cada trampa de luz se ubicó de manera tal que permitía la máxima visibilidad desde el bosque que la rodeaba a no más de 100 m de él; al igual que con las trampas adhesivas, fue registrada su localización geográfica con un GPS (Figura 3.8).

3.2.4. Procesamiento de los triatominos

Durante la mañana siguiente a la noche de captura, todos los triatominos colectados se identificaron por especie y estadio siguiendo las claves de Lent y Wygodzinsky (1979) y Brewer y Garay (1951). Salvo en la campaña de noviembre-diciembre de 2006, cada adulto y ninfa de quinto o cuarto estadio fueron pesados individualmente en una balanza analítica (OHAUS, precisión: 0,1 mg) y se los midió desde la punta del clípeo al extremo del abdomen con un calibre vernier (precisión: 0,02 mm). El estado nutricional cualitativo de los triatominos adultos se estimo a partir del contenido sanguíneo el cual se determinó mediante la observación directa del volumen del contenido sanguíneo y forma del promesenterón, observados por transparencia contra una linterna (Montenegro, 1983), y su extensión para las ninfas de cuarto y quinto estadio propuesta por Ceballos y colaboradores (2005). Los triatominos se clasificaron en cuatro tipos: 1) ayunados; 2) escasa reserva sanguínea; 3) buena reserva sanguínea; 4) gran reserva sanguínea (Figura 3.5). El estado nutricional cuantitativo se determinó mediante la razón peso-longitud (P/L) (Schofield, 1980 a, b).

Figura 3.5. Categorías de estado nutricional cualitativo para los adultos (A) de *T. infestans* según Montenegro (1983) y para ninfas (B) de cuarto y quinto estadio según Ceballos y col. (2005). Categorías: 1) ayunados; 2) escasa reserva sanguínea; 3) buena reserva sanguínea; 4) gran reserva sanguínea.



3.2.5. Diagnóstico de infección por T. cruzi

3.2.5.1. Microscopía óptica (M.O.)

Todas las ninfas de tercer a quinto estadio y los adultos vivos o moribundos fueron examinados para determinar su infección por *T. cruzi* mediante la observación de sus heces mezcladas con solución fisiológica al microscopio a 400×.

3.2.5.2. Diagnóstico molecular (PCR)

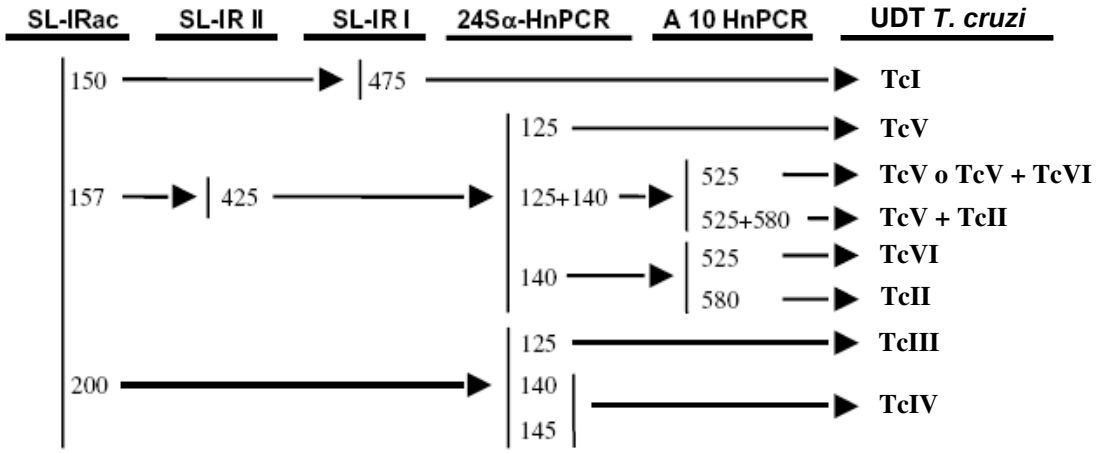
A los triatominos negativos por M.O. (*T. infestans* y *T. guasayana*) se les realizó un diagnóstico de infección con *T. cruzi* por kADN-PCR (kADN: ADN del kinetoplasto o "kinetoplastid DNA"), reacción que amplifica un fragmento de 330 pares de bases (pb) de ADN del minicírculo del kinetoplasto usando cebadores y condiciones de ciclado publicadas (Schijman y col., 2003; Burgos y col., 2005). Para extracción de ADN se utilizó la técnica con ADNzol siguiendo el protocolo descripto por Marcet y colaboradores (2006a). Cada ronda de extracción y de la PCR siguiente incluía como control positivo una muestra de algún triatomino de xenodiagnóstico de perro infectado por *T. cruzi* y de extracto de ADN, respectivamente, y agua destilada estéril en vez de la muestra de triatomino o del ADN como control negativo. Las alícuotas de 12 µl de los productos de la PCR fueron visualizadas bajo luz U.V. luego de las corridas de electroforesis en geles de agarosa al 2% conteniendo Gel-red® (Biotium).

Dado que la técnica de kADN es muy sensible a contaminaciones, las muestras positivas por esa técnica (i.e., el extracto de ADN utilizado para kADN) fueron confirmadas con una PCR de ADN satelital. Esta PCR amplifica un fragmento de 166 pb de ADN nuclear usando cebadores y condiciones de ciclado ya publicadas (da Silveira, 2000).

3.2.6. Identificación de las UDTs de T. cruzi

Las UDTs de *T. cruzi* fueron identificados a partir de las muestras de extracción de los triatominos positivos por PCR mediante estrategias de PCR dirigidas a la secuencia líder (o mini-exón; i.e., SL-IRac, SL-IRII, SL-IRI), 18s rADN, 24s alfa rADN, y el marcador genómico A10 con la incorporación de la enzima polimerasa Taq Platinum (Invitrogen) como fue descripto por Burgos y colaboradores (2007) (Figura 3.6).

Figura 3.6. Protocolo sugerido por Burgos y colaboradores (2007) para la identificación de las diferentes UDTs de *T. cruzi.*

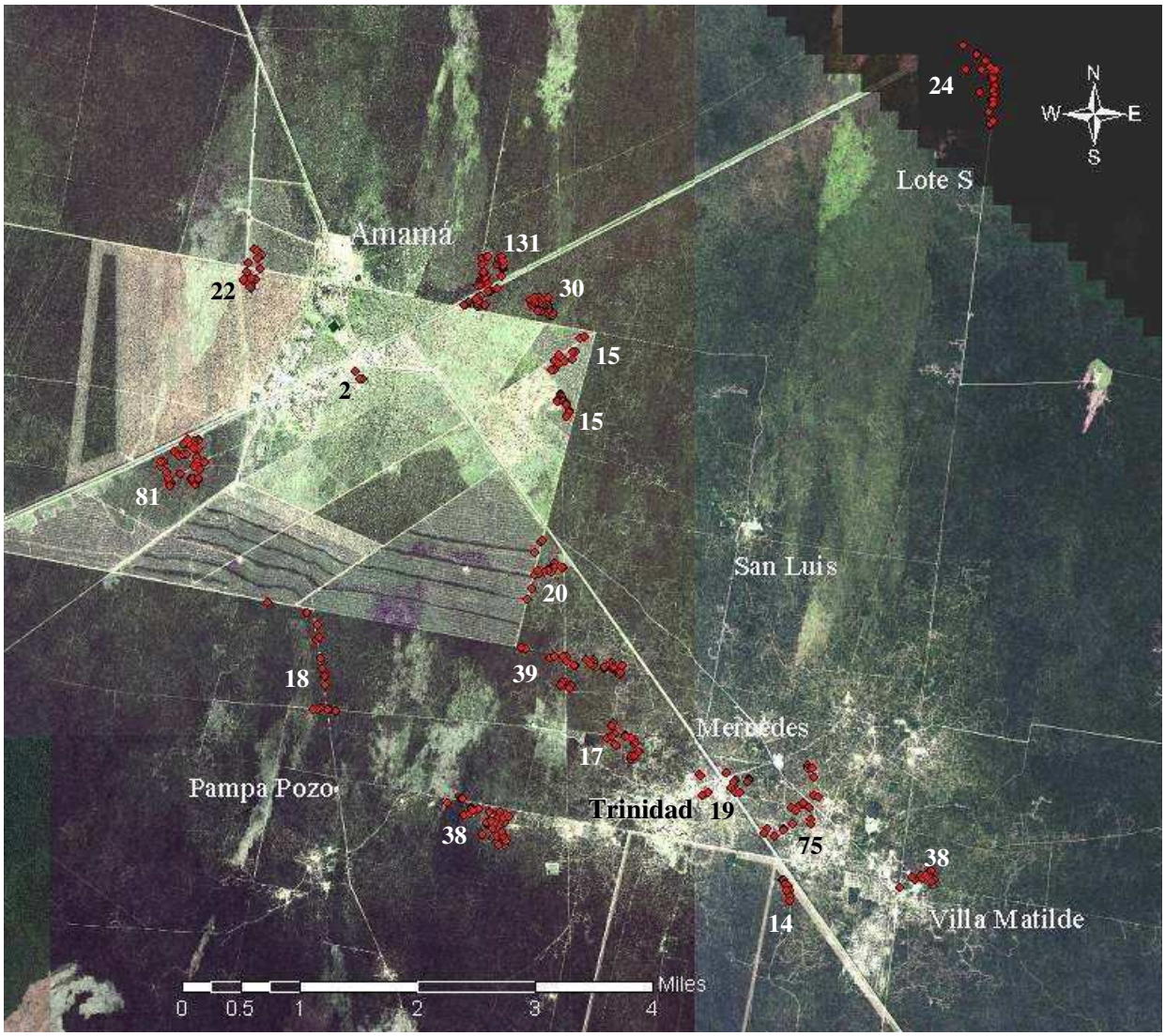


3.3. RESULTADOS

3.3.1. Esfuerzo de captura

En total se empleó un esfuerzo de captura de 598 trampas adhesivas-noche, de las cuales un 74% fueron realizadas durante la primavera (Tabla 3.1) cuando las temperaturas promedio diarias estuvieron entre 23-26°C. En la campaña desarrollada en otoño la temperatura promedio fue menor a 20°C. La cantidad de trampas colocadas en un día varió de 6 a 43 trampas dependiendo del tiempo (i.e., lluvias), la accesibilidad de los sitios y la coordinación con otras actividades desarrolladas el mismo día (i.e., trampas de luz, evaluación entomológica, laboratorio, etc.) en unas 15 zonas de muestreo (Figura 3.7).

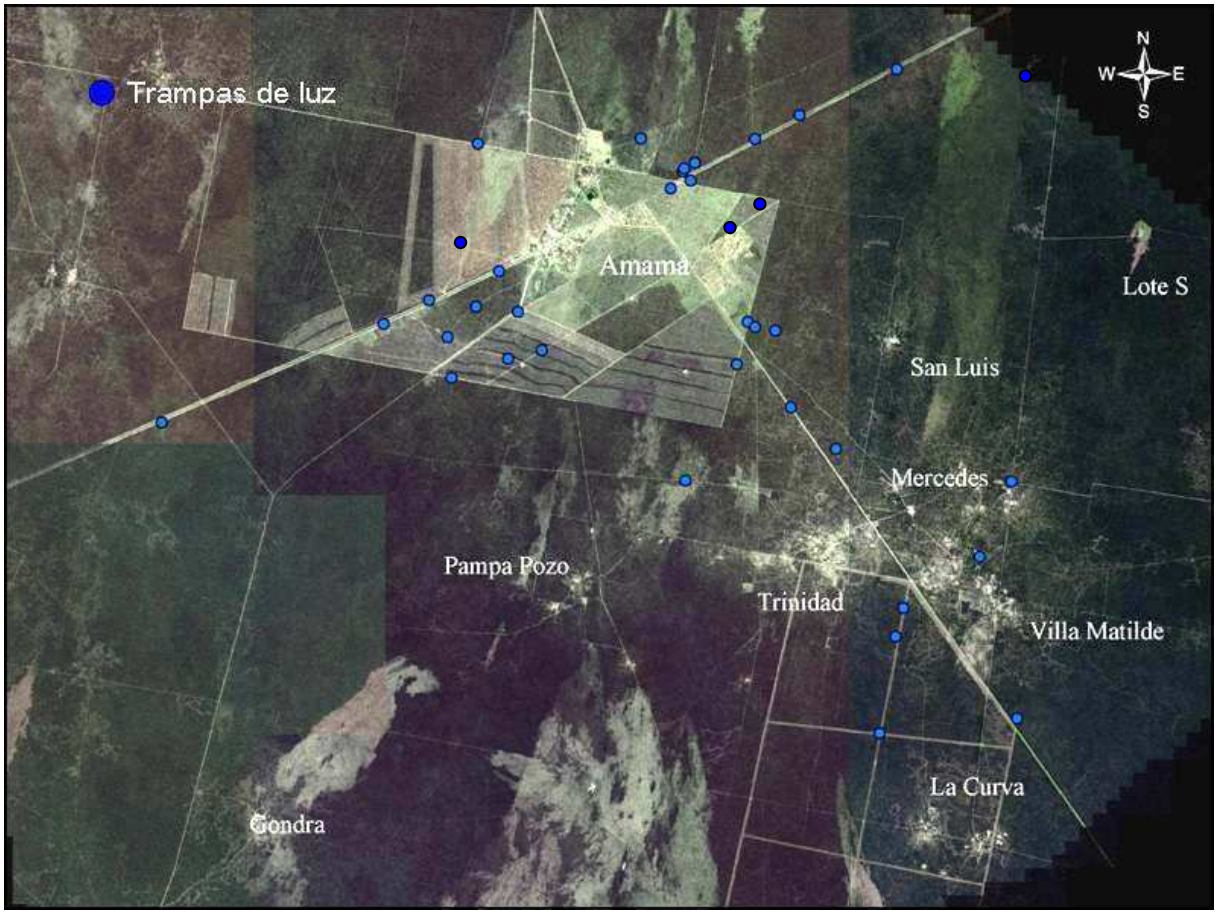
Figura 3.7. Mapa del área de estudio mostrando los sitios (puntos rojos) donde se colocaron las trampas adhesivas en octubre y noviembre de 2005, abril y noviembre de 2006, sobre una imagen Ikonos (Space Imaging, Atlanta, GA) de octubre de 2002. El número junto a los grupos de puntos rojos es la cantidad de trampas adhesivas puestas en esa zona.



En la segunda campaña (noviembre 2005) sólo se repitió 1 sitio de muestreo de la primera (octubre 2005). Durante la campaña de abril de 2006 el 98% de los sitios muestreados (128/130) ya habían sido muestreados anteriormente. Todos los sitios de muestreo de la última campaña (noviembre 2006) fueron sitios que no lo habían sido previamente.

Con respecto a las trampas de luz, sólo se repitieron cinco sitios de muestreo entre las campañas de octubre y noviembre de 2005. En total se realizaron 41 trampas-noche (Tabla 3.2) en 36 sitios diferentes (Figura 3.8).

Figura 3.8. Mapa del área de estudio mostrando los sitios (puntos azules) donde se colocaron las trampas de luz en octubre y noviembre de 2005, y noviembre de 2006, sobre una imagen Ikonos (Space Imaging, Atlanta, GA) de octubre de 2002.



3.3.2. Especies, cantidad y estadios de triatominos capturados

En total se capturaron 176 triatominos en hábitats silvestres, 24 *T. infestans*, 140 *T. guasayana*, 4 *T. garciabesi* (complejo *sordida*), 1 *T. platensis*, y 6 ninfas de primero y 1 de segundo estadio sin identificación. Todos los *T. infestans* fueron capturados con trampas adhesivas, mientras que la mayoría de los *T. guasayana* (110) fueron capturados con trampas de luz, 28 capturadas con trampas adhesivas, y 2 manualmente durante la colocación de las anteriores; 3 *T. garciabesi* en las trampas adhesivas y 1 en trampa de luz, y el *T. platensis* en una trampa de luz (Tablas 3.1 y 3.2).

Tabla 3.1. Esfuerzo de captura con trampas adhesivas con cebo vivo por fechas en que fue realizado el muestreo y especies de los triatominos capturados.

Fecha	N° de trampas-noche	Nº trampas positivas				Nº de triatominos colectados			
		T. infestans	*T. guasayana*	*Triatoma sp.*	Total	*T. infestans*	*T. guasayana*	*Triatoma sp.*	Total
Oct-05	145	4	2	0	6	6	2	0	8
Nov-05	129	3	3*	3	9	18	6	7	31
Abr-06	155	0	13	0	13	0	20	0	20
Nov-06	169	0	0	2	2	0	0	3[#]	3
Total	598	7	18	5	30	24	28	10	62

*: de un sitio repetido de octubre de 2005.
[#]: *Triatoma garciabesi* (complejo *sordida*).

Tabla 3.2. Esfuerzo de captura por trampa de luz por fechas en que fue realizado el muestreo.

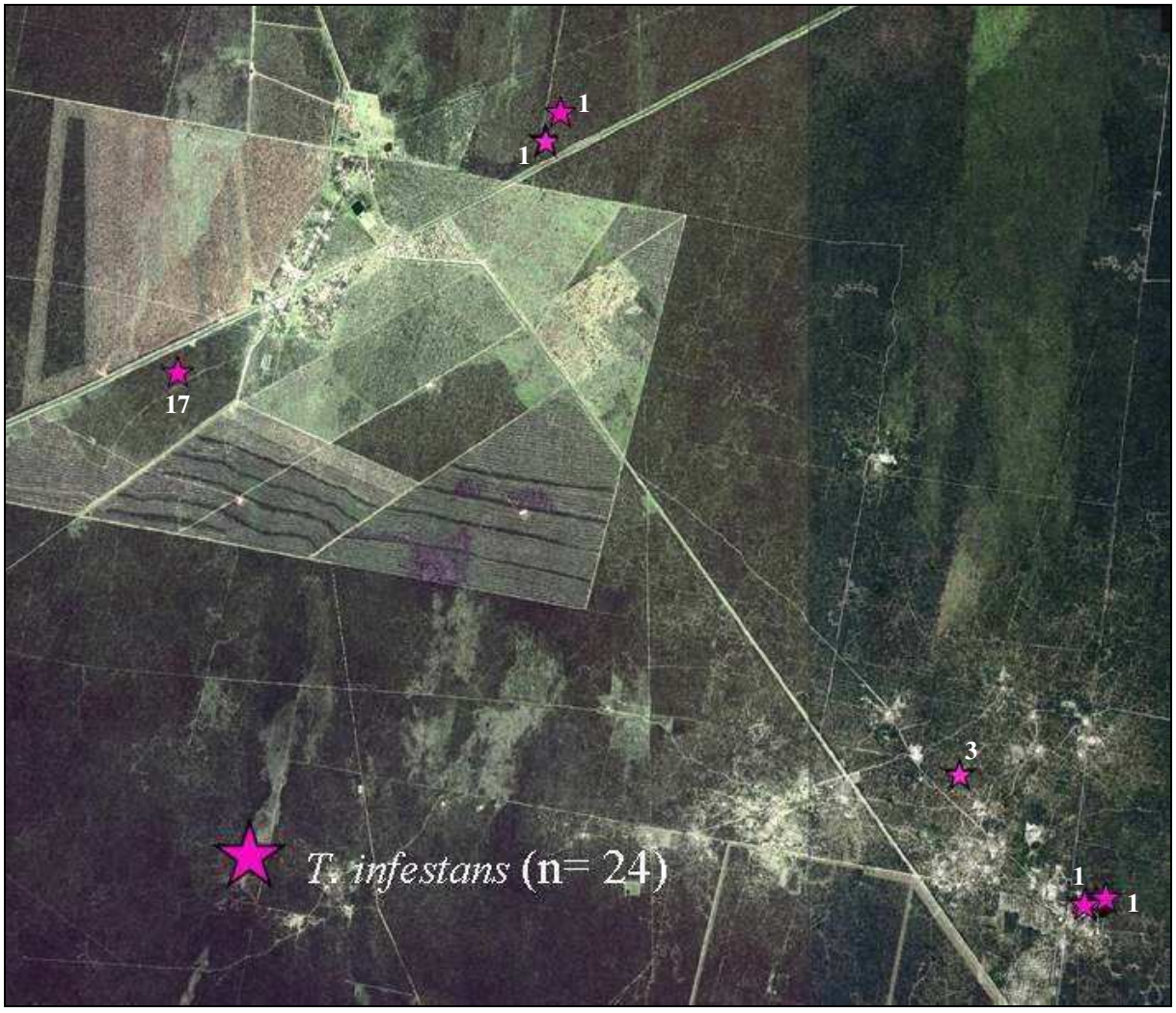
Fecha	N° de trampas-noche	N° trampas positivas	N° *T. guasayana* colectados	Otras especies	Total triatominos
Oct-05	18	13	70	1[#]	71
Nov-05	19	13	35	1[&]	36
Nov-06	4	2	5	0	5
Total	41	28	110	2	112

[#]: *Triatoma garciabesi* (complejo *sordida*).
[&]: *Triatoma platensis*.

Con trampas adhesivas hubo un total de 25 sitios positivos, de los cuales 4 fueron positivos para *T. infestans* (Figura 3.9), 15 para *T. guasayana*, 2 para *T. garciabesi*, 2 para *T. infestans* y *T. guasayana*, y 2 con ninfas pequeñas que no se pudieron identificar al nivel de especie. Con respecto a la estación de captura, fue notable el aumento de capturas de ninfas (Tabla 3.1) y sitios (Tabla 3.3) con *T. guasayana* mediante trampas adhesivas en el otoño (abril de 2006).

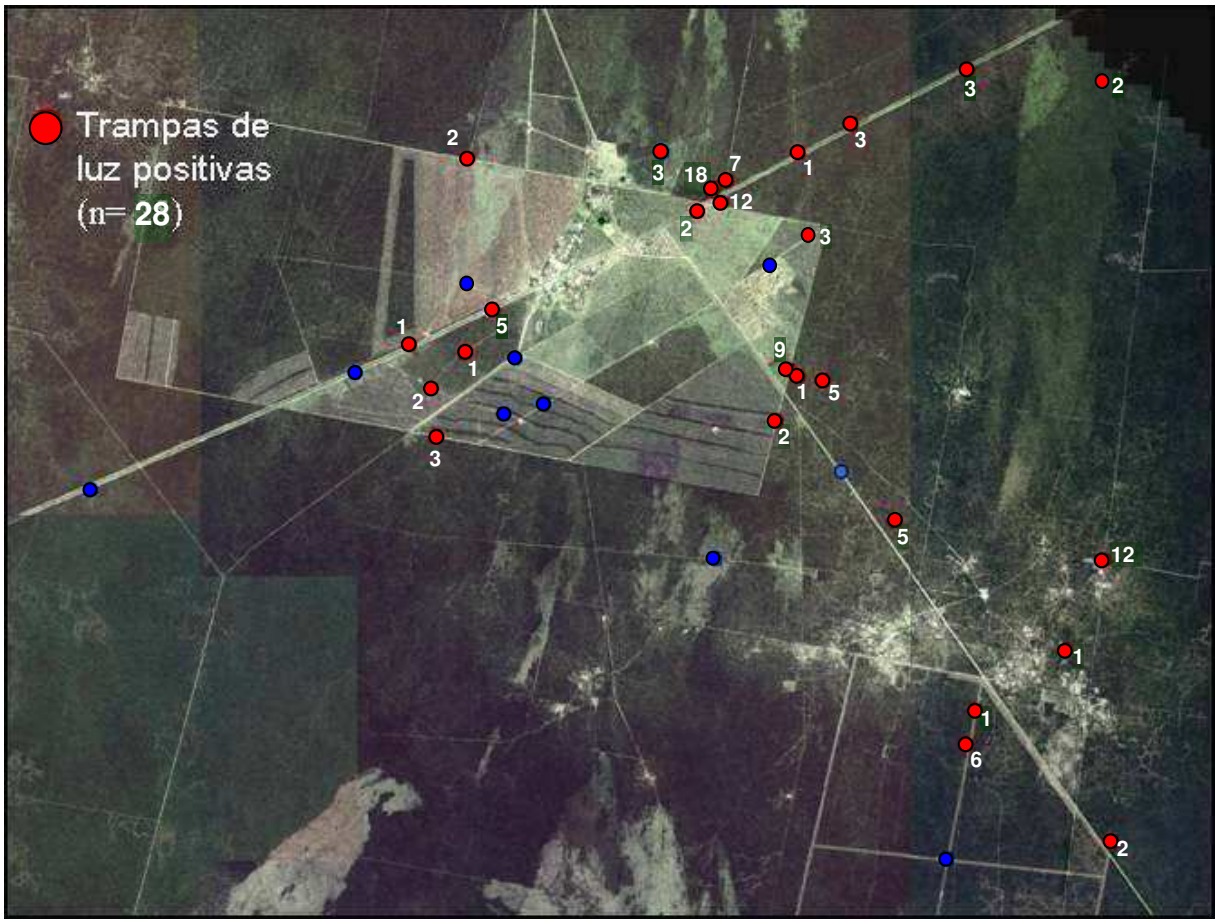
Los focos silvestres de *T. infestans* estuvieron localizados entre 110 a 2.300 m de los sitios domésticos o peridomésticos infestados más cercanos detectados durante los 18 meses previos, después del rociado con insecticidas residuales con cobertura total de las comunidades cercanas. Asimismo, la distancia desde las trampas adhesivas positivas para *T. infestans* a la casa más cercana fue de 125 a 1.900 m.

Figura 3.9. Mapa del área de estudio mostrando los sitios (estrellas) donde se capturaron los *T. infestans* en el medio silvestre mediante trampas adhesivas con cebo vivo en octubre y noviembre de 2005, sobre una imagen Ikonos (Space Imaging, Atlanta, GA) de octubre de 2002. El número junto a las estrellas color rosas es el número de *T. infestans* capturados en ese sitio.



Con trampa de luz se capturaron *T. guasayana* en 27 sitios diferentes (Figura 3.10); en uno de ellos también se capturó *T. garciabesi*, y el *T. platensis* se capturó en un sitio donde no se capturó ninguna otra especie. El mes con mayor captura (70) e índice de esfuerzo de captura (3,9 triatominos/trampa-noche) fue octubre (Tabla 3.2), las cuales se realizaron en 13 sitios diferentes.

Figura 3.10. Mapa del área de estudio mostrando los sitios (puntos rojos) donde se capturaron triatominos en el medio silvestre mediante trampas de luz en octubre y noviembre de 2005, y noviembre de 2006, sobre una imagen Ikonos (Space Imaging, Atlanta, GA) de octubre de 2002. Los números junto a los puntos rojos son las capturas para ese sitio.



Con respecto a los estadios, las trampas adhesivas capturaron mayormente (97%) ninfas. Los *T. infestans* capturados fueron: 1 macho, 1 ninfa de 5°, 5 ninfas de 4°, 3 ninfas de 3°, 2 ninfas de 2° y 12 ninfas de 1° estadio. Los *T. guasayana* fueron: 1 macho, 17 ninfas de 5°, 2 ninfas de 4°, 2 ninfas de 3°, 3 ninfas de 2° y 3 ninfas de 1° estadio. Los *T. garciabesi* (complejo *sordida*) fueron: 2 ninfas de 5° y 1 ninfa de 4° estadio.

Entre todos los sitios de captura de *T. infestans*, 6 albergaron colonias ubicadas en 4 áreas de muestreo diferentes separadas 2-11,5 km entre sí. Dichas colonias incluyeron 23 ninfas y 1 macho, de las cuales en una se capturó 1 macho (octubre 2005) y 16 ninfas (noviembre 2005); en otra 3 ninfas, y en las otras cuatro colonias solo una ninfa en cada una.

Dado que generalmente a las trampas de luz arriban insectos voladores, el total de las capturas fueron adultos. *T. guasayana*, la especie mayoritariamente capturada, tuvo una razón

de sexos machos:hembra de 1:2,2. Los especímenes de las otras dos especies capturadas fueron una hembra de *T. garciabesi* y un macho de *T. platensis*.

3.3.3. Co-ocurrencia de especies de triatominos

La prevalencia general de sitios positivos por algún triatomino fue del 6% (25/418), con solo un sitio con captura de dos especies de triatominos (*T. infestans* y *T. guasayana*) durante la misma campaña (y misma noche) y otro en diferentes campañas (*T. infestans* en octubre de 2005 y *T. guasayana* en abril de 2006). De los 23 sitios infestados con una sola especie, 15 estaban infestados con *T. guasayana*, 4 con *T. infestans*, 2 con *T. garciabesi* (complejo sordida), y 2 con *Triatoma sp* (ninfas de 1° y 2° estadio) (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Número de sitios infestados con *T. infestans* y/o *T. guasayana* por campaña.

	Sitios *T. infestans* / *T. guasayana*				
Fecha	+ / +	+ / -	- / +	- / -	Sitios totales examinados
Oct-05	0	4	2	133	139
Nov-05	1	2	2	119	125
Abr-06	0	0	13	117	130
Nov-06	0	0	0	153	153
Todas juntas*	2	4	15	397	418

+: presencia, -: ausencia. *: No incluye sitios re-examinados (n= 129).

3.3.4. Estado nutricional de los triatominos capturados

Los triatominos capturados con trampas adhesivas en general se encontraban con muy poco o ningún contenido sanguíneo estomacal; de los 36 especímenes examinados, 22 clasificaban como ayunados y 12 con escasa reserva alimenticia. Al comparar el estado nutricional cuantitativo (i.e., medido por la relación peso-longitud, mg/mm) de los especímenes capturados en el medio silvestre con los capturados en cuatro mediciones a lo largo de un año en el peridomicilio del mismo área por Ceballos (2002 y datos no publicados) se observa que, comparado por especie y estadio, la razón peso-longitud (P/L) de todos los triatominos silvestres está por debajo del promedio (o la mediana para las ninfas) de la P/L de los triatominos peridomésticos (Tabla 3.4). El *T. infestans* silvestre macho y la ninfa de 5°

estadio tuvieron un P/L de 5 mg/mm mientras que el promedio de los machos capturados en corrales de cabras y de cerdos (ecotopos donde los triatominos peridomésticos tienen menor estado nutricional) varió entre las cuatro mediciones 7,7-10,8 mg/mm y la mediana de las ninfas de 5° estuvo entre 7,9-15,8 mg/mm; la mediana del P/L de las ninfas silvestres de 4° estadio fue de 2,4 mg/mm, mientras que las de las peridomésticas varió entre 1,6-6,5 mg/mm (mediana = 3,3 mg/mm) (Prueba de Kruskal-Wallis: $H_{(GL=2,\ N=88)}= 3,15$, $P = 0,076$). Con respecto a los *T. guasayana* capturados con trampas adhesivas, las ninfas silvestres de 5° estadio tuvieron una mediana de P/L significativamente menor que las ninfas peridomésticas (4,6 y 8,7 mg/mm respectivamente; Prueba de Kruskal-Wallis: $H_{(GL=2,\ N=81)}= 26,28$, $P = 0,0001$); las dos ninfas silvestres de 4° estadio tuvieron P/L (i.e., 1,4 y 3,2 mg/mm) dentro del rango (0,5-6,8 mg/mm) de lo observado en los triatominos capturados en los peridomicilios (mediana = 2,7 mg/mm), respectivamente. Con respecto a los *T. guasayana* adultos, todos menos un macho llegaron volando a las trampas de luz y su contenido estomacal observado por transparencia fue nulo o casi nulo. Los machos silvestres presentaron una razón de P/L media (2,9 mg/mm) significativamente menor que los peridomésticos (5,1 mg/mm) (Prueba de $t_{(GL=43,\ N=45)} = 7,64$, $P < 0,0001$). Lo mismo sucedió con las hembras de *T. guasayana*, siendo una razón P/L media de 3,4 mg/mm para las silvestres y de 8,2 mg/mm para las peridomésticas (Prueba de $t_{(GL=80,\ N=82)} = 12,14$, $P < 0,0001$).

Tabla 3.4. Número (n) de *T. infestans* y *T. guasayana* evaluados, razón peso-longitud (P/L) promedio de los adultos y mediana de las ninfas grandes y rango de P/L por tipo de ambiente. Datos de peridomicilio tomados de Ceballos (2002 y datos no publicados), Amamá, Trinidad y Mercedes, octubre 2000, febrero, mayo y agosto 2001.

		T. infestans				*T. guasayana*			
Ambiente	Estadio	n	P/L	Min.	Máx.	n	P/L	Min.	Máx.
Silvestre									
	Macho	1	4,99	-	-	31	2,86	1,88	4,21
	Hembra	-	-	-	-	72	3,38	2,19	9,04
	Ninfa 5°	1	5,01	-	-	17	4,58	2,24	8,52
	Ninfa 4°	5	2,37	1,92	3,06	2	2,31	1,40	3,22
Peridoméstico[#]									
	Macho	365	9,60	2,91	16,57	14	5,10	3,10	9,47
	Hembra	184	11,49	4,80	26,50	10	8,22	5,08	12,64
	Ninfa 5°	162	8,70	1,90	20,23	64	8,74	2,55	20,65
	Ninfa 4°	83	3,31	1,19	10,22	13	3,13	0,53	6,76

[#]: para *T. infestans* solo datos de corrales de cabras y cerdos.

3.3.5. Ambientes y ecotopos infestados con triatominos

Las capturas de triatominos ocurrieron en diferentes tipos de ambientes, principalmente en áreas de desmonte selectivo con 11 sitios positivos y 40 triatominos capturados entre todas las fechas. Dos tercios de los *T. infestans* y los *T. guasayana* fueron capturados en zonas de desmonte selectivo. Las demás capturas se dieron en su mayoría en el monte secundario con distintos grados de explotación (Tabla 3.5).

Tabla 3.5. Número de triatominos y sitios positivos mediante trampas adhesivas con cebo vivo por tipo de ambiente y especie de triatomino. Amamá y comunidades vecinas, octubre y noviembre de 2005, abril y noviembre-diciembre de 2006.

	N° de triatominos (N° sitios)				
Tipo de ambiente	*T. infestans*	*T. guasayana*	*T. garciabesi*	*Triatoma sp.*	Total
Desmonte selectivo	17 (1)	18 (8)	0	5 (2)	40 (11)
Monte secundario (pocos árboles altos)	5 (3)	3 (2)	0	0	8 (5)
Monte secundario (sólo árboles medianos)	2 (2)	6 (6)	0	2 (1)	10 (9)
Monte secundario en comunidades	0	1 (1)	0	0	1 (1)
Desmonte activo (con árboles altos)	0	0	2 (1)	0	2 (1)
Desmonte activo (pocos árboles altos)	0	0	1 (1)	0	1 (1)
Total	24 (6)	28 (17)	3 (2)	7 (3)	62 (25*)

*: 2 sitios con más de una especie de triatominos.

Los árboles caídos fueron el ecotopo muestreado con más captura de triatominos (47% de las capturas), seguido por los troncos en el suelo (32%). Teniendo en cuenta el índice de captura, los árboles caídos fueron el ecotopo con mayor captura tanto por sitio examinado (1,21 triatomino/sitio examinado) como por el número de trampas utilizadas (0,97 triatomino/trampas-noche) (Tabla 3.6). Particularmente para *T. infestans*, el mayor número de especímenes fue capturados en un solo árbol caído (71% de las capturas). Este tipo de ecotopo también fue el que mostró mayores índices de captura (0,71 triatomino/sitio examinado o 0,57 triatomino/trampas-noche) pero no hubo diferencias significativas con los otros ecotopos al comparar sitios positivos en función de los examinados (Prueba de Fisher, $P = 0,3$). Los *T. guasayana* fueron más abundantes en los troncos en el suelo (50% de las capturas) y en los árboles caídos (32%) que en el resto de los ecotopos, pero si bien los índices de captura fueron mayores para los árboles caídos (0,38 triatomino/sitio examinado o 0,30 triatomino/trampas-noche) el porcentaje de sitios infestados en relación a los examinados no fueron significativamente diferentes entre esos ecotopos (Prueba de Fisher, $P = 0,64$) (Tabla 3.6).

De las 14 plantas que se pudo identificar la especie y que tenían triatominos, 6 eran quebrachos colorados (*Sch. lorentzii*), 5 mistoles (*Z. mistol*), 3 quimiles (*Opuntia sp.*). En 3 quebrachos colorados y 2 mistoles se capturaron *T. infestans*; en 2 quebrachos colorados, 1 mistol y 1 *Opuntia sp*. se capturaron *T. guasayana*; en 1 quebracho colorado caído

cohabitaban esas dos especies; y en 1 mistol y 1 *Opuntia sp*. se capturaron *T. garciabesi* (complejo *sordida*).

Tabla 3.6. Número de sitios examinados y re-examinados, triatominos capturados mediante trampas adhesivas con cebo vivo, y trampas puestas por tipo de ecotopo y especie de triatomino. Amamá y comunidades vecinas, octubre y noviembre de 2005, abril y noviembre-diciembre de 2006.

				N° de triatominos (N° sitios)				
Tipo de ecotopo	N° de sitios examinados	N° de sitios repetidos	Trampas puestas	*T. infestans*	*T. guasayana*	*T. garciabesi*	*Triatoma sp.*	Total
Árbol caído	24	3	30	17 (1)	9 (2)	0	3 (1)	29 (2)
Árbol en pie	164	42	180	1 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (1)	5 (4)
Chaguares	17	4	17	0	2 (1)	0	0	2 (1)
Cueva	1	0	1	0	0	0	0	0
Quimil	21	2	21	0	1 (1)	2 (1)	0	3 (2)
Quimil caído	18	1	18	0	1 (1)	0	0	1 (1)
Ramas amontonadas	5	1	7	0	0	0	0	0
Tocón	70	18	70	1 (1)	0	0	0	1 (1)
Tronco en suelo	193	42	210	4 (2)	14 (11)	0	2 (1)	20 (13)
Tronco seco en pie	38	5	40	1 (1)	0	0	0	1 (1)
Total	551	118	594*	24 (6)	28 (17)	3 (2)	7 (3)	62 (25)

*: no se registró el tipo de ecotopo para cuatro trampas.

3.3.6. Infección con T. cruzi

Se analizaron 140 triatominos silvestres al microscopio óptico en búsqueda de tripanosomatídeos: 34 capturados con trampas adhesivas (10 *T. infestans*, 21 *T. guasayana*, 3 *T. garciabesi*) y 106 *T. guasayana* atrapados con trampa de luz. Ninguno de los anteriores resultó positivo para *T. cruzi*.

De los anteriores triatominos, 98 (8 *T. infestans*, 86 *T. guasayana*, 3 *T. garciabesi* y 1 *T. platensis*) fueron analizados mediante PCR de kADN. De éstos, 2 *T. infestans* (1 ninfa de 4° y de 3° estadio) y 7 *T. guasayana* (4 hembras, 1 ninfa de 5° y 1 de 3° estadio) resultaron positivas para el marcador específico de *T. cruzi* (Figura 10.4). Estas muestras positivas fueron re-analizadas por PCR de satADN y sólo una ninfa de 5° estadio de *T. guasayana* atrapada manualmente fue nuevamente positiva para *T. cruzi*. Esta ninfa positiva se

encontraba bajo unos troncos cortados que estaban en el suelo entre la pastura de un campo desmontado. Tres triatominos positivos por PCR-kADN (2 ninfas de *T. guasayana* y 1 ninfa de *T. infestans*) fueron capturados en el mismo árbol caído donde se capturaron la mayor cantidad de triatominos y que tenía la colonia silvestre de *T. infestans* más grande (con 17 especímenes). La distancia entre estos sitios a la casa más cercana era de aproximadamente 1,1 km. La otra ninfa de *T. infestans* positiva por PCR-kADN fue capturada a unos 450 m de la casa más cercana en otro paraje, y las otras 4 hembras de *T. guasayana* fueron capturados en trampas de luz a distancias mayores de 1 km a la casa más cercana, cada una en zonas diferentes. A pesar de varios intentos no se pudo identificar la UDT de los parásitos de los triatominos positivos por alguna de las PCR (i.e., kADN y/o satADN), posiblemente por la escasa cantidad de material (i.e., contenido del promensenterón y ampolla rectal) y a la menor sensibilidad de las PCRs utilizadas para identificar la UDT.

Si bien el pequeño número de triatominos PCR-kADN positivos para *T. cruzi* no permite un análisis estadístico espacial que sea robusto, provisionalmente se observa que no habría agregación espacial en la infección por *T. cruzi* de los triatominos en el área de estudio (Figura 3.11).

Con la intención de observar si existe alguna relación espacial entre las infecciones de los triatominos con los mamíferos silvestres de la zona se realizó una imagen que integra los resultados de infección por *T. cruzi* del capítulo II con el presente (Figura 3.12). Teniendo en cuenta:

- la distribución de las la trampas y capturas de triatominos;

- la distribución de las capturas de mamíferos (las trampas no fueron georrefereciadas en su mayoría y la mitad de las capturas fueron manuales);

- que el bajo número de positivos (i.e., especímenes infectados) impide hacer cualquier análisis espacial robusto;

- que los mamíferos se pueden desplazar varios kilometros, al igual que los triatominos adultos (4 de los *T. guasayana* infectados llegaron volando a las trapas de luz);

- que las capturas se dieron en diferentes fechas dentro de una amplia ventana temporal (entre 2003-2007);

no parece haber ningún patrón claro de agregación de la infección a la escala espacial observada y los datos no permiten un análisis estadístico.

Figura 3.11. Mapa del área de estudio mostrando los sitios de muestreo en el medio silvestre mediante trampas adhesivas o de luz (puntos rojos o celestes, respectivamente), sitios con captura de triatominos (puntos verdes), y sitios donde se capturaron triatominos PCR-kADN positivos para *T. cruzi* (estrellas amarillas), sobre una imagen Ikonos (Space Imaging, Atlanta, GA) de octubre de 2002. Los cuadros con texto son los triatominos *T. cruzi* positivos en el sitio señalado.

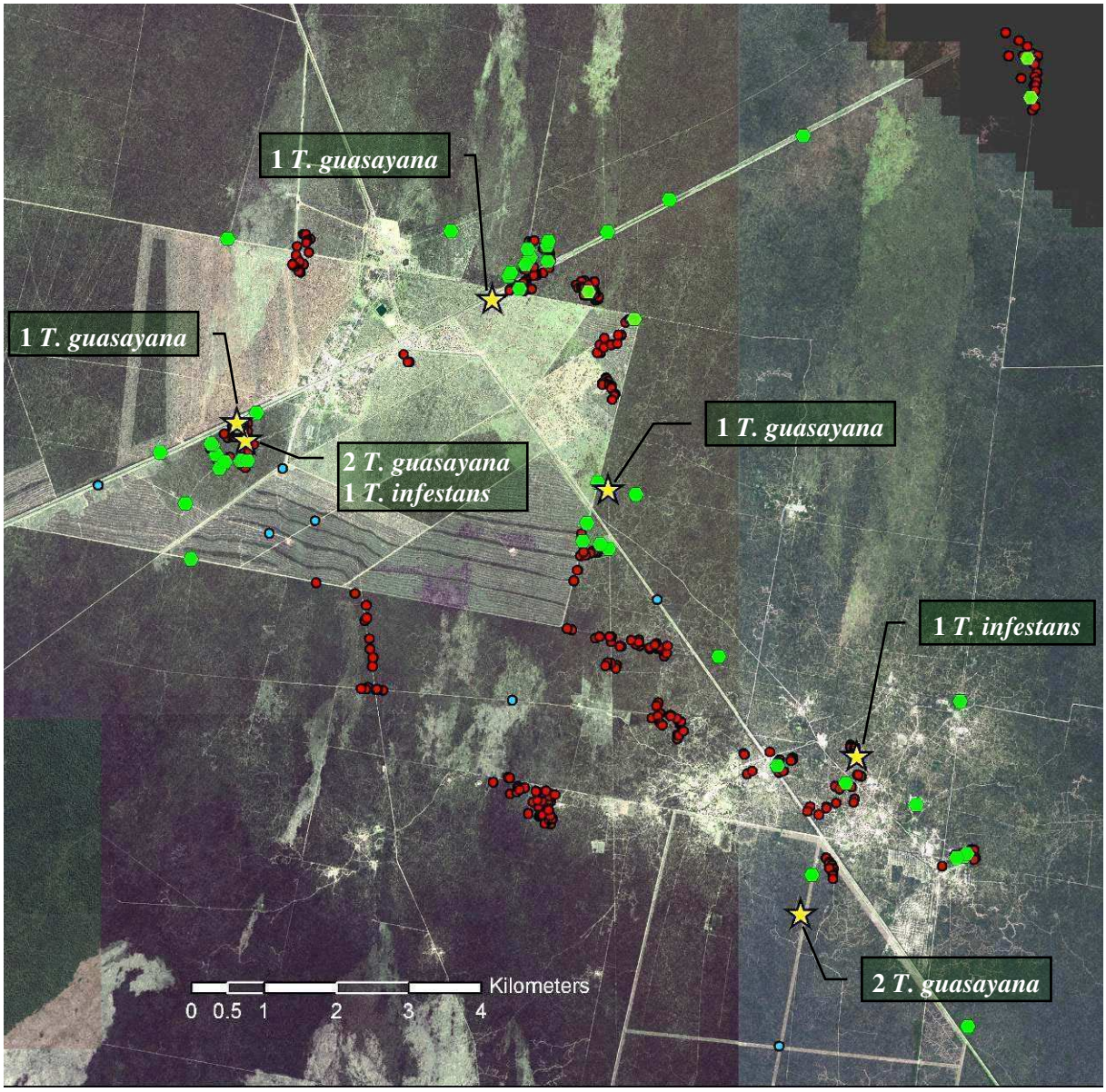
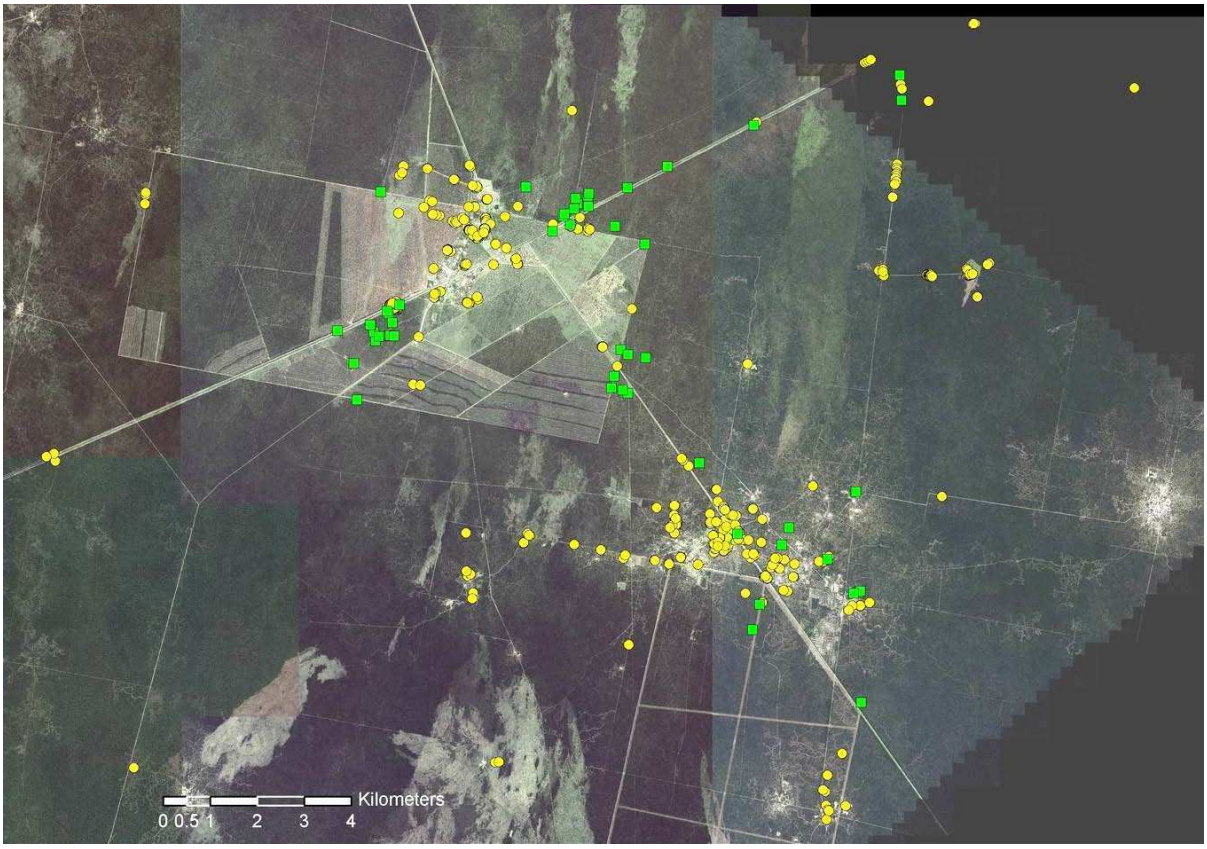
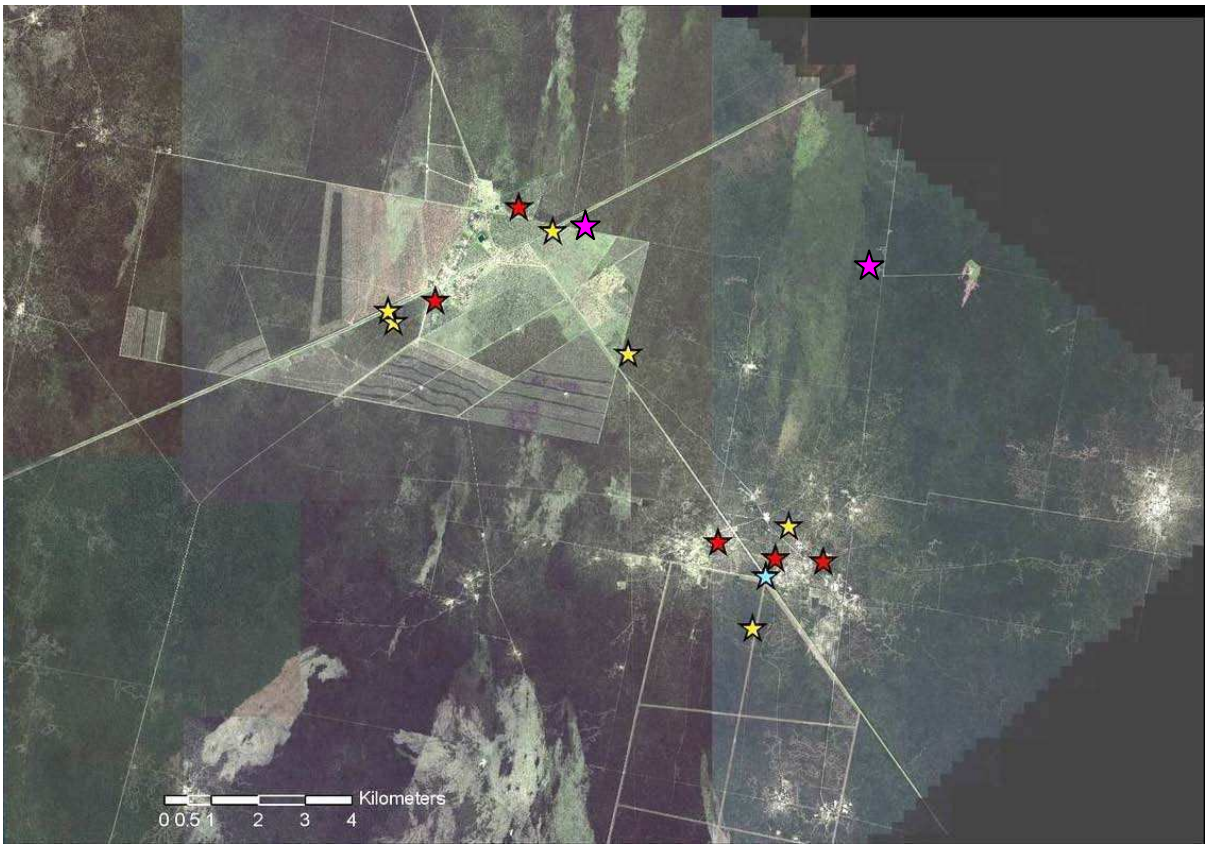


Figura 3.12. Mapa del área de estudio mostrando: A) sitios de captura de triatominos (cuadrados verdes) y mamíferos silvestres (puntos amarillos); B) sitios de captura de especímenes *T. cruzi* positivos: triatominos (estrellas amarillas), ratones (estrellas rosas), zarigüeyas (estrellas rojas) y el zorrino (estrella celeste).





3.4. DISCUSIÓN

3.4.1. Colonias de T. infestans *silvestres*

El principal resultado de esta investigación fue el hallazgo de colonias de *T. infestans* en hábitats silvestres. Cabe señalar que el hallazgo de *T. infestans* silvestres fue posible debido al considerable despliegue de las trampas adhesivas con cebo vivo, las cuales no habían sido usadas hasta entonces en búsquedas de triatominos silvestres en el Chaco argentino. Cronológicamente, éste es el primer hallazgo de múltiples colonias de *T. infestans* en hábitats silvestres en el Gran Chaco fuera de Bolivia. A diferencia de este último país, los *T. infestans* silvestres capturados en Amamá y alrededores tienen un fenotipo normal, no un morfo oscuro. A diferencia de los aislados hallazgos previos en Argentina (Bejarano, 1967), estos hallazgos de *T. infestans* silvestres fueron realizados en un contexto de vigilancia vectorial con acciones de control selectivas, cuando había muy pocos focos (peri)domésticos de *T. infestans* y eran de baja densidad (ver Capítulo II, Sección 2.2.2.3), y en un bosque xerófilo secundario con diferentes grados de degradación. Previo a las acciones de control vectorial, cuando la infestación (peri)doméstica con *T. infestans* era muy alta, el único registro en el medio silvestre en la zona había sido el hallazgo de un macho de *T. infestans* (infectado con *T. cruzi*) en un hueco de un quebracho colorado donde se refugiaba una zarigüeya, ubicado a unos pocos metros de una vivienda (Wisnivesky-Colli y col., 1992; Schweigmann N., comunicación personal).

3.4.2. Refugios de T. infestans *silvestres*

Los hábitats silvestres y los refugios para los triatominos en este medio no son objetivo de las acciones de control vectorial y por ende podrían mantener condiciones de micro-hábitat favorables para *T. infestans*. El hallazgo de pequeñas colonias de triatominos con estadios inmaduros en hábitats silvestres con un pobre estado nutricional o no alimentadas indican que el ambiente del bosque disturbado tiene condiciones y recursos apropiados aunque sub-óptimos para el desarrollo de *T. infestans*, probablemente debido a que la disponibilidad de hospedadores es mucho más inestable que en hábitats domésticos o peridomésticos. A pesar de la considerable deforestación y los cambios en el uso de la tierra en el área de estudio (ver Capítulo II), el bosque degradado todavía mantiene una diversidad de refugios apropiados para *T. infestans* (i.e., árboles y troncos en pie o en el suelo con huecos

y cavidades profundas). Esto abre la posibilidad de la existencia de focos silvestres en casi cualquier área rural con características similares. Los hábitats silvestres podrían proveer un refugio para las poblaciones (peri)domésticas de *T. infestans* luego de los rociados con insecticidas, y si persistieran lo suficiente hasta después que se haya extinguido el poder residual de los insecticidas, podrían invadir y reinfestar la vivienda, a los cuales eventualmente regresarían descendientes de los emigrantes originales en búsqueda de hospedadores y condiciones de hábitat más favorables.

Si bien el pequeño número capturado no permite hacer ninguna generalización, los árboles caídos y troncos en el suelo parecerían ser los refugios más apropiados para los triatominos ya que en ellos se capturaron el 79% de éstos. Además la colonia más grande y persistente de triatominos (17 *T. infestans*, 8 *T. guasayana* y 3 ninfas pequeñas no identificadas) fue observada en una árbol caído de gran porte. El tronco de este quebracho colorado tenía un hueco central considerable (~40 cm de diámetro), capaz de alojar en su interior a un animal de porte mediano (e.g., comadreja, gato, zorro, etc.), lo cual explicaría la posible fuente de sangre capaz de mantener dicha colonia.

A diferencia de *T. guasayana*, *T. infestans* seleccionaría más frecuentemente ecotopos con estructuras leñosas (i.e., troncos o árboles en el suelo) que las cactáceas (‘quimiles’) o bromeliáceas terrestres (‘chaguares’), lo que se desprende de los resultados de las búsquedas aquí presentados en primavera y otoño; de las realizadas por Vezzani y col., (2001) en verano e invierno y por Wisnivesky-Colli y col. (1997) durante las cuatro estaciones del año en el mismo área de estudio, y las realizadas por Noireau y colaboradores (2000b) en ecotopos silvestres del chaco boliviano donde *T. infestans* era la especie predominante en huecos de árboles. Presumiblemente esta selección de ecotopos se debería a las diferencias microclimáticas que pueda haber entre ellos y a la disponibilidad de hospedador. Estas cuestiones necesitan de más investigación.

3.4.3. Origen de los focos de T. infestans *capturados en ambientes silvestres*

El análisis molecular, de morfometría geométrica de alas y de la distribución espacial de las ocurrencias de *T. infestans* silvestres dio claros indicios que estos focos podrían tener un origen (peri)doméstico (Ceballos, Piccinali, Marcet, Vázquez-Prokopec y col., en preparación). Se utilizó un análisis espacial focal, para detectar la ubicación precisa de la agregación de los eventos de infestación, mediante el estadístico local de Getis ($G_i(d)$) (Getis y Ord, 1996); este permite determinar la presencia y extensión de agregación de la abundancia

(peri)doméstica de *T. infestans* (promedio de la captura manual por búsqueda activa de *T. infestans* específica para cada sitio entre 2002-2004) alrededor de cada foco silvestre. Este análisis permitió detectar una asociación significativa entre dos focos silvestres de *T. infestans* y las poblaciones (peri)domésticas de esa misma especie a una distancia de hasta 1.200 m en el paraje de Amamá (colonia con 1 adulto y 16 ninfas), y a 150 m en el paraje de Mercedes (una ninfa de tercer estadio). Los otros focos no presentaron ninguna asociación significativa.

La identificación morfológica de los triatominos silvestres como *T. infestans* fue confirmada por secuenciación de un fragmento del ADN del gen mitocondrial citocromo oxidasa I (*COI*) y/o citocromo B (*cyt b*) seguida por la comparación con otras secuencias de triatominos disponible en Genbank. Se secuenciaron exitosamente 20 triatominos los cuales fueron confirmados como *T. infestans* por uno o ambos genes. Los *T. infestans* silvestres con haplotipos *COI* y/o *cyt b* (n = 16) también fueron comparados con los haplotipos de *T. infestans* (peri)domésticos de los parajes circundantes, otras localidades de la misma provincia alejadas aproximadamente unos 40 km de Amamá, y de otras provincias argentinas a más de 300 km (Piccinali y col., 2009; Marcet y col., 2008; Marcet, 2009a). A partir de una red de haplotipos construida mediante una aproximación estadística de parsimonia, se observó que los triatominos silvestres exhibían una alta variabilidad nucleotídica y diversidad de haplotipos. Los nueve haplotipos silvestres encontrados se hallaban difundidos a lo largo de toda la red y no formaron un grupo único y separado. En general, esos haplotipos han sido registrados en poblaciones de *T. infestans* peridomésticas o se hallaban estrechamente relacionados con variantes peridomésticas del mismo área o de otras poblaciones de Argentina. Se halló un haplotipo silvestre altamente divergente solo registrado en otras poblaciones silvestres de *T. infestans* de Chaco, Argentina (Piccinali y col., resultados no publicados). Sin embargo, la presencia de tal patrón no parece ser particular de los triatominos silvestres debido a que también fueron encontradas variantes divergentes en los peridomicilios de Amamá y en otras o poblaciones argentinas (Piccinali y col., 2009a). Marcet (2009) comparó los genotipos multilocus para 10 loci de microsatélites (marcadores moleculares de alta resolución) de 22 *T. infestans* silvestres capturados en este trabajo, con los de *T. infestans* capturados en sitios (peri)domésticos del área de estudio antes del rociado con insecticidas. Como resultado general de estos análisis, los triatominos silvestres se agruparon entre los triatominos (peri)domésticos con poca discontinuidad. A pesar que algunos especímenes (4) de un par de focos silvestres se agruparon más cercanamente con otros triatominos domésticos que no eran de las comunidades más cercanas (~5 y ~8 km de distancia) y que uno de esos especimenes presentó ADN mitocondrial estrechamente

relacionado con poblaciones fuera del área de estudio, no hubo evidencia clara de restricción de flujo entre las poblaciones silvestres y (peri)domésticas de *T. infestans* de los parajes del área de estudio (Marcet, 2009). Hay que tener en cuenta que los triatominos comparados fueron capturados con diferencia de 3 años y que las distancias entre las comunidades evaluadas no serían un obstáculo si se tiene en cuenta que *T. infestans* tiene una capacidad de dispersión por vuelo que iría de 200 a unos 2.000 m (Lehane y Schofield, 1978; Schweigmann y col., 1988; Schofield y col., 1992). Asimismo, la magnitud de las diferencias detectadas entre los individuos capturados en el medio silvestre con los capturados en áreas domésticas se encuentra dentro de los niveles de variabilidad intrapoblacional observados para la especie, por lo que no hubo evidencia de restricción absoluta de flujo génico entre ambas poblaciones (Marcet y col., 2008). Es interesante notar que en uno de los focos de *T. infestans* silvestres (el que persistió entre dos campañas y que tuvo la colonia más grande) hubo individuos asignados a diferentes poblaciones de referencia. En ese mismo sitio de captura fueron encontrados cinco diferentes haplotipos de *COI*, y debido a que uno de esos haplotipos fue encontrado en un adulto macho y los otros cuatro haplotipos en ninfas, esos resultados indican que ocurrieron al menos cuatro eventos de establecimiento en ese sitio silvestre localizado a poco más de 1 km de la vivienda infestada más cercana. En el mismo sentido que las conclusiones derivadas del análisis molecular, el análisis comparativo de la morfometría geométrica de las alas del único *T. infestans* silvestre adulto (macho) con 86 *T. infestans* machos capturados en sitios (peri)domésticos locales en octubre 2002 (antes del rociado con insecticidas) mostró un claro solapamiento de sus caracteres morfométricos (Schachter-Broide J., resultados no publicados).

Los resultados enumerados arriba sugieren que los especímenes de *T. infestans* capturados en medio silvestre del área alrededor de Amamá y comunidades vecinas serían derivados de poblaciones domésticas o peridomésticas. El proceso que dio origen a estos focos no puede deducirse a partir de la pequeña muestra analizada en estos trabajos. Sin embargo, una hipótesis plausible es que algunos insectos pudieron dispersarse previo al rociado con insecticidas, o algunos sobrevivientes a éste, a refugios naturales que cuentan con la presencia de hospedadores silvestres capaces de mantener las poblaciones de triatominos dispersantes.

3.4.4. Infección con T. cruzi*. Solapamiento de los ciclos de transmisión silvestre y doméstico*

El muy bajo número de triatominos silvestres detectados infectados con *T. cruzi* al menos por técnicas moleculares (2 *T. infestans* y 7 *T. guasayana*, de 98 triatominos analizados) es coherente con la muy baja prevalencia de infección en los mamíferos silvestres locales (casi 9% en la zarigüeyas *D. albiventris* y 1% en los zorrinos *C. chinga*), *T. infestans* (peri)domésticos (1,1%), perros (5,8%), gatos (1,9%) y humanos (5,3%) (Capítulo II; Cardinal y col., 2007; Cardinal, 2008; Gürtler y col., 2007b). Aunque en el presente estudio los ejemplares de *T. infestans* de las colonias silvestres no se hallaron infectados por métodos parasitológicos, el hecho que se hayan encontrado mediante PCR-kADN dos ejemplares positivos para *T. cruzi*, y que a fines de los 1980s Wisnivesky-Colli y colaboradores (1992), estudiando la infestación de las madrigueras de zarigüeyas del área, hallaron un macho de *T. infestans* infectado por *T. cruzi* en un árbol cercano al extremo oeste de Amamá frente al cementerio, abre la posibilidad de que esta especie de triatomino también se halle involucrada en la transmisión del parásito en el ciclo silvestre. A partir de la población peridoméstica de *T. infestans* del área de estudio, se obtuvieron cinco ejemplares adultos infectados con las UDTs TcI o TcIII en viviendas donde no se detectaron sus posibles fuentes domésticas (Cardinal y col., 2008). Como se explicó en el capítulo anterior, dichas UDTs están relacionados (la UDT TcI no en forma unívoca) con el ciclo de transmisión silvestre en la región del Gran Chaco (Diosque y col., 2003; Yeo y col., 2005), y por lo tanto una explicación plausible del encuentro de *T. infestans* infectados con esas UDTs podría ser que fueran insectos dispersantes provenientes de colonias silvestres. Si bien ésta no es una evidencia definitiva, ya que no se pudo hallar ningún triatomino silvestre infectado con TcI en el área de estudio, estas observaciones sugieren la existencia de una conexión al menos parcial entre el ciclo silvestre y el doméstico.

El hallazgo de 7 especímenes de *T. guasayana* infectados con *T. cruzi* (8% de prevalencia) mediante PCR-kADN apoyaría la hipótesis de su rol como vector silvestre de *T. cruzi*. Estudios previos basados en microscopía de heces de *T. guasayana* han reportado la presencia de tripanosomas similares a *T. cruzi* (“*T. cruzi*-like”) (Wisnivesky-Colli y col., 1993b; Schweigmann y col., resultados no publicados, 1995c), “flagelados’’ (Noireau y col., 1999b), *T. cruzi* determinados por su morfología (Gajate y col., 1996; Cecere y col., 1999), o por cultivo y aislamiento de los parásitos (Lauricella y col., 2005). Otros estudios basados en diagnóstico por PCR confirmaron la frecuente infección con *T. cruzi* (9,1%-13,3%) en *T. guasayana* en hábitats silvestres del chaco boliviano (Noireau y col., 1999b, 2000a), en el

chaco argentino (Schweigmann y col., resultados no publicados, 1995c), pero no en el chaco paraguayo (Yeo y col., 2005). Durante octubre de 2002 en el área de estudio de este trabajo la infección por *T. cruzi* fue detectada por M.O. en 2 (1,8%) de 110 *T. guasayana*, y en 3 (1,1%) de 283 *T. garciabesi* (complejo *sordida*). Posteriormente se comprobó mediante PCR (amplificación de genes 24s de rARN) que 1 espécimen de cada especie en realidad estaba infectado con *Blastocrithidia triatomae* (Marcet y col., 2006b; Schijman y col., 2006). Nueve años antes Schweigmann y colaboradores (1995c) encontraron que el 10,9% de 164 triatominos silvestres que incluían *T. guasayana* y *T. garciabesi* estaban infectados con *T. cruzi* mediante diagnóstico por PCR. *T. garciabesi* (complejo *sordida*) parece ser mucho menos abundante en los hábitats silvestres (140 *T. guasayana* vs. 4 *T. garciabesi* capturados, ver sección 3.3.2.) y está más restringida a ecotopos peridomésticos asociados con gallinas (i.e., árboles donde duermen gallinas; Canale y col., 2000), por lo tanto se espera que estén menos frecuentemente infectados que *T. guasayana*.

El mayor número de triatominos detectados infectados por PCR-kADN que no pudieron ser confirmados por la PCR del fragmento satélite podría explicarse por la mayor sensibilidad de la primera técnica y por el escaso contenido que presentaban los insectos en el tracto digestivo. Aunque en teoría este resultado también podría haber sido causado por una contaminación cruzada, se podría excluir esta hipótesis debido a que los diferentes controles negativos incluidos en la PCR resultaron negativos,.

3.4.5. Implicancias de los focos silvestres en el control de T. infestans

Éstas evidencias (genéticas, morfológicas y parasitológicas) sugieren que los especímenes silvestres de *T. infestans* podrían ser derivados de poblaciones (peri)domésticas, y cuestionan la ampliamente sostenida noción que postula que parece improbable que en el Chaco haya intercambios continuos de insectos entre los hábitats silvestres y domésticos. Existe la posibilidad que *T. infestans* de colonias silvestres puedan recolonizar áreas tratadas con insecticidas y esto explicaría al menos en parte los focos (peri)domésticos locales registrados después del rociado con insecticidas. Si bien *T. infestans* ha experimentado en el pasado un proceso de domesticación (o domicialización), parece que tal proceso no le impide persistir en algunos hábitats silvestres aún después de un rociado con insecticidas de las comunidades circundantes. Una cuestión relevante es si esas muy pequeñas poblaciones silvestres de *T. infestans* (comparado con las abundancias domésticas y perdomésticas) son viables en ausencia de fuentes de inmigrantes domésticos o peridomésticos (i.e., “efecto de

rescate"). El hecho de haber encontrado *T. infestans* en un sitio en más de una fecha de evaluación y que en él se desarrollaba una colonia con 17 individuos de varios estadios indica que hubo cierta estabilidad en la disponibilidad de hospedadores y las condiciones de micro-hábitat necesarias para sustentar una población de *T. infestans* al menos temporalmente. Además, la variabilidad observada entre individuos capturados en el sitio con ambos tipos de marcadores refleja que varios inmigrantes llegaron al sitio y no fue un evento aislado (Marcet, 2009; Piccinali, resultados no publicados). Como en este sitio se colectaron 2 *T. infestans* de cuarto estadio ninfal, y difícilmente las dos hayan inmigrado desde otro lugar (no hubo otro foco detectado a menos de 1 km), este sitio fue ocupado por ellas al menos entre unos 40 a 82 días, que es lo que tarda en desarrollarse un *T. infestans* hasta ese estadio ninfal en condiciones óptimas de alimentación, hábitat y temperatura (Canale y Carcavallo, 1985). Estos hechos (i.e., dispersión y colonización reiterada de sitios en el medio silvestre) indican que estos eventos no serían tan raros como se suponía *a priori*.

El rol que juegan las poblaciones silvestres de *T. infestans* en los procesos de recolonización de los parajes tratados con insecticidas y su capacidad de invasión requieren más investigaciones. Esta información sería relevante para guiar a los programas de control vectorial y para diseñar y mejorar estrategias con mejor costo-efectividad.

3.4.6. Limitaciones del estudio

La mayor limitación de este estudio se halla ligada al sistema estudiado. Si bien la metodología de captura con trampas adhesivas constituye una crucial mejora para obtener capturas de triatominos en el medio silvestre, resulta bien claro que estas poblaciones silvestres son muy poco abundantes; de hecho, se descreía que existieran poblaciones silvestres de *T. infestans*. Los pocos especímenes de *T. infestans* capturados limitaron una mejor caracterización de estas poblaciones.

Otra limitación, ya de diseño de muestreo, es no haber realizado muestreos con trampas adhesivas antes del rociado masivo de las comunidades del área de estudio. Tener *T. infestans* silvestres pre-rociado nos permitiría tener más evidencias acerca de si las poblaciones silvestres de esta especie son "escapes" o "derrames" del control vectorial, por ejemplo por efecto repelente de los insecticidas rociados, o si el intercambio de individuos con el medio silvestre se produce habitualmente como producto de dispersiones desde las poblaciones (peri)domésticas.

Sería también provechoso realizar más muestreos en el verano, ya que es de esperar que en esa época del año las poblaciones silvestres (y domésticas) de los triatominos tengan un pico de abundancia, y para el caso de *T. infestans* mayor probabilidad de vuelo (Ceballos y col., 2005; Vázquez-Prokopec y col., 2006; Gurevitz y col., 2006) y por lo tanto mayor probabilidad de capturarlos cuando arriban volando a las trampas de luz.

Dado que aún cuando la prevalencia de infección con *T. cruzi* en las zarigüeyas era alta (y por lo tanto la transmisión del parásito más intensa), la prevalencia observada en triatominos silvestres era baja (Wisnivesky-Colli y col., 1993b), surge la duda sobre si los métodos de diagnósticos utilizados fueron suficientemente sensibles. Se ha comprobado experimentalmente que *T. infestans* sometidos a un ayuno severo pierde los *T. cruzi* de las paredes del recto (Schaub y Böker, 1986; Schaub y Lösch, 1988), y que 60 a 120 días después de la ultima alimentación no se encuentran *T. cruzi* en el postmesenterón, y la población del parásito en el recto se reduce hasta casi desaparecer aunque nunca en forma total (Kollien y Schaub, 1998). Estas evidencias podrían explicar la falta de detección de *T. cruzi* en triatominos con un ayuno prolongado. Por lo tanto, la poca o nula reserva sanguínea que presentaron la mayoría de los triatominos silvestres capturados, especialmente en los *T. guasayana* adultos que se atraparon en las trampas de luz, podría haber causado la pérdida de la infección por *T. cruzi*. No es sorprendente que el único triatomino positivo fuera una ninfa de 5° estadio de *T. guasayana* con buena reserva sanguínea. Por otro lado, Marcet y colaboradores (2006) encontraron que varias muestras de heces de triatominos positivas al M.O. para *T. cruzi* presentaron inhibidores de la PCR, lo cual podría generar “falsos negativos”. El muy pobre estado nutricional (i.e., poco o nulo contenido sanguíneo estomacal) de los triatominos capturados en hábitats silvestres también impidió estudiar su perfil alimentario mediante técnicas inmunológicas. Otro aspecto que podría afectar el número de parásitos que llevan los triatominos es la temperatura ambiental. Se ha comprobado experimentalmente que las altas temperaturas (>35°C) afectan la reproducción de *T. cruzi* disminuyendo así su número en el intestino del triatomino (Neves, 1971). En el área de estudio son bastante frecuentes las temperaturas altas, por lo que sería factible que en el medio silvestre los triatominos estén expuestos a esas condiciones ambientales debido a que los ecotopos que habitan no amortiguarían la temperatura externa, como sí lo hace el rancho de adobe con techo de tierra, típica vivienda de la zona rural en el chaco seco argentino, donde se da principalmente la transmisión vectorial mediada por *T. infestans*.

Capítulo IV

Triatoma infestans silvestres melánicos en el chaco argentino

Triatoma infestans ***silvestres melánicos en el chaco argentino***

RESUMEN

Triatoma infestans es un especie altamente domiciliada con focos silvestres bien conocidos sólo en los valles andinos y chaco bolivianos. En el chaco boliviano, los *T. infestans* silvestres tienen la particularidad de presentar un fenotipo más oscuro que el típico encontrado en (peri)domicilios e incluso en el medio silvestre en los valles andinos; dichos insectos melánicos fueron designados como 'dark morphs'. Siguiendo la identificación tentativa como *T. infestans* de dos triatominos melánicos colectados de nidos de loros en una reserva natural protegida del chaco argentino, se realizó en el área una búsqueda intensiva utilizando trampas adhesivas cebadas con un ratón vivo en los veranos de 2006 y 2007. Se capturaron 4 *T. infestans* vivos de árboles sin nidos de loros con un esfuerzo de captura de 288 trampas-noche, mientras que no se colectó ningún triatomino del interior de los árboles con nidos activos de loros con 51 trampas-noche. Para aumentar las capturas de triatominos, los huecos de los troncos con nidos de loros *Amazona aestiva* y *Aratinga acuticaudata* que habían sido recientemente ocupados se trataron con un aerosol insecticida con fuerte poder de volteo. Cuatro (22%) de los 18 árboles fumigados fueron positivos para 10 *T. infestans*. De los 14 *T. infestans* todas, salvo 2 ninfas capturadas muertas, presentaron una coloración melánica en el estadio adulto. La mayoría de los triatominos fueron colectados de huecos en troncos de *Aspidosperma quebracho-blanco* que albergaban nidos de loros. Todos los *T. infestans* colectados en la casa más cercana, localizada a 7 km del foco silvestre más cercano, mostraron caracteres cromáticos normales. Los hallazgos repetidos de *T. infestans* en hábitats silvestres, aunque en muy baja densidad, muestran que esta especie es capaz de mantener focos silvestres viables en ausencia de hospedadores e insectos inmigrantes desde poblaciones (peri)domésticas. Éste es el primer hallazgo confirmado de colonias de *T. infestans* silvestres 'dark morphs' en el chaco argentino.

4.1. INTRODUCCIÓN

4.1.1. Focos de T. infestans *melánicos en el medio silvestre del Gran Chaco*

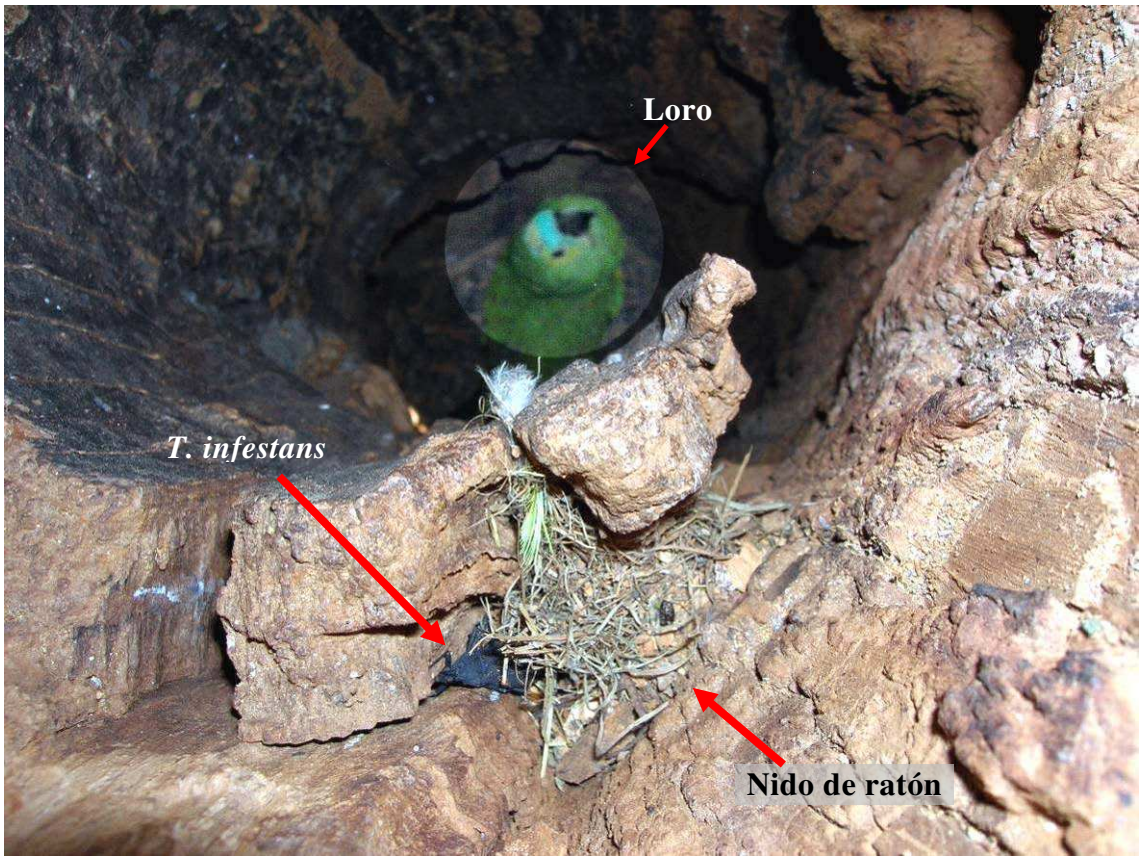
Como ya se expresó en los Capítulos I y III, *T. infestans* es una especie altamente domiciliada, y por largo tiempo se pensó que los focos silvestres solo existían en los valles andinos de Bolivia. Los hallazgos ocasionales en hábitats silvestres fuera de esa zona fueron considerados raros y de poca relevancia, probables derrames esporádicos y efímeros de focos (peri)domésticos. Los hallazgos de poblaciones silvestres de *T. infestans* en bromeliáceas terrestres y epífitas, nidos de cotorras y troncos de árboles en el chaco boliviano a mediados de los 1990s (Noireau y col., 1997, 2000a) pusieron en jaque al anterior paradigma. La investigación de las poblaciones silvestres de *T. infestans* recobró importancia tanto para el control vectorial de la enfermedad de Chagas como para estudios genéticos y evolutivos. Los *T. infestans* capturados por Noireau y colaboradores (1997) en el chaco boliviano tenían la particularidad de que eran mucho más oscuros y con manchas amarillentas sobre el conexivo más angostas que las típicas en *T. infestans*; estos individuos melánicos fueron nombrados como morfos oscuros (‘dark morphs’). Esos hallazgos tuvieron lugar en un bosque seco muy aislado y alejados de asentamientos humanos (campamento Tita camino a Izozog, Departamento Santa Cruz), donde la construcción humana más cercana estaba localizada a más de 30 kilómetros de los hallazgos y los insectos melánicos ocasionalmente volaban a las luces de los faroles de los cazadores locales. A diferencia de las poblaciones silvestres andinas de *T. infestans*, las chaqueñas tienen un hábitat arbóreo (Noireau y col., 2000b).

Otra forma melánica encontrada previamente en árboles peridomésticos en el bosque húmedo de Misiones (fuera del Gran Chaco) fue primero considerado una subespecie de *T. infestans* y más tarde elevada al nivel de especie como *Triatoma melanosoma* (Martínez y col., 1987, Lent y col., 1994). Varios aspectos tanto biológicos, morfológicos, citogenéticos como moleculares confirmaron que los ‘dark morphs’ y *T. melanosoma* eran variantes cromáticas de *T. infestans* que diferían en el color, la morfometría de cabeza y alas, los patrones de las sensillas de las antenas, el bandeo cromosómico, y en la amplificación aleatoria del ADN polimorfico (RAPD) y de las regiones espaciadoras del ADN ribosomal (Dujardin y col., 1997; Monteiro y col., 1999; Noireau y col., 1997, 2000b; Gumiel y col., 2003; Bargues y col., 2006). Fuera de Bolivia, *T. infestans* fue colectada en hábitats silvestres de Argentina (ver capítulo III y discusión), Brasil (Barretto y col., 1963), y en los últimos años en Chile (Bacigalupo y col., 2006). Además, recientemente fueron encontradas ninfas de

T. infestans en la interfase entre los hábitats peridomésticos y silvestres en el chaco paraguayo pero no les fue asignado un hábitat silvestre (Yeo y col., 2005). Estos reportes indican que las poblaciones de *T. infestans* en hábitats silvestres podrían ser mucho más comunes que lo que se asumía previamente, y señala la necesidad de investigar su ocurrencia y rol en el proceso de recolonización de las comunidades tratadas con insecticidas (Noireau y col., 2005; Bacigalupo y col., 2006; Noireau, 2009).

Durante el curso de una investigación de campo sobre la biología reproductiva del loro hablador (*Amazona aestiva*) en el Parque Natural Provincial "Loro Hablador" realizada entre 2003 y 2006 (Berkunsky y Reboreda, 2008), los investigadores ocasionalmente colectaron triatominos de los nidos localizados dentro de los troncos de árboles en pie (Figura 4.1). Uno de esos triatominos traído a nuestra atención fue preliminarmente identificado como un macho de *T. infestans* de morfo oscuro en base a sus caracteres morfológicos. Este hallazgo fortuito motivó el presente estudio sobre la ocurrencia de poblaciones silvestres melánicas de *T. infestans* en el chaco argentino, en donde no habían sido encontradas antes.

Figura 4.1. Nido de loro hablador (*A. aestiva*) dentro de un hueco de quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*), con un nido de ratón ocupado por un adulto de *T. infestans*. La foto es gentileza de Igor Berkunsky.



4.1.2. Objetivos particulares

Se realizaron búsquedas intensivas de triatominos en hábitats silvestres alejados de asentamientos humanos para:

- investigar la ocurrencia de focos silvestres de *T. infestans* en un área con alto grado de conservación,
- comparar la estructura y otros atributos de esos focos (i.e., tipo de hábitats, hospedadores, infección con *T. cruzi*) con los del chaco boliviano,
- determinar si estos triatominos son de la forma melánica llamada 'dark morph' por Noireau y colaboradores (1997).

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

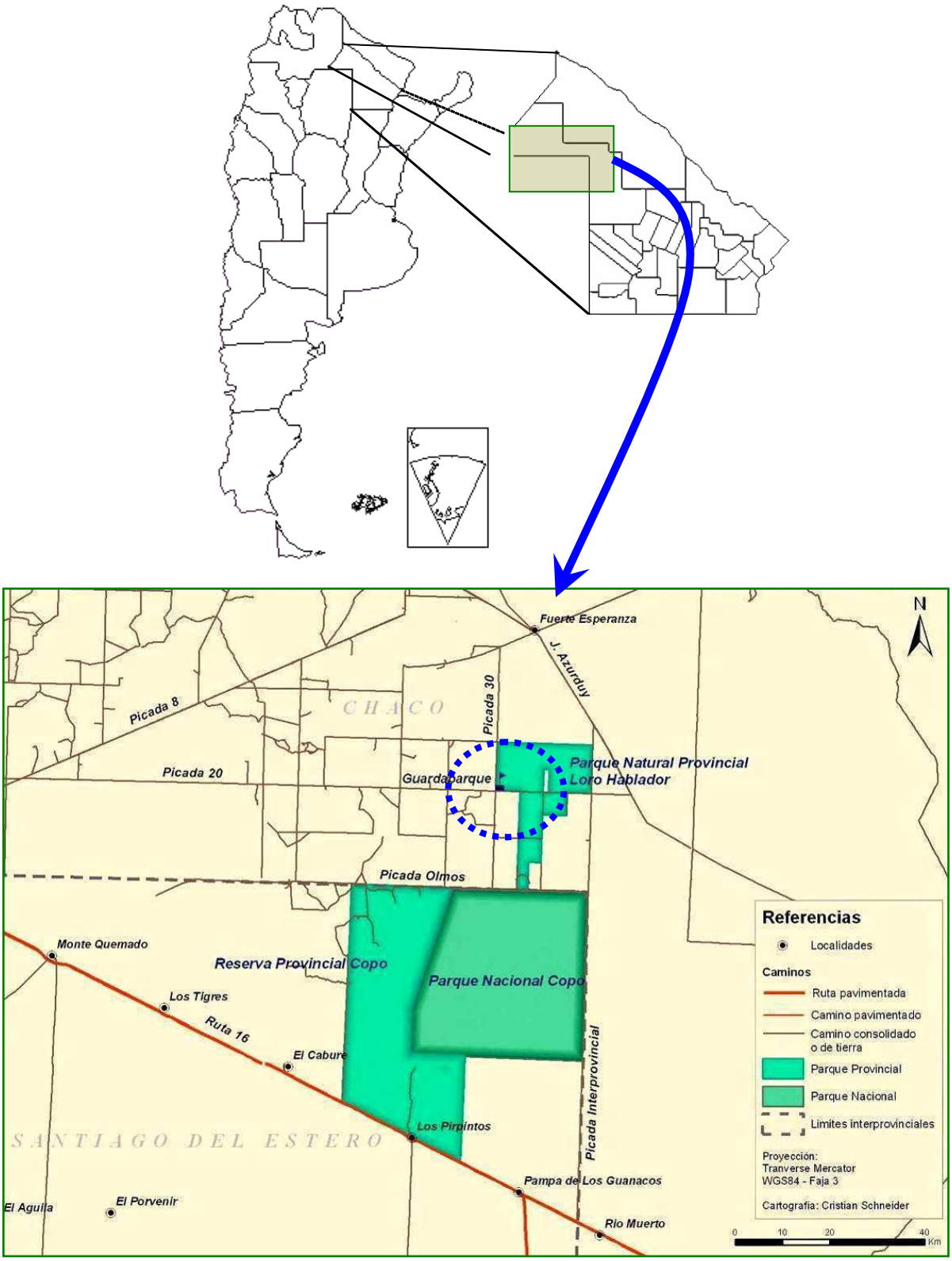
4.2.1. Área de estudio

El trabajo de campo fue llevado a cabo en los alrededores del paraje Nueva Esperanza, a 40 kilómetros al sur de la localidad de Fuerte Esperanza (25º 30" S, 61º 50" O), Departamento General Güemes, Provincia de Chaco, Argentina (Figura 4.2). Esta área está localizada dentro de la ecoregión del Chaco Seco y es parte del denominado "Impenetrable", un extenso bosque de árboles longevos donde sobresalen principalmente el quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*) y el quebracho colorado santiagueño (*Schinopsis lorentzii*), entre otras especies de madera dura (Figura 4.3). El estrato arbóreo también está compuesto por otras especies generalmente de menor tamaño, tales como algarrobos (*Prosopis sp.*), guayacán (*Caesalpinia paraguariensis*), mistol (*Ziziphus mistol*) y otros árboles menores que junto a los arbustos espinosos conforman el denso estrato arbustivo.

Las temperaturas durante el verano son muy altas (máxima de 50ºC) y hay un pronunciado déficit de precipitaciones (media anual de 500-600 mm), las cuales usualmente ocurren de manera torrencial, esporádica y casi exclusivamente en verano. El área donde se realizó el muestreo se encuentra rodeada de áreas protegidas pertenecientes al estado provincial y nacional (Parques Naturales Provinciales Loro Hablador y Fuerte Esperanza de la provincia del Chaco, y Parque Nacional y Reserva Provincial Copo en la provincia de Santiago del Estero). Esta zona aún se encuentra en un buen estado de preservación y con muy poca población humana residente; solo hay seis casas dentro de 30 kilómetros a la redonda del centro del área de muestreo. Preserva la mayoría de su fauna original, incluyendo grandes mamíferos como osos hormigueros (*Myrmecophaga trydactila*), guazunchos

(*Mazama gouazoubira*), pumas (*Felis concolor*), pecaríes (*Catagonus, Tayassu, Pecari*), yaguaretés (*Panthera onca*), e inclusive el extremadamente raro tatú carreta (*Priodontes maximus*). Si bien hay caminos, estos se hacen intransitables en la época de lluvia y el acceso al área se hace dificultoso por su aislamiento, además de la falta de agua. Según los pobladores visitados durante la primera campaña, en la zona los programas de control oficiales no realizaban acciones de control de triatominos de ningún tipo. Todas estas particularidades hacen que esta área se diferencie de las otras áreas donde en general se han realizado búsquedas de triatominos en hábitats silvestres en Argentina.

Figura 4.2. Ubicación del área de estudio (círculo punteado azul) en el Departamento General Güemes dentro de la Provincia de Chaco, Argentina.



Fuente: www.medioambiente.gov.ar/archivos/web.ele

Figura 4.3. Foto de la cubierta boscosa tomada desde la copa de un árbol emergente que muestra el aspecto continuo del bosque del área de estudio. La foto es gentileza de Igor Berkunsky.

4.2.2. Fechas de campañas

Se realizaron 3 campañas de muestreo intensivo de triatominos en hábitats silvestres, con énfasis en nidos de loros, en los meses de febrero y diciembre de 2006, y enero de 2007. Las fechas de muestreo fueron seleccionadas teniendo en cuenta la época en que la mayoría de los pichones de loros empiezan a abandonar los nidos. Además del momento en que se encontraba la nidada de loros, la selección de nidos a muestrear estuvo sujeta a su localización y posibilidad de acceder a ellos, para lo cual este trabajo tuvo que ser coordinado con el de otros investigadores (i.e., Berkunsky y colaboradores) sobre la biología reproductiva de *A. aestiva*, que gentilmente brindaron su logística (equipos de escalada, etc.) y conocimiento (datos sobre el estado de las nidadas y fechas de abandono de los nidos, entre otras cosas) para realizar este estudio.

4.2.3. Colección de triatominos

Durante la primera campaña (febrero de 2006), las búsquedas de triatominos fueron realizadas con trampas adhesivas con cebo vivo (su metodología fue explicada en el capítulo III), las cuales fueron colocadas en su mayoría en nidos de loros habladores (*A. aestiva*) y de calancates de frente azul (*Aratinga acuticaudata*), los cuales son hechos dentro de troncos de árboles grandes (generalmente quebrachos). Estos nidos habían sido localizados e inspeccionados regularmente durante su estación reproductiva desde 2005 (Berkunsky y Reboreda, 2008). Los nidos y polluelos fueron revisados a través de una pequeña ventana tallada en el tronco del árbol a la altura del nido (Figura 4.4A); ocasionalmente se registró la ocurrencia de otros vertebrados como ratones, murciélagos o reptiles (lagartija y culebras) en el hueco donde estaba el nido. Se repitió el muestreo en el mismo nido en diferentes campañas en la medida en que se dieran las condiciones adecuadas (i.e., ocupación de los nidos por los loros, etapa de la crianza) durante los días de muestreo, o en campañas sucesivas cuando el sitio fue positivo para triatominos. La distancia promedio entre los nidos muestreados fue de 2 kilómetros entre sí (rango, 0,2 a 16 km). Adicionalmente se colocaron trampas en otros huecos de árboles o troncos en el suelo que no tenían nidos de loros. El criterio de selección de estos huecos, al igual que en Santiago del Estero (capítulo II), fue el hueco que fuera suficientemente ancho y profundo para poder introducir la trampa adhesiva y que tuviera condiciones (ambientales y de cobijo) para que sirviera de refugio a algún hospedador potencial para los triatominos. Para cada sitio muestreado se anotó el tipo de ecotopo, la especie de árbol, y se registró su localización geográfica con un GPS (Garmin, Etrex Legend C).

Debido a que las colecciones de triatominos con la trampa cebada en los nidos fueron escasas o nulas, en diciembre de 2006 y enero de 2007 se ensayó otro método de colección basado en los efectos derribantes ('volteo') y desalojante de los insecticidas piretroides (Gürtler y col., 1993). El método consistió en lo siguiente: después de recuperar las trampas adhesivas de los nidos de loro abandonados recientemente por el último de los pichones (menos de una semana, asumiendo que la ocurrencia de triatominos sería más probable si los hospedadores hubieran estado presentes poco antes del muestreo) o cuando la nidada fracasó (por depredación, muerte de los pichones, etc.), se cubría la parte inferior de cada nido con un plástico fino de una bolsa, se tapaban las otras aberturas comunicadas con el hueco del tronco con bolsas de plástico, y luego se fumigaba el hueco del árbol con un insecticida en aerosol de "descarga total" (Chemofog®, Chemotecnica, Carlos Spegazzini, Argentina) que produce una

densa neblina de un compuesto que contiene permetrina y tetrametrina (Figura 4.4B). El plástico que recubría el fondo del nido era recuperado 6-24 horas después, dependiendo de la cercanía del sitio y el cronograma de trabajo, y luego en el campamento base se revisaba todo el material (artrópodos) que había caído en búsqueda de triatominos.

Figura 4.4. Nido de loro hablador (*Amazona aestiva*) en un quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*). A: La ventana de inspección señalada se realizaba aproximadamente a la altura de la localización del nido. B: Fumigación del nido.

En febrero de 2006 fueron evaluadas las casas más cercanas al área de muestreo para capturar *T. infestans* y otros triatominos en los sitios peridomésticos y domésticos con propósito de comparación con los insectos capturados en hábitats silvestres. La búsqueda activa se realizó con la ayuda de un agente desalojante (tetrametrina 0,2%, Icona, Buenos Aires, Argentina) por dos personas experimentadas durante 30 minutos por casa.

El área de muestreo cubrió aproximadamente 135 km^2 de monte en buen estado de conservación. Las condiciones climáticas generales de los días de muestreo fueron días cálidos (temperaturas promedios por encima de los 27ºC) a muy cálidos (máxima registrada de 49ºC) con noches templadas a muy cálidas, con una o dos lluvias torrenciales cortas por campaña durante las cuales no se muestreó.

4.2.4. Procesamiento de los triatominos

Todos los triatominos colectados (incluyendo los peridomésticos) fueron mantenidos en tarros plásticos con papel absorbente hasta su procesamiento en el laboratorio de Buenos Aires. En campo solo se determinó su estado nutricional cualitativo como se explicó en el capítulo III (i.e., observación por transparencia del contenido sanguíneo del promesenterón y/o forma del abdomen) ya que la falta de energía eléctrica impidió el uso de una balanza analítica.

Ya en Buenos Aires se identificó su especie siguiendo las claves de Lent y Wygodzinsky (1979) y Brewer y Garay (1951), y los triatominos vivos fueron examinados microscópicamente a 400× para ver si estaban infectados con *T. cruzi*. Tres ninfas fueron criadas alimentándolas sobre ratón de laboratorio hasta que alcanzaron el estadio de adulto, para registrar su coloración y asegurar su identificación taxonómica. Posteriormente se realizó el diagnóstico de infección por *T. cruzi* y se intentó la identificación de sus UDTs mediante las técnicas de PCR descriptas en el capítulo III. Adicionalmente se confirmó la especie de los triatominos identificados morfológicamente como *T. infestans* mediante PCR y secuenciación de fragmentos del gen mitocondrial *COI* y la región nuclear *ITS-1*, a cargo de la Dra. Romina Piccinali (Piccinali y col., 2009b y resultados no publicados; Ceballos y col., 2009).

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Esfuerzo de captura

El esfuerzo total de captura con trampas adhesivas fue de 339 trampas-noche, de las cuales 47 (14%; 41 en febrero de 2006 y 6 en enero de 2007) fueron colocadas en nidos de loros habladores, 4 (1%; 3 en febrero de 2006 y 1 en enero de 2007) en nidos de calancates, y 288 (85%) en huecos de otros árboles o troncos en el suelo (Tabla 4.1, Figura 4.5A). Cuando era posible en algunos sitios, especialmente nidos, se colocó más de una trampa (máximo 4). Esto significó que en total se muestrearon 303 sitios diferentes, de los cuales 137 eran árboles en pie, 41 nidos de psitácidos (37 nidos de loros habladores y 4 de calancates), 75 troncos en el suelo, 20 árboles caídos, 15 tocones y 15 troncos secos en pie. Además se fumigaron 18 nidos de loros, de los cuales 14 eran de *A. aestiva* (7 en diciembre 2006 y 7 en enero 2007) y 4 de *A. acuticaudata* (1 en diciembre 2006 y 3 en enero 2007) (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Esfuerzo de captura con trampa adhesiva con cebo vivo (trampa Noireau) y aerosol fumígeno para cada fecha.

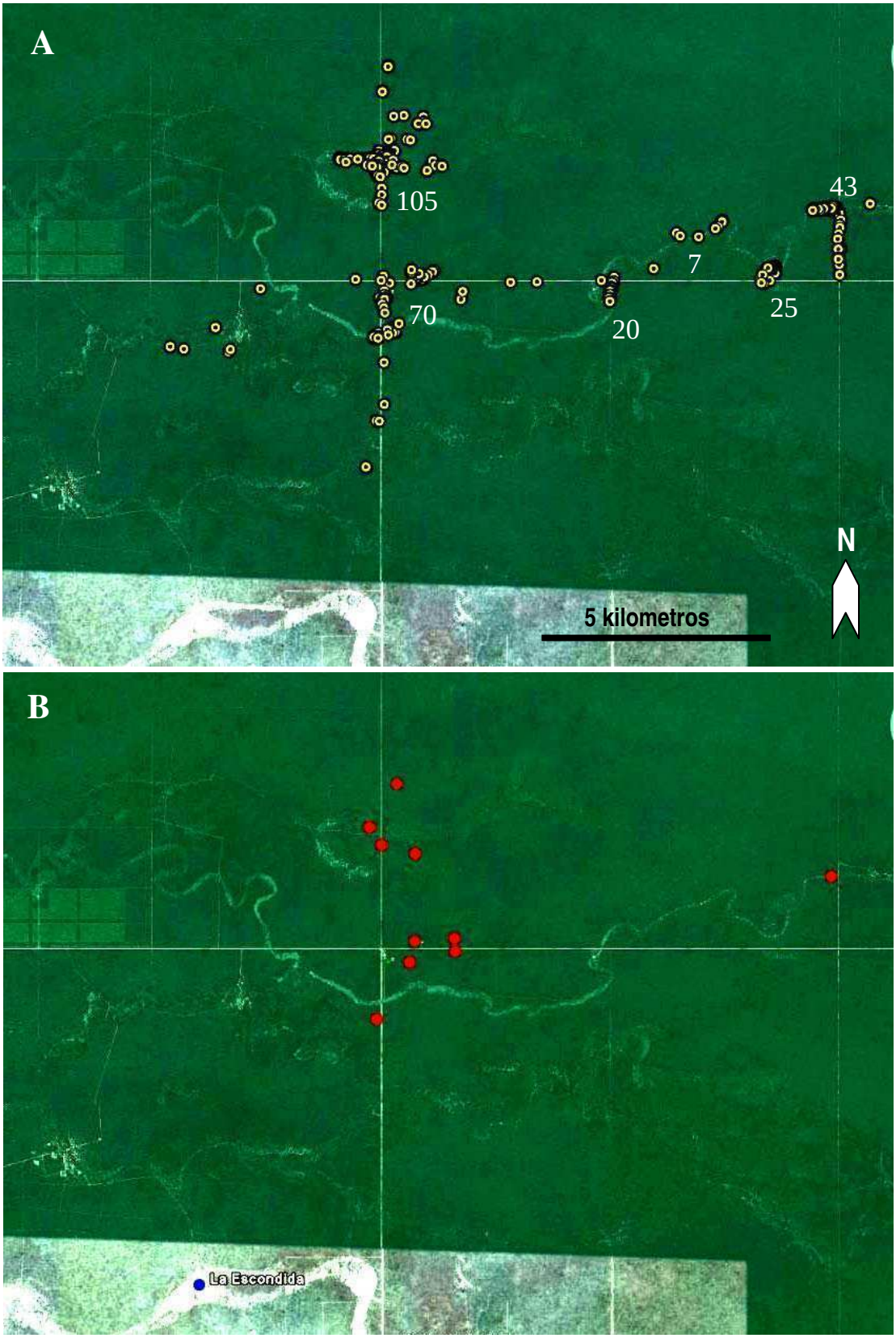
Fecha	Nº de trampas adhesivas/noche			Nidos evaluados por volteo
	Nidos de loros	Otros huecos*	Total	
Febrero 2006	44	51	95	0
Diciembre 2006	0	80	80	8
Enero 2007	7	157	164	10
Total	51	288	339	18

*: Discriminados en tabla 4.1.B

Tabla 4.1B

Tipo de ecotopo	Nº de trampas adhesivas/noche			
	Febrero 2006	Diciembre 2006	Enero 2007	Total
Árbol caído	10	11	5	26
Árbol en pie	24	42	82	148
Tocón	0	4	12	16
Tronco en suelo	13	18	52	83
Tronco seco en pie	4	5	6	15
Total	51	80	157	288

Figura 4.5. Mapa del área de estudio mostrando A) sitios (puntos amarillos) donde se colocaron las trampas adhesivas, B) sitios con captura de *T. infestans* silvestres (puntos rojos) y peridomésticos (punto azul), en febrero y diciembre de 2006, y enero de 2007, sobre una imagen satelital QuickBird (Digital Globe) de agosto de 2008. Los números junto a los grupos de puntos amarillos es la cantidad de trampas adhesivas puestas en ese sector.



Se repitió el muestreo con trampas adhesivas en el mismo sitio en dos campañas para 4 nidos (todos negativos) y en 4 huecos de árboles, de los cuales en 3 se había atrapado *T. infestans* la campaña anterior. Ningún sitio fue revisado 3 veces ya que todos los sitios estuvieron ocupados por los loros al menos una vez durante alguna de las campañas.

Con respecto a los nidos fumigados, no se repitió nunca el muestreo, por lo tanto se fumigaron 18 nidos diferentes entre las dos campañas. Solo 11 nidos fueron muestreados por ambos métodos, de los cuales a 7 se los investigó con trampas adhesivas en una campaña (4 en febrero de 2006 y 3 en enero de 2007), y a 4 nidos en ambas campañas.

4.3.2. Triatominos capturados

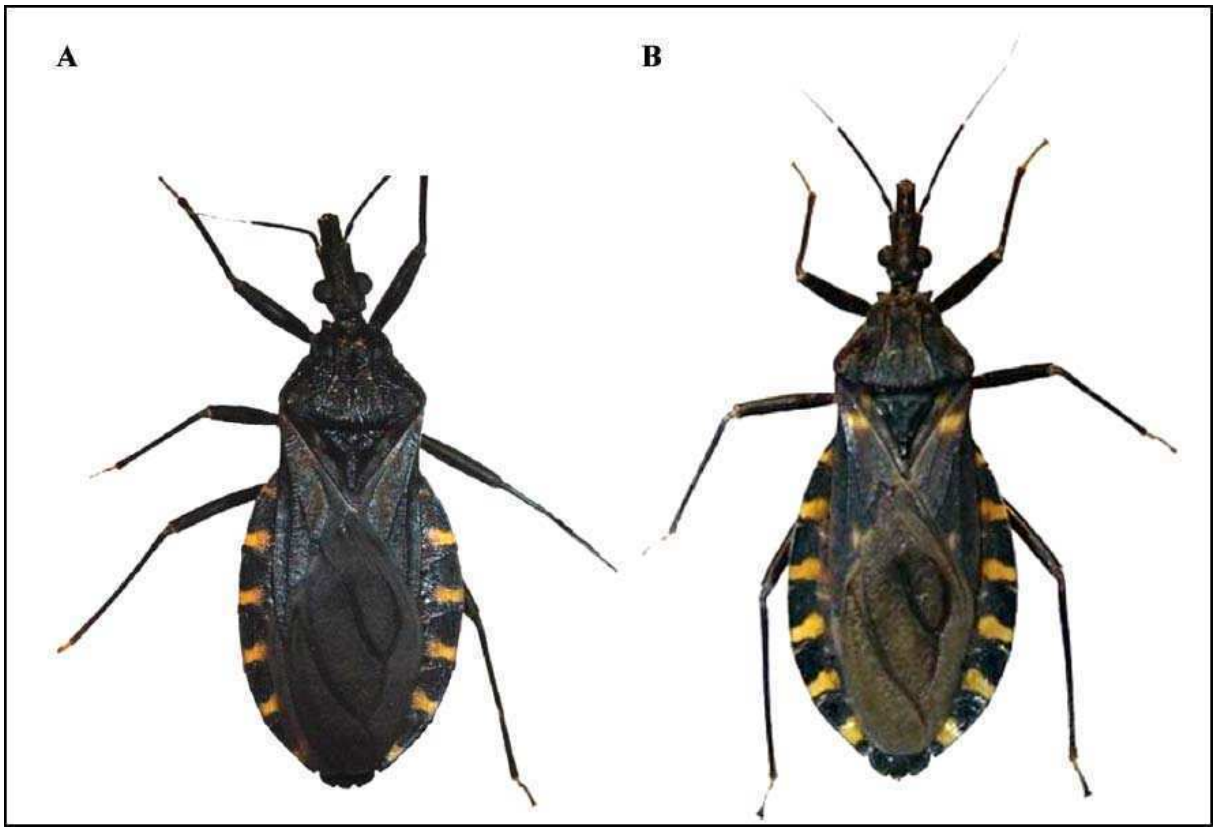
En total fueron capturados 33 triatominos silvestres, de los cuales 12 fueron colectados mediante trampas adhesivas (4 *T. infestans*, 6 *T. sordida* y 2 *T. guasayana*); 9 con el aerosol fumígeno (7 *T. infestans*, 1 *T. sordida* y un triatomino no identificado) (Tabla 4.2), y 12 mediante capturas manuales sobre la ventana de inspección de los nidos (3 *T. infestans*, 8 *T. sordida* y 1 *T. guasayana*). Considerando a las capturas manuales, 8 (2 machos *T. infestans* , y 2 machos, 1 hembra y 3 ninfas de 5° estadio de *T. sordida*) triatominos fueron capturados por I. Berkunsky previo a la realización de las campañas y los otros 4 (1 *T. infestans*, 2 *T. sordida* y 1 *T. guasayana*) en enero de 2007. Del total de los 14 triatominos identificados como *T. infestans* 12 tenían coloración melánica (Figura 4.6); las otras dos *T. infestans* eran ninfas colectadas por fumigación (por lo tanto se hallaban muertas), y no pudieron ser criadas hasta el estadio de adulto para determinar su coloración (i.e., siendo ninfas no es tan evidente la diferencia entre coloración normal y morfo oscuro).

Tabla 4.2. Distribución de la captura con trampa adhesiva con cebo vivo y aerosol fumígeno por fechas de muestreo y especies de triatominos capturados.

	Trampas adhesivas					Aerosol fumígeno		
Fecha	Sitios* positivos	*T. infestans*	*T. guasayana*	*T. sordida*	Total triatominos	Nidos positivos	*T. infestans*	Total triatominos
Febrero 2006	2	1	0	1	2	-	-	-
Diciembre 2006	5	2	0	4	6#	2	4	6§
Enero 2007	4	1	2	1	4	2	3	3
Total	11	4	2	6	12	4	7	9

*: ninguno fue un nido de loro.
#: solo una trampa capturó dos triatominos (una ninfa de 5to estadio de *T. infestans* y una de 4to de *T. sordida*).
§: 1 ninfa de 3er estadio de *T. sordida* y 1 ninfa de primer estadio sin identificación.

Figura 4.6. Diferencias cromáticas entre el morfo oscuro y el normal de *T. infestans* capturados en sitios silvestres (A) y peridomésticos (B) en el chaco argentino.



En relación a los estadios de los 14 *T. infestans*, 7 eran machos, 1 ninfa de tercer, 2 ninfas de cuarto y 4 de quinto estadio; de los 15 *T. sordida*, 2 fueron machos, 1 hembra, 3 ninfas de tercer, 5 de cuarto y 4 de quinto estadio; los *T. guasayana* fueron 3 ninfas de quinto estadio, y no pudo ser identificada una ninfa de primer estadio.

Con respecto a la búsqueda de triatominos en ambientes (peri)domésticos, se evaluaron 5 viviendas y sus peridomicilios. Solo en un depósito de una casa se encontraron *T. infestans*, capturándose 23 adultos (8 machos y 15 hembras), 21 ninfas de quinto y 5 de cuarto estadio. Todos estos triatominos presentaban la coloración normal de *T. infestans* (Figura 4.6). Esta casa estaba localizada a unos 5 km. del área de muestreo y a 7 km del sitio más cercano en donde fue capturado algún *T. infestans* silvestre (Figura 4.5B). Además se colectaron 1 ninfa de tercer estadio y 7 de quinto de *T. sordida* en árboles donde dormían las gallinas de 3 casas distintas. Todos los triatominos silvestres capturados se encontraban con muy poco o ningún contenido estomacal, a diferencia de los capturados en el depósito los cuales en su mayoría tenían una buena reserva alimenticia.

4.3.3. Ecotopos infestados con triatominos

Entre los diferentes tipos de ecotopos muestreados, los que más frecuentemente se encontraron con triatominos fueron los nidos de psitácidos. De los 24 sitios positivos 13 (54,2%) fueron nidos, seguidos por los árboles en pie con 7 sitios positivos (29,2%) (Tabla 4.4). Teniendo en cuenta que estos dos tipos de ecotopos son todos árboles en pie y casi todos verdes (sólo un árbol con nido de loro y triatomino estaba seco), entre los dos (59% de los sitios muestreados) aportaron el 83% de las capturas de triatominos. También hubo diferencias significativas de la proporción de sitios con triatominos sobre los muestreados entre ecotopos (Prueba de Fisher, $P < 0{,}001$), con una mayor captura relativa en los nidos de loros (32% de los sitios positivos) (Tabla 4.3).

Al analizar qué sitios fueron ocupados por cada especie de triatomino, se observa que para *T. infestans* 6 (60%) de los 10 sitios positivos eran nidos de psitácidos (Tabla 4.4), lo que significó el 15% de esos ecotopos analizados (Tabla 4.3). Algo similar se ve para *T. sordida*, entre los cuales 7 (50%) de 14 sitios infestados eran nidos y 5 (36%) árboles vivos en pie. *T. infestans* y *T. sordida* co-ocurrieron en 2 nidos de psitácidos (2 quebrachos blancos en pie, uno verde y el otro seco), y un hueco de un mistol. *T. guasayana* ocupó un sitio de cada uno de los anteriores ecotopos (Tabla 4.4).

Tabla 4.3. Número de sitios examinados y con captura de triatominos mediante cualquiera de los métodos utilizados por ecotopo.

Ecotopo	Nº sitios muestreados	Nº sitios con triatominos (%)	Nº sitios con *T. infestans* (%)
Árbol caído	20	1 (5,0)	1 (5,0)
Árbol en pie	137	7 (5,1)	2 (1,5)
Nido de psitácido	41	13 (31,7)	6 (14,6)
Tocón	15	2 (13,3)	1 (6,7)
Tronco en suelo	75	1 (1,3)	0
Tronco seco en pie	15	0	0
Total	303	24 (7,9)	10 (3,3)

Tabla 4.4. Número de sitios con captura de triatominos mediante cualquiera de los métodos utilizados, por ecotopo y especie de triatomino.

	Nº de sitios con:					
Ecotopo	*T. infestans*	*T. infestans* y *T. sordida*	*T. sordida*	*T. guasayana*	*Triatoma sp.*	Total sitios con triatominos (%)
Árbol caído	1	0	0	0	0	1 (4,2)
Árbol en pie	1	1	4	1	0	7 (29,2)
Nido de psitácido	4	2	5	1	1	13 (54,2)
Tocón	1	0	1	0	0	2 (8,3)
Tronco en suelo	0	0	1	0	0	1 (4,2)
Total	7	3	11	2	1	24 (100)

La misma tendencia se observó al analizar el número de capturas por especie y tipo de ecotopo que ocuparon. Se observa que 10 de los 14 (71%) *T. infestans* se capturaron en nidos de psitácidos. Algo similar ocurre para *T. sordida*; de las 16 capturas 9 (56%) eran nidos y 5 (31%) en árboles vivos en pie; 4 *T. infestans* y 2 *T. sordida* co-ocurrieron en los 2 nidos de psitácidos dicho antes, y un espécimen de cada especie en un hueco de un mistol. Los dos *T. guasayana* capturados ocuparon uno de cada tipo de esos ecotopos (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Número de triatominos mediante cualquiera de los métodos utilizados por ecotopo y especie de triatomino.

	Nº de triatominos					
Ecotopo	*T. infestans*	*T. infestans* + *T. sordida*	*T. sordida*	*T. guasayana*	*Triatoma sp.*	Total triatominos (%)
Árbol caído	1	0	0	0	0	1 (3)
Árbol en pie	1	1+1	4	1	0	8 (24,2)
Nido de psitácido	6	4+2	7	1	1	21 (63,6)
Tocón	1	0	1	0	0	2 (6,1)
Tronco en suelo	0	0	1	0	0	1 (3)
Total	9	5+3	13	2	1	33 (100)

Entre los 18 árboles que habían tenido recientemente nidos de loro y fueron tratados con los aerosoles insecticidas de descarga total, 4 (22%) fueron positivos para *T. infestans,* incluyendo tres árboles con nido de loro hablador y un árbol con un nido de calancate. Ninguno de los 41 nidos de psitácidos muestreados con trampas adhesivas fue positivo para *T. infestans*.

Solo un nido de loro hablador fue positivo más de una vez y en forma manual durante su revisión periódica, transcurriendo alrededor de un mes entre capturas (noviembre y diciembre de 2005). Las dos veces se capturó un adulto macho de *T. infestans*.

De las especies de árboles que se encontraron infestados, 12 eran quebrachos blancos (9 de los 12 nidos de psitácidos), 7 quebrachos colorados (2 con nidos de loros) y 4 mistoles. Todos los *T. infestans* adultos, 1 ninfa de tercer, 2 ninfas de cuarto y una de quinto estadio fueron capturados en nidos de loro localizados dentro de quebrachos blancos. Otra ninfa de cuarto estadio fue colectada en un quebracho blanco seco el cual había caído un año antes

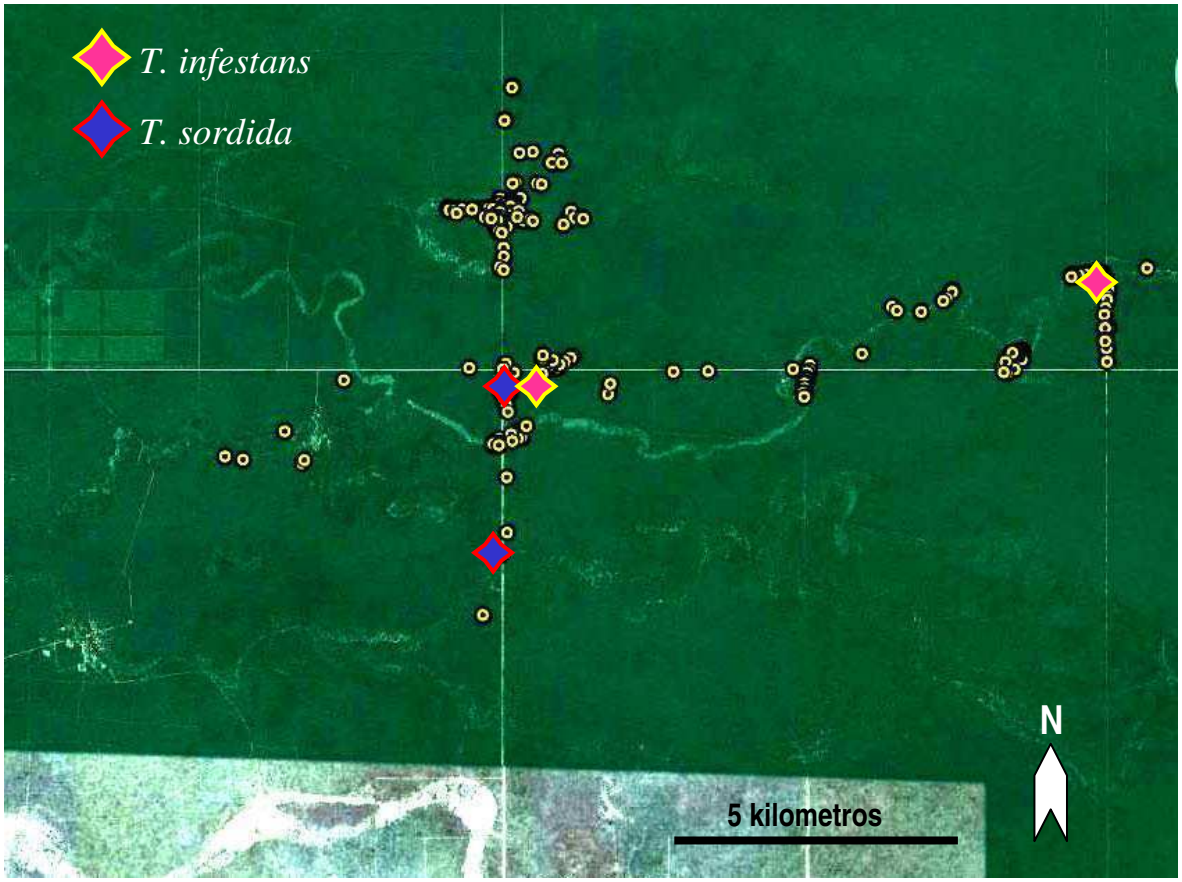
cuando tenía un nido de pájaro carpintero (no se identificó la especie). Las restantes ninfas de quinto estadio de *T. infestans* fueron capturadas en dos quebrachos colorados en pie (uno seco y quebrado) y un mistol. La distancia promedio entre sitios con capturas de *T. infestans* melánicos fue de 3,9 km (DE = 3,2 km; mediana = 2,9 km; rango = 0,3-10,5 km).

4.3.4. Infección con T. cruzi

Ninguno del los 11 triatominos silvestres (4 *T. infestans*, 5 *T. sordida* y 2 *T. guasayana*) analizados al microscopio en búsqueda de tripanosomatídeos fue positivo. Solo se observó *T. cruzi* en un adulto macho de *T. infestans* del depósito infestado; el resto (48) de los *T. infestans* y los 8 *T. sordida* peridomésticos fueron todos microscópicamente negativos para infección.

Se analizaron mediante PCR de kADN un total de 89 triatominos, de los cuales 57 eran peridomiciliarios, 20 de nidos de loros (10 *T. infestans*, 9 *T. sordida*, 1 *T. guasayana*) y 12 triatominos de otros ecotopos silvestres (4 *T. infestans*, 6 *T.* sordida, 2 *T. guasayana*). De los anteriores, 11 resultaron positivos para el marcador específico de *T. cruzi* (kADN): 7 *T. infestans* de peridomicilio (1 M.O. positiva), 1 macho de *T. sordida* y otro de *T. infestans* de 2 nidos de loros, 1 hembra de *T. sordida* de un nido de calancate, y 1 ninfa de quinto estadio de *T. infestans* capturada en un quebracho colorado (Figura 4.7). Estas muestras positivas fueron re-analizadas (algunas de ellas más de una vez) por PCR de satADN y solo 2 adultos de *T. infestans* de peridomicilio volvieron a dar positivo para *T. cruzi* por este método; uno de ellos fue el mismo al cual se le habían observado *T. cruzi* en sus heces al M.O. En estos casos tampoco se pudo identificar el UDT de los parásitos de los triatominos positivos (ver capítulo III).

Figura 4.7. Mapa del área de estudio mostrando los sitios (puntos amarillos) donde se colocaron las trampas adhesivas, y la ubicación de las capturas de los *T. infestans* silvestres y *T. sordida* positivos para *T. cruzi* por PCR de kADN, sobre una imagen satelital QuickBird (Digital Globe) de agosto de 2008.



4.4. DISCUSIÓN

4.4.1. T. infestans *melánicos del chaco argentino*

Estos hallazgos son los primeros confirmados de colonias de *T. infestans* verdaderamente silvestres en el chaco argentino, y de *T. infestans* con el morfo oscuro (o 'dark morphs') fuera de su única localización conocida en el chaco boliviano. Tanto la morfología como la secuenciación del ADN (Ceballos y col., 2009; Piccinali y col., 2009b y resultados no publicados) demostraron que los triatominos silvestres melánicos del Chaco eran *T. infestans*. Un análisis filogenético (por máxima parsimonia y aproximación Bayesiana) de 8 *T. infestans* silvestres que fueron secuenciados exitosamente para el fragmento mitocondrial del gen *COI* mostró que se agrupaban con las secuencias *COI* de los *T. infestans* y *T. platensis* peridomésticos bolivianos y argentinos (Ceballos y col., 2009), en

concordancia con estudios previos que mostraron gran similitud genética entre esas dos especies a partir de sus isoenzimas (Pereira y col., 1996), y de los patrones del bandeo del cromosoma C (Pérez y col., 2005), y del ADN mitocondrial (García y Powell, 1998; Sainz y col., 2004) y nuclear (Bargues y col., 2006).

Los primeros registros de *T. infestans* en hábitats aparentemente silvestres fueron provistos por Mazza y colaboradores (Mazza, 1936a; Mazza y col., 1936; Mazza y Schreiber, 1938), quienes encontraron colonias con ninfas y/o huevos en huecos o bajo la corteza de árboles, cactus, nidos de aves (*Pseudoseisura lophotes*) y zarigüeyas (*Didelphis sp*), a veces lejos de las casas, en la provincias de Santa Fe, Salta y Mendoza (Argentina). Varios otros hallazgos realizados por Mazza y colaboradores (1938, 1943) dentro del chaco argentino, y de otros autores en Paraguay (González y col., 1942; Velazquez y González, 1959) y Bolivia (Torrico, 1946) revisados por Bejarano (1967) más otros hallazgos propios condujeron a este autor a concluir que: i) los *T. infestans* encontrados en hábitats silvestres podrían haberse originado por dispersión desde las casas cercanas o fueron introducidos a ese ambiente silvestre por algún tipo de transporte pasivo, y ii) el hallazgo de ninfas en hábitats silvestres indicaba que *T. infestans* podría desarrollarse ahí, pero no quedaba claro si estos podrían persistir y eventualmente ser una fuente de reinfestación (peri)doméstica después del rociado con insecticida. Posteriormente fueron registrados numerosos hallazgos incidentales de *T. infestans* en hábitats silvestres (incluyendo colonias con ninfas en nidos de aves y roedores, bajo cortezas y en huecos de árboles y en palmeras) dentro de la mayor parte del rango geográfico de *T. infestans* en Argentina (Carcavallo y Martínez, 1968; Viana y Carpintero, 1977; Brewer y col., 1978; Ronderos y col., 1980; Cichero y col., 1984; Carpintero, 1986; Carcavallo y col., 1988; Wisnivesky-Colli y col., 1992). La vasta mayoría de estos hallazgos incidentales, particularmente los hechos antes de mediados de los 1960s previo al comienzo del uso intensivo de insecticidas en Argentina, ocurrieron en áreas altamente infestadas y en hábitats arbolados a distancias de las casas compatibles con el rango de vuelo estimado de *T. infestans* el cual va entre de 200 a 2.000 metros (Schweigmann y col., 1988; Schofield y col., 1992). Las localizaciones exactas frecuentemente no eran claras o eran muy inespecíficas; solo una pequeña fracción de estos hallazgos proveen evidencias de desarrollo de colonias en áreas silvestres (e.g., 75 ejemplares de todos los estadios en una cueva de *Calomys callosus*, en Cichero y col., 1968), y no fue realizada ninguna investigación más sobre la persistencia de tales focos. Ninguno de los reportes citados sobre *T. infestans* colectados en hábitats silvestres por entomólogos experimentados especificó alguna inusual forma melánica. La única excepción conocida fue el reporte de una forma melánica (‘de color negro inmaculado’, según

el autor) como una nueva especie de Triatominae (*Triatoma mazzae*) la cual se basó sobre un triatomino macho adulto en la localidad de Chungara, cerca de La Quiaca, Departamento Yavi, Provincia de Jujuy (Jörg, 1937). Dicho espécimen fue colectado por Salvador Mazza en un "apeadero" (vivienda donde se detenía la gente que viajaba entre Bolivia y los ingenios azucareros argentinos) junto con otros fenotipos normales de *T. infestans*. Posteriormente *T. mazzae* fue sinonimizado a *T. infestans* (Lent y Wygodzinsky, 1979). Debido a que el carácter melánico es recesivo (Noireau, comunicación personal), la ocurrencia de colonias melánicas en un área bien definida indica un aislamiento reproductivo completo de otras poblaciones de *T. infestans* con fenotipos normales. En el sitio original de colección de *T. melanosoma* en Colonia Santa Rosa (Depto. San Ignacio, Prov. de Misiones), 'los especímenes fueron colectados en varias oportunidades en los peridomicilios, especialmente cerca de los gallineros' (Martínez y col., 1987). Posteriormente, un estudio a nivel morfométrico, cromosómico y molecular, además de experimentos de entrecruzamiento, no revelaron diferencias entre *T. melanosoma* y *T. infestans*, sugiriendo que *T. melanosoma* debería representar solamente una población endocriada de *T. infestans* en la cual se fijó un alelo melánico recesivo (Gumiel y col., 2003; Monteiro y col., 1999).

La apariencia cromática de todos los *T. infestans* silvestres colectados (tanto como adultos como las ninfas criadas hasta llegar a adulto) fue radicalmente diferente a la de los *T. infestans* adultos colectados en sitios peridomésticos de las casas locales u otro sitio del chaco argentino. En concordancia con los hallazgos en el chaco boliviano (Noireau y col., 1999), los *T. infestans* silvestres locales tiene una coloración general más oscura que los *T. infestans* (peri)domésticos y manchas amarillentas en el conexivo más pequeñas. Esta coincidencia en los patrones cromáticos podría ser explicada por: i) una única población que experimentó una expansión regional, y ii) el fenotipo melánico se fijó independientemente en dos poblaciones diferentes del chaco boliviano y argentino por deriva genética (debido a que las poblaciones silvestres tienen tamaños poblacionales muy pequeños), o más probablemente por selección natural debido a que la coloración melánica podría ser un carácter adaptativo o estar ligado a otros rasgos adaptativos (i.e., efectos pleiotrópicos). La primer alternativa parece ser la menos probable dada la gran distancia (~800 km) entre los lugares donde se encontraron estas formas melánicas ('dark morphs') en Bolivia (Izozog) y Argentina. Además, no ha sido reportado ningún hallazgo de *T. infestans* melánicos en localidades intermedias, aunque esto podría deberse a un esfuerzo de búsqueda insuficiente o con métodos inadecuados. Distinguir entre estas dos hipótesis va más allá del alcance de esta tesis y requiere más información genética. La existencia de *T. infestans* peridomésticos con fenotipo normal a ~7 km de distancia de los

nidos de loro con formas melánicas sugiere fuertemente que estos últimos podrían representar verdaderas poblaciones silvestres y no una derivación ("derrame") de poblaciones peridomésticas o domésticas.

4.4.2. Hábitats y densidad de T. infestans *melánicos*

Este estudio también identificó el hábitat principal de las formas melánicas de *T. infestans* en nidos de loros localizados dentro de huecos de árboles, principalmente quebrachos blancos. Noireau y colaboradores (1997) reportaron la colección de dos *T. infestans* en 1 de 11 nidos de cotorras (*Myopsitta monacha*), aunque estos nidos fueron mal identificados como pertenecientes a calancates (*A. araticaudata*) (F. Noireau, comunicación personal, 2008). Más tarde, 4 *T. infestans* fueron colectadas en 3 de 46 nidos de *M. monacha* (Noireau y col., 2000a). A diferencia de todas las otras especies de psitácidos, *M. monacha* construye sus nidos coloniales con ramitas o paja sobre las ramas de árboles o inclusive construcciones humanas, y no dentro de huecos de troncos. Posteriormente, Noireau (comunicación personal, 2008) pudo inferir en base a los comentarios de los pobladores locales que varios de los huecos donde encontraron *T. infestans* melánicos en el chaco boliviano eran nidos de psitácidos. El hallazgo de diferentes estadios de desarrollo de *T. infestans* en los huecos de los troncos de árboles con nidos de loros sugiere que este es un ecotopo apropiado para el desarrollo de colonias de *T. infestans*. Estos huecos mantendrían un ambiente medianamente seco, oscuro, que amortigua las oscilaciones térmicas externas, en forma similar a como lo hace una vivienda de tierra y paja. Estos sitios también albergan una amplia diversidad de hospedadores, tales como aves, roedores, murciélagos, lagartijas y serpientes (Berkunsky, datos no publicados), además de ser propicios para una amplia gama de artrópodos como arañas, garrapatas, e insectos tales como redúvidos entomófagos y fitófagos entre otros (observaciones personales).

La densidad aparente de *T. infestans* silvestres en nuestra área de estudio fue más baja que en los otros focos silvestres de Bolivia encontrados con trampas adhesivas. La captura de triatominos por unidad de esfuerzo durante la estación calurosa en el chaco argentino (1,2 triatominos cada 100 trampas-noche, 4/339) fue uno o dos órdenes de magnitud más baja que las registradas en el chaco boliviano (17,3 triatominos cada 100 trampas-noche, Noireau y col., 2000a) y en los valles andinos bolivianos, incluyendo Cotapachi (122,8 triatominos cada 100 trampas-noche, 582/474), Mataral y Jamach'uma (8,3 triatominos cada 100 trampas-noche, 5/60) (Cortez y col., 2007). Aunque las causas de tales diferencias no son claras, es

probable que los afloramientos rocosos en los valles andinos bolivianos provean refugios más apropiados y más hospedadores (roedores y pequeños marsupiales) que los escasos huecos en troncos de árbol con hospedadores residentes y generalmente inestables en el chaco argentino. Por otro lado, el porcentaje de árboles investigados que fueron encontrados infestados por *T. infestans* 'dark morph' (11%) fue similar al del chaco boliviano (15%, Noireau y col., 2000b). Al igual que en Santiago del Estero (capítulo III), los triatominos silvestres de las tres especies capturadas se encontraban con muy poco o ningún contenido sanguíneo, lo que reflejaría la inestabilidad en la disponibilidad de hospedadores y explicaría las bajas densidades de triatominos observadas.

Más allá de lo antedicho, el hecho que *T. infestans* infeste el 1,5% de los árboles examinados (o el 4,5% si se agregan los árboles con nidos de psitácidos; Tabla 4.3), en una zona con alta densidad de este ecotopo (Figura 4.3), indicaría que los *T. infestans* silvestres son mucho más frecuentes en ese medio que lo que normalmente se admite, y que difícilmente esta densidad de individuos (aunque menor comparada a los focos silvestres bolivianos) sea solo explicada por derrames (peri)domiciliarios.

4.4.3. Infección con T. cruzi

A diferencia de los valles andinos bolivianos (Cortez y col., 2007), ningún triatomino silvestre estuvo infectado con *T. cruzi* determinado en forma concluyente (por métodos parasitológicos); esto estaría probablemente relacionado con el menor tamaño muestral y el hecho que los triatominos estaban principalmente asociados con aves (no susceptibles a *T. cruzi*), mientras que en los valles andinos los principales hospedadores de los *T. infestans* silvestres eran roedores y marsupiales. En forma similar, las poblaciones melánicas de *T. infestans* del chaco boliviano también tienen muy baja prevalencia (2,5%) de infección con *T. cruzi* (Noireau y col., 2000b) y también se hallarían asociadas a psitácidos, apoyando la idea que estos triatominos del Gran Chaco tienen una tendencia ornitofílica (Noireau, 2009). Sin embargo, y con las salvedades técnicas antes mencionadas (capítulo III), mediante PCR-kADN se hallaron positivos para *T. cruzi* un 10% (1/10) de los *T. infestans* y 20% (2/10) de los *T. sordida* capturados en nidos de psitácidos, y un *T. infestans* de 4 analizados (capturado en un quebracho colorado).

4.4.4. Utilización de aerosoles fumígenos

El uso de un aerosol fumígeno fue un método eficiente para colectar triatominos ocultos dentro de los huecos de árboles con nidos, mientras que las trampas adhesivas no colectaron ningún *T. infestans* en el interior de árboles con nidos de psitácidos a pesar de haberse usado un mayor esfuerzo de captura que con aerosol fumígeno (51 noches-trampas vs. 18 nidos fumigados). Una explicación probable del por qué las colecciones de triatominos mediante aerosol fumígeno fueron mayores podría ser el hecho que los esfuerzos de muestreo fueron dirigidos a huecos de árboles que habían sido ocupados por los loros poco tiempo antes. Si las trampas con ratón fueran utilizadas cuando está presente el hospedador residente del cual los triatominos normalmente se alimentan (como en los intentos de captura iniciales), o si el hospedador fuera más accesible que el ratón de la trampa, entonces probablemente los triatominos se hallarían bien nutridos y no motivados para tratar de alimentarse del ratón dentro de la trampa suspendida por un hilo, seguramente de acceso más dificultoso que el hospedador habitual del sitio. La principal desventaja de los aerosoles fumígenos es que los insectos son colectados invariablemente muertos, a diferencia de lo que sucede con las trampas adhesivas.

4.4.5. Importancia epidemiológica de las poblaciones silvestres de T. infestans

Generalmente se considera que las poblaciones silvestres de *T. infestans* se hallan aisladas de las poblaciones domésticas más próximas. Dicha idea se basa en los estudios morfométricos, RAPDs y de microsatélites (Carlier y col., 1996; Dujardin y col., 1997ayb; Richer y col., 2007) que demostraron que la reinfestación por *T. infestans* de viviendas que habían sido rociadas con insecticidas en los valles andinos bolivianos se originaba a partir de poblaciones residuales y no de insectos inmigrantes desde focos silvestres. Lo mismo se pudo establecer en la región central de Bolivia a partir de análisis genéticos con isoenzimas de los *T. infestans* reinfestantes de las casas seis meses después del rociado con insecticidas piretroides (Dujardin y col., 1996; este trabajo original erróneamente dice 250 km al SE de Santa Cruz, lo cual sería parte del chaco boliviano, pero es a 250 km al SO es decir al O de Mataral, que no es parte del chaco). Sin embargo, aún no existen suficientes evidencias que permitan asegurar que los *T. infestans* ‘dark morph’ no tienen capacidad de colonizar o recolonizar viviendas tratadas con insecticidas. En este sentido, el hallazgo de dos colonias peridomésticas de *T. infestans* y especímenes infestando las viviendas del chaco occidental

paraguayo que tendrían el fenotipo de los 'dark morph' (Yeo y col., 2005) podrían indicar la eventual invasión de *T. infestans* desde el medio silvestre.

Los hallazgos repetidos de *T. infestans* en hábitats silvestres demuestran que esta especie puede vivir lejos del ambiente humano, en más de una región y en diferentes tipos de ambientes, y es capaz de mantener colonias viables en hábitats silvestres a muy baja densidad. La existencia de focos enzoóticos de infección tiene implicaciones prácticas de importancia. Estos focos pueden permanecer no reconocidos por periodos de tiempo indefinidos, esto es, hasta tanto el hombre no entre en contacto con ellos, constituyendo zonas "silenciosas" del patógeno y representan una amenaza epidemiológica potencial. Por esto, su existencia y localización deben ser reconocidas con el fin de evaluar su riesgo potencial en áreas que pueden ser penetradas por el hombre en varias circunstancias, tales como colonización, construcción de rutas u obras de ingeniería (Barretto, 1967). Una vez que la peligrosidad de tales focos es reconocida, pueden ser evitados por medidas adecuadas a fin de proteger a los individuos contra la infección, juzgando la conveniencia o necesidad de su eliminación dentro de los programas de control de enfermedades. Por lo tanto, el desafío actual es dilucidar el rol de los focos silvestres de *T. infestans* melánicos y típicos como fuente de reinfestación doméstica o peridoméstica luego de las campañas de rociado con insecticidas en el Gran Chaco (Noireau y col., 2005).

4.4.6. Limitaciones del estudio

Al igual que en el capítulo anterior, al trabajar con poblaciones con baja densidad de insectos de tan dificultosa captura, muchos análisis sólo permiten llegar a caracterizar someramente al sistema, sin poder concluir inequívocamente sobre varios aspectos. Por lo tanto, este trabajo pretende aportar un conocimiento básico acerca de la ecología de los *T. infestans* silvestres, un aspecto todavía poco estudiado de la ecología y epidemiología de la enfermedad de Chagas.

Con respecto al rol de los *T. infestans* silvestres en la transmisión de *T. cruzi* se presentan varios inconvenientes. Por un lado, el hecho que la mayoría de los triatominos estuvieron asociados con aves (las cuales son refractarias al parásito) resultaría en una rara ocurrencia de insectos infectados con *T. cruzi*. Otro motivo por el cual no se hallaron triatominos silvestres infectados puede ser atribuido al pobre estado alimenticio de los insectos (ver capítulo III, sección 3.4.6). Otra limitación, que también fue manifestada anteriormente, es que los triatominos colectados mediante fumigaciones están muertos y por

lo tanto no se pudo realizar su análisis parasitológico por M.O. Para saber si está circulando *T. cruzi* (y qué UDTs parasitarias) en el medio silvestre es necesario investigar también su ocurrencia en los mamíferos salvajes de la zona.

Respecto a los patrones de hábitat de los *T. infestans* silvestres, no se ponderó la cantidad de sitios positivos por el esfuerzo de captura para cada tipo de ecotopo debido a que las capturas se realizaron de tres formas diferentes (trampa adhesiva, fumigación, captura ocasional con la mano); no se aplicaron todos los métodos a todos los tipos de ecotopo, y estos métodos tendrían distinta efectividad que podría depender del tipo de ecotopo examinado, entre otras cosas.

Capítulo V

Conclusiones

CONCLUSIONES

El presente trabajo de tesis contribuye al conocimiento del ciclo silvestre de transmisión de *T. cruzi* en comunidades rurales bajo acciones de control químico contra *T. infestans*, y en un área natural protegida del chaco seco argentino. Se destacan los cambios en la prevalencia de infección con *T. cruzi* en los mamíferos silvestres después de dos décadas y el hallazgo de focos silvestres de *T. infestans* en ambas zonas. A partir de los resultados derivados del presente trabajo de tesis podemos concluir:

5.1. Infección por T. cruzi *en mamíferos silvestres*

- En base a la evidencia parasitológica y molecular, se refuerza el papel de las zarigüeyas del género *Didelphis* como principal hospedador silvestre de *T. cruzi* I en la región del Chaco Seco a través de varias décadas y a pesar de los intensos cambios ambientales registrados.

- Los patrones estacionales y etarios de la prevalencia de infección con *T. cruzi* de las zarigüeyas *D. albiventris* entre 2002-2007 fueron similares a los observados en la misma zona entre 1988-1991. Esto sugiere que los procesos de infección subyacentes a estos patrones serían similares en ambos periodos, aunque actuando con diferente intensidad.

- Las curvas de edad-infección en zarigüeyas aumentaron con el tiempo de exposición (edad) después del destete, y son consistentes con la transmisión mediada por un vector.

- La franca declinación en la infección por *T. cruzi* en los hospedadores silvestres ocurrió en un contexto de intensa deforestación combinada con una vigilancia sostenida y un control vectorial periódico de las viviendas de la zona mediante insecticidas.

- Dados los patrones estables de infección con *T. cruzi* de las zarigüeyas observados entre 1984-91 y entre 2002-07, parece poco probable que la disminución de la prevalencia de infección por *T. cruzi* en los hospedadores silvestres halla sido causada por fluctuaciones estocásticas.

- A pesar de no haberse hallado una relación entre la abundancia de zarigüeyas y la degradación ambiental, es esperable que la deforestación tuviera un impacto negativo sobre las zarigüeyas al disminuir su abundancia y el número de refugios en árboles grandes (i.e., huecos en quebrachos), que a su vez son aptos para la mayoría de las especies locales de triatominos por su condiciones microclimáticas. Debido a estos cambios se esperaría que

ocurra una menor tasa de contacto zarigüeya-vector, y por lo tanto una menor probabilidad de transmisión. Por otro lado, una disminución del hábitat de las zarigüeyas aumentaría la presión para que éstas se acercaran a los peridomicilios en búsqueda de alimento, lo cual aumentaría su mortalidad debido a los perros. Dado que las zarigüeyas son un reservorio primario (debido a su elevada prevalencia, parasitemia sostenida e infectividad al vector), la disminución de su abundancia en teoría sería suficiente para disminuir el riesgo de transmisión y reducir la prevalencia de infección en los triatominos asociados bajo condiciones de equilibrio. Son necesarias más investigaciones para identificar el o los procesos ligados al descenso de la prevalencia de infección en las zarigüeyas y los zorrinos.

- El hallazgo paralelo de perros y *T. infestans* domésticos infectados naturalmente con TcI y TcIII en el área de estudio (Cardinal y col., 2008), UDTs que se aislaron respectivamente de las zarigüeyas y el zorrino infectado, abre la posibilidad de la existencia de un solapamiento marginal de los ciclos de transmisión, aunque este se daría en un contexto epidemiológico donde la transmisión (peri)doméstica se encuentra muy deprimida o ausente. En todo caso, que haya un solapamiento entre ciclos de transmisión no significa que el ciclo silvestre no pueda mantenerse independientemente del doméstico, y es de esperar entonces que tenga una menor intensidad de transmisión del parásito que si tiene aportes de parásitos desde el ciclo doméstico.

- La distribución de las diferentes UDTs de *T. cruzi* en proporciones disímiles en ambos ciclos de transmisión indicaría que sería muy poco probable que la prevalencia de infección de las zarigüeyas y los zorrinos dependiese de la prevalencia doméstica de *T. cruzi* dado que las UDTs que infectaban a las zarigüeyas y al zorrino (TcI y TcIII, respectivamente) fueron muy pocos frecuentes en el ciclo doméstico de transmisión de *T. cruzi* (Cardinal, 2008). Parecería mucho más factible que si se solaparan los ciclos, las zarigüeyas y los zorrinos pudieran esporádicamente aportar *T. cruzi* al ciclo doméstico en vez de infectarse a partir de triatominos (peri)domésticos en el contexto eco-epidemiológico actual, con muy baja abundancia de *T. infestans* y con casi nula infección por *T. cruzi*.

- Independientemente de los procesos subyacentes, la declinación de las infecciones de *T. cruzi* en mamíferos silvestres significaría una disminución del riesgo de introducción de cepas y UDTs silvestres dentro del ciclo de transmisión (peri)doméstico.

- De lo anterior se deduce que es necesario realizar más estudios epidemiológico-moleculares en comunidades rurales del chaco argentino para poder evaluar la inter-relación

de los ciclos de transmisión en el presente bajo diferentes grados de conservación ambiental, y el potencial efecto de la introducción de *T. cruzi* desde los hábitats silvestres a los domésticos.

5.2. Focos silvestres de T. infestans

5.2.1. Focos en un área rural de chaco seco santiagueño

- Se comprobó que *T. infestans* puede sobrevivir en el ambiente silvestre, al menos temporalmente, llegando incluso a formar colonias en el contexto de una reducida infestación (peri)doméstica.
- Distintas técnicas (genéticas, morfométricas y análisis espacial) brindaron evidencias consistentes con la existencia de flujo génico entre poblaciones de *T. infestans* (peri)domésticas y silvestres, y que los especímenes silvestres recolectados podrían ser derivados de poblaciones domésticas o peridomésticas.
- Los hábitats silvestres podrían servir como "refugios" de los triatominos frente a las acciones de control vectorial, pudiendo formar poblaciones temporales originadas por escapes (peri)domésticos que a su vez podrían actuar como una posible fuente de reinfestación para los sitios (peri)domésticos. A estos hábitats eventualmente podrían regresar los descendientes de los emigrantes originales en búsqueda de hospedadores y condiciones de hábitat más favorables y estables que las que hay en el medio silvestre. Respecto a este punto resulta interesante el estudio del efecto repelente y dispersivo que pudieran tener los rociados con insecticidas (e.g., piretroides) sobre los triatominos.
- Estos aspectos cobran vital importancia teniendo en cuenta que el medio silvestre está siendo degradado por las actividades agropecuarias (e.g., ganado vacuno, cultivo de soja, etc.) y de producción de postes, leña y carbón en la zona, y por lo tanto aumentaría la probabilidad que las poblaciones silvestres de *T. infestans* invadan los sitios domésticos o peridomésticos en búsqueda de refugio y fuentes de alimentación más estables.

5.2.2. T. infestans *silvestres melánicos en un área protegida del chaco argentino*

- Se confirmó que *T. infestans* puede sobrevivir y mantener colonias en el medio silvestre no explotado y en ausencia de población humana residente y de sus animales domésticos.

- Basado en una amplia búsqueda de evidencias previas, se puede concluir que éste es el primer hallazgo confirmado de colonias de *T. infestans* enteramente silvestres y de formas melánicas en Argentina.

- Existe una asociación de *T. infestans* con los psitácidos (*A. aestiva* y *A. acuticaudata*) que anidan principalmente en los troncos huecos de los quebrachos blancos (*A. quebracho-blanco*) de la zona.

- El hallazgo de estos focos de *T. infestans* silvestres en un área protegida (formando poblaciones fenotípica y genéticamente diferenciadas) cuestionan la hipótesis de distribución actual de la especie, la cual postula que la misma estaría distribuída sólo a lo largo de un sistema de "parches" relacionados con la actividad humana.

- El hallazgo de estos *T. infestans* melánicos indica que no se hallan restringidos al chaco boliviano, y que probablemente se hallen difundidos en todo el Gran Chaco, para lo cual sería apropiado realizar más estudios similares en otras zonas de la región para determinar cuán propagadas se hallan estas poblaciones.

5.3. Triatominos silvestres infectados con T. cruzi

- El hallazgo mediante técnicas moleculares de *T. infestans* silvestres infectados con *T. cruzi*, tanto en Santiago del Estero como los melánicos de la Reserva Natural, abre la posibilidad que estos triatominos puedan actuar como vectores en el medio silvestre.

- De la misma manera fue establecida la infección con *T. cruzi* de varios ejemplares de *T. guasayana*. Estos resultados, sumados a trabajos previos que demuestran que *T. guasayana* fue la especie silvestre más abundante y que se hallaba frecuentemente infectada con *T. cruzi* en el chaco seco, brindan apoyo a que *T. guasayana* podría ser el principal vector silvestre del *T. cruzi* en esta región.

- El hecho que la detección de infección de los triatominos no haya sido exitosa o realizada por métodos parasitológicos (i.e., microscopía, inoculación de heces en animales de laboratorio, etc.) no permite establecer la real competencia vectorial de ambas especies de triatominos en hábitats silvestres. La sola detección de ADN de *T. cruzi* no implica que el triatomino haya tenido o liberado una carga de parásitos capaz de infectar a un hospedador. Tampoco se puede afirmar que los triatominos que fueron positivos por PCR-kADN nunca hayan tenido un número suficiente de parásitos suficiente como para transmitir la infección bajo ciertas condiciones microclimáticas. El estudio del desarrollo de *T. cruzi* en estos

triatominos en las condiciones que se ven expuestos en el medio silvestre podría dar luz a estos interrogantes.

5.4. Consideraciones finales

A partir de los resultados derivados del presente trabajo de tesis se derivan las siguientes implicancias:

- Si existieran focos silvestres en todo el rango de distribución actual de *T. infestans*, podría existir el riesgo no trivial que estos focos actuaran como refugios temporarios o permanentes de triatominos luego de que se aplicaran acciones de control en ámbitos domésticos. En tal caso podrían aportar inmigrantes para la reinfestación de las viviendas, como se ha observado en otras especies (e.g., *Triatoma dimidiata* en Méjico y *Rhodnius prolixus* en Venezuela). La extensión y magnitud de los focos silvestres de *T. infestans* debe ser estudiada exhaustivamente para evaluar los riesgos de reinfestación desde éstos.
- La existencia de mamíferos silvestres reservorios de *T. cruzi* implica una fuente no controlada de parásitos que podrían (re)introducir al patógeno en zonas donde el ciclo doméstico estuviera controlado o definitivamente interrumpido. Por lo tanto, los programas de control de la transmisión de *T. cruzi* deberían considerar la incorporación de estrategias para informar a los pobladores rurales y prevenir los contactos entre los animales infectados y el hombre en áreas donde dicho riesgo sea de magnitud apreciable.
- Dado el rápido avance del hombre sobre las áreas boscosas en algunas regiones, entre ellas el “Impenetrable Chaqueño”, y con el consiguiente aumento de la chance de contacto entre los humanos, los animales domésticos y la fauna silvestre, es de suponer que al haber focos silvestres de *T. infestans* el proceso de domiciliación de estos triatominos podría ocurrir nuevamente. Esto ocurrió en el pasado cuando la enfermedad pasó de ser una enzootia exclusiva de los mamíferos silvestres a un problema de salud pública.

En definitiva, es importante clarificar cuál es la extensión y el papel de las poblaciones silvestres de *T. infestans* en el proceso de reinfestación doméstica y peridoméstica en zonas tratadas con insecticidas, y conjuntamente con los mamíferos silvestres, cuáles son sus roles en el mantenimiento del ciclo de transmisión silvestre de *T. cruzi* en el Gran Chaco y la (re)introducción de este parásito en el ambiente humano. Estos puntos podrían acompañar e integrarse a la resolución de otros problemas prioritarios vinculados a la aplicación y efectividad de las acciones de control (i.e., rociados efectivos y mejoramiento de las viviendas) y su sostenimiento en áreas rurales del Gran Chaco.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abalos J.W. y Wygodzinsky P. 1951. Las Triatominae Argentinas (Reduviidae, Hemiptera). Ed.: Universidad Nacional de Tucumán. Publicación 601. Monografía Nº2. Instituto de Medicina Regional, Tucumán, Argentina. 179 pág.

Abdussalam M. 1959. Significance of Ecological Studies of Wild Animal Reservoirs of Zoonoses. Bulletin of Word Health Organization. 21: 179-186.

Albarracin-Veizaga H., de Carvalho M.E., Nascimento E.M., Rodrigues V.L., Casanova C., Barata J.M. 1999. Chagas disease in an area of recent occupation in Cochabamba, Bolivia. Revista de Saude Publica. 33: 230-236.

Alvarado-Otegui J.A. 2009. El ciclo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en mamíferos silvestres en una zona rural del Chaco húmedo. Seminario de Licenciatura FCEN-UBA. 46 pág.

Bacigalupo B.A., Segura M.J.A., Garcia C.A., Hidalgo C.J., Galuppo G.S., Cattan P.E. 2006. Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile. Revista Médica de Chile. 134: 1230-1236.

Bar M.E., Alvarez B.M., Oscherov E.B., Damborsky M.P., Jörg M.E. 1999. Contribución al conocimiento de los reservorios del *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) en la provincia de Corrientes, Argentina. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 32: 271-276.

Bargues M.D., Klisiowicz D.R., Panzera F., Noireau F., Marcilla A., Perez R., Rojas M.G., O'Connor J.E., Gonzalez-Candelas F., Galvao C. 2006. Origin and phylogeography of the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* based on nuclear rDNA sequences and genome size. Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases. 6: 46-62.

Barretto M.P. 1967. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*, XVII: Contribuição para o estudo dos focos naturais da tripanosomíase americana, com especial referência à região nordeste do Estado de São Paulo. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1: 23-35.

Barretto M.P. 1972. Reservatórios do *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* Chagas, 1909. Simposio internacional sobre enfermedad de Chagas. Sociedad Argentina de Parasitología. Buenos Aires. Diciembre 1972: 357-370

Barretto M.P. 1975. Possible role of wild mammals and triatomines in the transmission of *Trypanosoma cruzi* to man. En: New Approaches in American Trypanosomyasis Research. Scientific Publication No. 318. Ed.: Pan American Health Organization.

Barretto MP. 1979. Epidemiología. En: *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 1ª edición Ed.: Brenner Z. y Andrade Z.A. Editorial Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, Brasil, pág. 89-151

Barretto M.P. 1985. Reservorios del *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* (Chagas 1909). En: Factores biológicos y ecológicos en la Enfermedad de Chagas. Ed.: Carcavallo R.U., Rabinovich J.E., Tonn R.J.. OPS-ECO/MSAS-SNCH, Buenos Aires. Vol. II, pág. 237-250.

Barretto M.P., Siqueira A.F., Corréa F.M.A. 1963. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. I. Encontro do *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) em ecótopos silvestres. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 5: 289-293.

Basso B., Eraso A.J., Moretti E.R., Albesa I., Kravetz F.O. 1977. Natural infection of Calomys musculinus (Rodentia, Cricetidae) by *Trypanosoma cruzi*. Revista de la Asociación Argentina de Microbiología. 9: 11-16.

Basso B., Moretti E., Albesa I., Eraso A., Kravetz F., D'Alessandro A. 1982. Natural infection of *Akodon dolores*, Thomas, 1916 (Rodentia, Cricetidae) by *Trypanosoma cruzi*. . Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 24:21-6.

Bejarano J.F.R. 1967. Estado selvático de *Triatoma infestans* y otros aspectos a tener en cuenta para la eliminación de la enfermedad de Chagas. Segundas Jornadas de Entomoepidemiología Argentinas. 3: 171-196.

Berkunsky I. y Reboreda J.C. 2008. Nest-site fidelity and cavity reoccupation by Blue-fronted Parrots *Amazona aestiva* in the dry Chaco of Argentina. Ibis. 151: 145-150.

Bosseno M.F., García L.S., Baunaure F., Gastelúm E.M., Gutierrez M.S., Kasten F.L., Dumonteil E., Brenière S.F. 2006. Identification in triatomine vectors of feeding sources and *Trypanosoma cruzi* variants by heteroduplex assay and a multiplex miniexon polymerase chain reaction. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 74: 303-305.

Brener Z. 1985. General review on *Trypanosoma cruzi* classification and taxonomy. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 18: 1-8.

Breniere S.F., Bosseno M.F., Vargas F., Yaksic N., Noireau F., Noel S., Dujardin J.P., Tibayrenc M. 1998. Smallness of the panmictic unit of Triatoma infestans (Hemiptera: Reduviidae). Journal of Medical Entomology. 35: 911-917.

Brewer M.M., Garay M.E. 1951. Identificación de los estadios ninfales del género *Triatoma Laporte* 1833 (Hemiptera:Reduviidae). IV. Especies peridomiciliadas en la provincia de Córdoba, Argentina. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina. 45: 279-297.

Brewer M., Arguello N., Delfino M., Gorla D. 1978. Parasitismo natural de *Telenomus fariai* Costa Lima 1927 (Hymenoptera, Scelionidae) en monte, y presencia de *Pronoanastatus excavatus* De Santis, 1952 (Hymenoptera, Eupelmidae), parasitoide oófago de Triatominae en el Departamento Cruz del Eje, Córdoba, República Argentina. Continues: Anais da Sociedade Entomologica do Brasil. 7: 141-154.

Briceño-León R. 1990. La casa enferma. Ed.:Fondo Editorial Acta Científica de Venezuela y Consorcio de Ediciones Capriles. Caracas, Venezuela. 149 pág.

Brisse S., Barnabé C., Tibayrenc M. 2000. Identification of six *Trypanosoma cruzi* phylogenetic lineages by random amplified polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis. International Journal for Parasitology. 30: 35-44.

Bucher E.H., Schofield C.J. 1981. Economic assault on Chagas disease. New Scientist. 29: 321-325.

Bucher E.H., Huszar P.C. 1999. Sustainable management of the Gran Chaco of South America: Ecological promise and economic constraints. Journal of Environmental. Management. 57: 99-108.

Burgos J.M., Begher S.B., Freitas J.M., Bisio M., Duffy T., Altcheh J., Teijeiro R., Lopez Alcoba H., Deccarlini F., Freilij H., Levin M.J., Levalle J., Macedo A.M., Schijman A.G. 2005. Molecular diagnosis and typing of *Trypanosoma cruzi* populations and lineages in cerebral Chagas disease in a patient with AIDS. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 73: 1016-1018.

Burgos J.M., Altcheh J., Bisio M., Duffy T., Valadares H.M., Seidenstein M.E., Piccinali R., Freitas J.M., Levin M.J., Macchi L., Macedo A.M., Freilij H., Schijman A.G. 2007. Direct molecular profiling of minicircle signatures and lineages of *Trypanosoma cruzi* bloodstream

populations causing congenital Chagas disease. International Journal for Parasitology. 37: 1319-1327.

Burgos J.M., Begher S., Valadares Silva H.M., Bisio M., Duffy T., Levin M.J., Macedo A.M., Schijman A.G. 2008. Case Report: Molecular Identification of *Trypanosoma cruzi* I Tropism for Central Nervous System in Chagas Reactivation Due to AIDS. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 78(2): 294-297

Canal-Feijóo E.J . 1939. Vectores, depósitos parasitarios y casos clínicos de la enfermedad de Chagas en la Provincia de Santiago del Estero. Actas y Trabajos del VI Congreso Nacional de Medicina, Córdoba, Argentina. 1: 97-113.

Canale D.M. y Carcavallo R.U. 1985. *Triatoma infestans* (Klug). En: Factores biológicos y ecológicos en la Enfermedad de Chagas. Ed.: Carcavallo R.U., Rabinovich J.E., Tonn R.J.. OPS-ECO/MSAS-SNCH, Buenos Aires. Vol. I, pág. 237-250.

Canale D.M., Cecere M.C., Chuit R., Gürtler R.E. 2000 Peridomestic distribution of *Triatoma garciabesi* and *Triatoma guasayana* in northwest Argentina. Medical and Veterinary Entomology. 14: 383-390.

Carbajo A.E., Schweigmann N.J., Vezzani D., Wisnivesky-Colli C. 1996. Mayor actividad del zorrino (*Conepatus chinga*) en los alrededores de las casas del monte santiagueño. Actas de las XI Jornadas Argentinas de Mastozoología. San Luis, Argentina, 13 al 15 de noviembre.

Carcavallo R.U. 1985. Técnicas de estudio de triatominos en ambiente silvestre. En: Factores biológicos y ecológicos en la Enfermedad de Chagas. Ed.: Carcavallo R.U., Rabinovich J.E., Tonn R.J.. OPS-ECO/MSAS-SNCH, Buenos Aires. Vol. I, pág. 49-52.

Carcavallo R.U. y Martinez A. 1968. Entomoepidemiología de la República Argentina. Investigaciones Científicas de las Fuerzas Armadas Argentinas. 1: 76-92.

Carcavallo R.U., Canale D.M., Martínez A.M. 1988. Hábitats de triatominos argentinos y zonas ecológicas donde prevalecen. Chagas. 5: 8-17.

Cardinal M.V. 2008. Eco-epidemiología de los ciclos de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en el noroeste de argentina. Tesis de Doctorado. FCEN-UBA. 143 pág.

Cardinal M.V., Castañera M.B., Lauricella M.A., Cecere M.C., Ceballos L.A., Vazquez-Prokopec G.M., Kitron U., Gürtler R.E. 2006. A prospective study of the effects of sustained vector surveillance on *Trypanosoma cruzi* infection of dogs and cats in rural northwestern Argentina. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 75: 753-761.

Cardinal M.V., Lauricella M.A., Marcet P.L., Orozco M.M., Kitron U., Gürtler R.E. 2007. Impact of community-based vector control on house infestation and *Trypanosoma cruzi* infection in *Triatoma infestans,* dogs and cats in the Argentine Chaco. Acta Tropica. 103: 201-211.

Cardinal M.V., Lauricella M.A., Ceballos L.A., Lanati L., Marcet P.L., Levin M.J., Kitron U., Gürtler R.E., Schijman A.G. 2008. Molecular epidemiology of domestic and sylvatic *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. International Journal for Parasitology. 3: 1533-1543.

Carlier L., Muñoz M., Dujardin J.P. 1996. RAPD. En: Proceedings of the First International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae. Ed.: Schofield C.J., Dujardin J.P., Jurberg J. INDRE, Ciudad de Méjico, pág. 81-83.

Carpenter J.W., Mashima T.Y., Rupiper D.J. 2001. Exotic Animal Formulary, 2º edición. Ed.: W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Carpintero D.J. 1986. Aporte al conocimiento de los triatominos en la Argentina. Segunda comunicación. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia. 4: 113-127.

Castañera, M.B., Lauricella, M.A., Chuit, R., Gürtler, R.E. 1998. Evaluation of dogs as sentinels of the transmission of *Trypanosoma cruzi* in a rural area of north-western Argentina. Annals of Tropical Medicine and Parasitology. 92: 671-683.

Ceballos L.A. 2002. Denso-dependencia del estado nutricional y de la frecuencia de alimentación de *Triatoma infestans* (Heteroptera; Reduviidae) en ecotopos peridomésticos de un área rural santiagueña. Seminario de Licenciatura FCEN-UBA. 65 pág.

Ceballos L.A., Vazquez-Prokopec G.M., Cecere M.C., Marcet P.L., Gürtler R.E. 2005. Feeding rates, nutritional status and flight dispersal potential of peridomestic populations of *Triatoma infestans* in rural northwestern Argentina. Acta Tropica. 95: 149-159.

Ceballos L.A,. Cardinal M.V., Vazquez-Prokopec G.M., Lauricella M.A., Orozco M.M., Cortinas R., Schijman A.G., Levin M.J., Kitron U., Gürtler R.E. 2006. Long-term reduction of *Trypanosoma cruzi* infection in sylvatic mammals following deforestation and sustained vector surveillance in northwestern Argentina. Acta Tropica. 98: 286-296.

Ceballos L.A., Piccinali R.V., Berkunsky I., Kitron U., Gürtler R.E. 2009. First finding of melanic sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Argentine Chaco Journal of Medical Entomology. 46: 1195-1202.

Ceballos L.A.., Piccinali R.V., Marcet P.L., Vazquez-Prokopec G.M., Cardinal M.V., Schachter-Broide J., Dujardin J.P., Dotson E.M., Kitron U., Gürtler R.E. Hidden sylvatic foci of *Triatoma infestans*, the main vector of Chagas disease, in the Gran Chaco: threats to the vector elimination campaign?. En preparación.

Cecere M.C., Gürtler R.E., Canale D., Chuit R., Cohen J.E. 1997. The role of peridomiciliary area in the elimination of *Triatoma infestans* from rural Argentine communities. Pan American Journal of Public Health. 1: 273-279.

Cecere M.C., Gürtler R.E., Chuit R., Cohen J.E. 1998. Factors limiting the domestic density of *Triatoma infestans* in north-west Argentina: a longitudinal study. Bulletin of the World Health Organization. 76: 373-384.

Cecere M.C., Castañera M.B., Canale D.M., Chuit R., Gürtler R.E. 1999. Trypanosoma cruzi infection in Triatoma infestans and other triatomines: long-term effects of a control program in a rural area of northwestern Argentina. Revista Panamericana de Salud Pública. 5: 392-399.

Cecere M.C., Gürtler R.E., Canale D., Chuit R., Cohen J.E. 2002. Effects of partial housing improvement and insecticide spraying on the reinfestation dynamics of *Triatoma infestans* in rural northwestern Argentina. Acta Tropica. 84: 101-116.

Cecere M.C., Vazquez-Prokopec G.M., Gürtler R.E., Kitron U. 2004. Spatio-temporal analysis of reinfestation by *Triatoma infestans* (Hemiptera: reduviidae) following insecticide spraying in a rural community in northwestern Argentina. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 71: 803-810.

Cecere M.C., Vazquez-Prokopec G.M., Ceballos L.A., Gurevitz J.M., Zárate J.E., Zaidenberg M., Kitron U., Gürtler R.E. 2006a. Comparative trial of the effectiveness of pyrethroid insecticides against peridomestic populations of *Triatoma infestans* in northwestern Argentina. Journal of Medical Entomology. 43: 902-909.

Cecere M.C., Vazquez-Prokopec G.M., Gürtler R.E., Kitron U. 2006b. Reinfestasión sources for Chagas enfermedad vector, *Triatoma infestans*, Argentina. Emerging Infectious Diseases. 12: 1096-1102.

Chagas C. 1909. Nova tripanozomiaze humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. Gen., n. Sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 1: 159-218.

Chagas C. 1912. Sobre um tripanosomo do Tatu. (*Tatusia novemcinctia*) transmitido pelo *T. geniculata* Latreille 1811. Possibilidade de ser o tatu um depositario do *Trypanosoma cruzi* no mundo exterior. Revista Brasileira de Medicina. 26: 305-306.

Chagas C. 1918. Papel do tatu (*Tatusia novemcinctia*) na transmissão do *Trypanosoma cruzi.* Revista Medica de Cirurgia do Brazil. 26: 220-223.

Chander G., Markham B.L., Barsi J.A. 2007. Revised Landsat-5 Thematic Mapper Radiometric Calibration. IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters. Vol. 4: 490-494.

Chavez P.S. 1996. Image-Based Atmospheric Corrections-Revisited and Improved. En: Photogrammetric Engineering and Remote Sensing, pág. 1025-1036.

Chuvieco E. 1990. Fundamentos de teledetección espacial. Ed.: Rialp. Madrid, España.

Cichero J.A., Giménez A.L., Martínez A. 1984. Estudio de los vectores de la Enfermedad de Chagas en ambientes silvestres, peridomésticos y domésticos. Chagas. 1: 33-37.

Cohen J.E. y Gürtler R.E. 2001. Modeling household transmission of American Trypanosomiasis. Science. 293: 694-698.

Conti O., Schweigmann N.J., Pietrokovsky S. Bottazzi V., Wisnivesky-Colli C. 1995. Search for *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of wild *Didelphis albiventris* from Santiago del Estero, Argentina. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 90: 687-688.

Cortez M.R., Pinho A.P., Cuervo P., Alfaro F., Solano M., Xavier S.C., D'Andrea P.S., Fernandes O., Torrico F., Noireau. F., Jansen A.M. 2006. *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida Trypanosomatidae): ecology of the transmission cycle in the wild environment of the Andean valley of Cochabamba, Bolivia. Experimental Parasitology. 114: 305-313.

Cortez M.R., Emperaire L., Piccinali R.V., Gürtler R.E., Torrico F., Jansen A.M., Noireau F.. 2007. Sylvatic *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) in the Andean valleys of Bolivia. Acta Tropica. 102: 47-54.

Coura J.R. 2007. Uma visão sistêmica da endemia chagásica. En: La enfermedad de Chagas. A la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral. Balance y futuro, 1909-2006. Chagas, hacia el Siglo XXI. Ed.: Silveira A.C. Organización Panamericana de la Salud, Fundación Mundo Sano. Pág. 25-35.

Coura J.R., Junqueira A.C.V., Fernandes O., Valente S.A.S., Miles M.A. 2002. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. Trends in Parasitology. 18: 171-176.

Engman D.M. y Leon J.S. 2002. Pathogenesis of Chagas heart disease: role of autoimmunity. Acta Tropica. 81: 123-132.

De Luca D´Oro G.M., Gardenal C.N., Perret B., Crisci J.V., Montamat E.E. 1993. Genetic structure of *Trypanosoma cruzi* populations from Argentina estimated from enzyme polymorphism. Parasitology. 107: 405-410.

Deane M.P., Mangia R.H.R., Pereira N.M., Momen H., Gonçalves A.M., Morel M. 1984a. *Trypanosoma cruzi*: strain selection by different schedules of mouse passage of an initially mixed infection. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 79: 495-497.

Deane M.P., Sousa M.A., Pereira N.M., Gonçalves A.M., Momen H., Morel M. 1984b. *Trypanosoma cruzi*: inoculation schedules and re-isolation methods select individual strains from doubly infected mice, as demonstrated by schizodeme and zymodeme analyses. Journal of Protozoology. 31: 276-280.

Di Noia J.M., Buscaglia S.A., De Marchi C.R., Almeida I.C., Frasch A.C.C. 2002. A *Trypanosoma cruzi* small surface molecule provides the first immunological evidence that the Chagas disease is due to a single parasite lineage. J Exp Med 195(4): 401-413.

Dias J.C.P., Dias R.B. 1982. Housing and control of vectors of human Chagas disease in state of Minas Gerais, Brazil. Bulletin of Pan American Health Organization. 16: 117-129.

Dias J.C.P., Silveira A.C., Schofield C.J. 2002. The impact of Chagas disease control in Latin America: a review. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 97: 603-612.

Diosque P., Barnabé C., Padilla A.M., Marco J.D., Cardozo R.M., Cimino R.O., Nasser J.R., Tibayrene M., Basombrío M.A. 2003. Multilocus enzyme electrophoresis analysis of *Trypanosoma cruzi* isolates from a geographically restricted endemic area for Chagas´disease in Argentina. International Journal for Parasitology. 33: 997-1003.

Diosque P., Padilla A., Cimino R.O., Cardozo R.M., Sanchez-Negrette O., Marco J.D., Zaca R., Meza C., Juarez A., Rojo H., Rey R., Corrales R.M., Nasser J.R., Basombrío M.A. 2004. Chagas' disease in rural areas of Chaco province, Argentina: epidemiologic survey in humans, reservoirs, and vectors. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 71: 590-593.

Diotaiuti L., Pereira A.S., Loiola C.F., Fernandes A.J., Schofield J.C., Dujardin J.P., Pinto Dias J.C., Chiari E. 1995. Inter-relation of sylvatic and domestic transmission of *Trypanosoma cruzi* in areas with and without domestic vectorial transmission in Minas Gerais, Brasil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 90: 443-448.

Donadio E., DiMartino S., Aubone M., Novaro A.. 2001. Activity patterns, home-range, and habitat selection of the common hog-nosed skunk, *Conepatus chinga* (Mammalia, Mustelidae), in northwestern Patagonia. Mammalia. 65: 49-54.

Dujardin J.P., Cardozo L., Schofield C.J.. 1996. Genetic analysis of *Triatoma infestans* following insecticidal control interventions in central Bolivia. Acta Tropica. 61: 263-266.

Dujardin J.P., Bermudez H., Casini C., Schofield C.J., Tibayrenc M. 1997a. Metric differences between silvatic and domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) in Bolivia. Journal of Medical Entomology. 34: 544-551.

Dujardin J.P., Bermudez H., Schofield C.J. 1997b. The use of morphometrics in entomological surveillance of silvatic foci of *Triatoma infestans* in Bolivia. Acta Tropica. 66: 145-153.

Dujardin J.P., Schofield C.J., Tibayrenc M. 1998. Population structure of Andean *Triatoma infestans*: an isozymic study and its epidemiological relevance. Medical and Veterinary Entomology. 12: 20-29.

Dujardin J.P., Tibayrenc M., Venegas E., Maldonado P., Desjeux P., Ayala F.J. 1987. Isozyme evidence of lack of speciation between wild and domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera : Reduviidae) in Bolivia. Journal of Medical Entomology. 24: 40-45.

FAO. 1996. Forest Resources Assessment 1990. Survey of tropical forest cover and study of change processes. Nº 130, Roma, Italia.

FAO. 2001. Global Forest Resources Assessment 2000. FAO Forestry Paper 140. Roma, Italia. [http:/www.fao.org/forestry/site/fra2000report/en]

Fernandes A.J., Chiari E., Ribeiro-Rodrigues R., Pinto Dias J.C., Romanha A.J. 1991. The importance of the opossum (*Didelphis albiventris*) as a reservoir for *Trypanosoma cruzi* in Bambuí, Minas Gerais State. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 86: 81-85.

Fernandes A.J., Luz Z.M., Vitor R.W., Diotaiuti L., Chiari E. 1994a. Possibility of spontaneous cure in opossums (*Didelphis albiventris*) naturally infected by *Trypanosoma cruzi*. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 36: 471-473.

Fernandes A.J., Diotaiuti L., Dias J.C.P., Romanha A.J., Chiari, E. 1994b. Inter.-relações entre os ciclos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Municipio de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Cadernos de Saude Publica. 10: 473-480.

Fernandes O., Santos S.S., Junqueira A.C.V., Jansen A.M., Cupolillo E., Campbell D.A., Zingales B., Coura J.R. 1999. Populational heterogeneity of Brazilian Trypanosoma cruzi isolates revealed by the mini-exon and ribosomal spacers. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 94: 195-198.

Ferro L.I. y Martínez J.J.. 2009. Molecular and morphometric evidence validates a Chacoan species of the grey leaf-eared mice genus *Graomys* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae). Mammalia. 73: 265-271

Forattini O.P. 1980. Biogeografía, origem e distribucao da domiciliaco de Triatominos no Brasil. Revista do Saúde Pública de São Paulo. 14: 265-299.

Gajate P.P., Bottazzi M.V., Pietrokovsky S.M., Schweigmann N.J., Petersen R., Wisnivesky-Colli C. 1995. Fuentes de alimentación de *Triatoma infestans*, *Triatoma guasayana* y *Triatoma sordida* del peridomicilio de Trinidad, Santiago del Estero. XII Congreso Latinoamericano de Parasitología. Santiago, Chile, 21 a 27 de octubre. Parasitología al Día. Número extraordinario. Vol. 19, pág. 233.

Gajate P.P., Bottazzi M.V., Pietrokovsky S.M., Wisnivesky-Colli C. 1996. Potential colonization of the peridomicile by *Triatoma guasayana* (Hemiptera: Reduviidae) in Santiago del Estero, Argentina. Journal of Medical Entomology. 33: 635-639.

Galuppo S., Bacigalupo A., García A., Ortiz S., Coronado X., Cattan P.E., Solari A.. 2009. Predominance of *Trypanosoma cruzi* genotypes in two reservoirs infected by sylvatic *Triatoma infestans* of an endemic area of Chile. Acta Tropica. 111: 90-93.

García B.A. y Powell J.R.. 1998. Phylogeny of species of Triatoma (Hemiptera: Reduviidae) based on mitochondrial DNA sequences. Journal of Medical Entomology. 35: 232-238.

Gardner A.L. (Editor). 2007. Mammals of South America, Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats. The University of Chicago Press Chicago and London. Pág. 669.

Gaunt M.W., Yeo M., Frame I.A., Stothard J.R., Carrasco H.J., Taylor M.C., Mena S.S., Veazey P., Miles G.A., Acosta N., de Arias A.R., Miles M.A. 2003. Mechanism of genetic exchange in American trypanosomes. Nature. 421: 936–939.

Getis A., Ord J.K. 1996. Local spatial statistics: an overview. En Spatial analysis modelling in a GIS environment. Ed.: Longley P. y Batty M. GeoInformation International. Pág. 269-285.

Gorla D.E. 2002. Variables ambientales registradas por sensores remotos como indicadores de la distribución geográfica de *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). Ecología Austral. 12: 117-127.

Gorla D.E., Catalá S.S., Hrellac H., Porcasi X., Moreno M., Abrahan L., Hernandez L. 2007. Persistente infestación por *Triatoma infestans* en la región sur del Gran Chaco en Argentina. En: Taller del Cono Sur, Actualización de la Tripanosomiasis Americana, Asunción, Paraguay, Abril 25-27. Pág. 121-127.

Grisard E.C., Carvalho-Pinto C.J., Scholz A.F., Toma H.K., Schlemper B.R. Jr., Steindel M. 2000. *Trypanosoma cruzi* infection in *Didelphis marsupialis* in Santa Catarina and Arvoredo Islands, Southern Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 95: 795-800.

Gürtler R.E. 2007. Eco-epidemiología regional de la transmisión vectorial: Enfermedad de Chagas en el Gran Chaco. En: La enfermedad de Chagas. A la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral. Balance y futuro, 1909-2006. Chagas, hacia el Siglo XXI. Ed.: Silveira A.C. Organización Panamericana de la Salud, Fundación Mundo Sano. Pág. 136-155

Gürtler R.E. 2009. Sustainability of vector control strategies in the Gran Chaco Region: current challenges and possible approaches. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 104 (Suppl. I): 52-59.

Gürtler R.E., Cécere M.C., Rubel D.N., Petersen R.M., Schweigmann N.J., Lauricella M.A., Bujas M.A., Segura E.L., Wisnivesky-Colli, C. 1991. Chagas disease in north-west Argentina: infected dogs as a risk factor for the domestic transmission of *Trypanosoma cruzi*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 85: 741-745.

Gürtler R.E., Cecere M.C., Rubel D.N., Schweigmann N.J. 1992. Determinants of the domiciliary density of *Triatoma infestans*, vector of Chagas disease. Medical and Veterinary Entomology. 6: 75-83.

Gürtler R.E., Cecere M.C., Petersen R.M., Rubel D.N., Schweigmann N.J. 1993. Chagas disease in north- west Argentina: association between *Trypanosoma cruzi* parasitaemia in dogs and cats and infection rates in domestic *Triatoma infestans*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 87: 12-15.

Gürtler R.E., Petersen R.M., Cecere M.C., Schweigmann N.J., Chuit R., Gualtieri J.M., Wisnivesky-Colli C. 1994. Chagas disease in north-west Argentina: risk of domestic reinfestation by *Triatoma infestans* after a single community-wide application of insecticides. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 88: 27-30.

Gürtler R.E., Cecere M.C., Castañera M.B., Canale D., Lauricella M.A., Chuit R., Cohen J.E., Segura E.L. 1996. Probability of infection with *Trypanosoma cruzi* of the vector *Triatoma infestans* fed on infected humans ans dogs in Northwest Argentina. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 55: 24-31.

Gürtler R.E., Cohen J.E., Cecere M.C., Chuit R. 1997. Shifting host choices of the vector of Chagas disease *Triatoma infestans* in relation to the availability of hosts in houses in north-west Argentina. The Journal of Applied Ecology. 34: 699-715.

Gürtler R.E., Cohen J.E., Cecere M.C., Lauricella M.A., Chuit R., Segura E.L. 1998. Influence of humans and domestic animals on the household prevalence of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma infestans* populations in northwest Argentina. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 58: 748-758.

Gürtler R.E., Cecere M.C., Canale D.M., Castañera M.B., Chuit R., Cohen J.E. 1999. Monitoring house reinfestation by vectors of Chagas disease: a comparative trial of detection methods during a four-year follow-up. Acta Tropica. 72: 213-234.

Gürtler R.E., Canale D.M., Spillmann C., Stariolo R., Salomón O.D., Blanco S., Segura E.L. 2004. Effectiveness of residual spraying with deltamethrin and permethrin on peridomestic populations of *Triatoma infestans* in rural western Argentina: a district-wide randomized trial. Bulletin World Health Organization. 82: 196-205.

Gürtler R.E., Cecere M.C., Lauricella M.A., Petersen R.M., Chuit R., Segura E.L., Cohen J.E. 2005. Incidence of *Trypanosoma cruzi* infection among children following domestic reinfestation after insecticide spraying in rural northwestern Argentina. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 73: 95-103.

Gürtler R.E., Cecere M.C., Lauricella M.A., Cardinal M.V., Kitron U., Cohen J.E. 2007a. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. Parasitology. 134: 69-82.

Gürtler R.E., Kitron U., Cecere M.C., Segura E.L., Cohen J.E. 2007b. Sustainable vector control and management of Chagas disease in the Gran Chaco, Argentina. Proceedings of The National Academy of Sciences of the USA. 104: 16194-16199.

Gumiel M., Catalá S., Noireau F., Arias A.R., García A., Dujardin J.P. 2003. Wing geometry in *Triatoma infestans* (Klug) and *T. melanosoma* Martinez, Olmedo & Carcavallo (Hemiptera: Reduviidae). Systematic Entomology. 28: 173-180.

Gurevitz J.M., Ceballos L.A., Kitron U., Gürtler R.E. 2006. Flight initiation of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) under natural climatic conditions. Journal of Medical Entomology, 43: 143-150.

Herrera H.M., Rademaker V., Abreu U.G.P, D'Andrea P.S, Jansen A.M, 2007. Variables that modulate the spatial distribution of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* in the Brazilian Pantanal. Acta Tropica. 102: 55-62.

Higo H., Miura S., Horio M., Mimori T., Hamano S., Agatsuma T., Yanagi T., Cruz-Reyes A., Uyema N., Rojas de Arias A., Matta V., Akahane H., Hirayama K., Takeuchi T., Tada I., Himeno K. 2004. Genotypic variation among lineages of *Trypanosoma cruzi* and its geographic aspects. Parasitology International. 53: 337-344.

Hoare C.A. 1972. The Trypanosomes of Mammals: A Zoological Monograph. Ed.: Blackwell Scientific Publications. Oxford. 749 pág.

Jansen A.M., Madeira F.B., Deane M.P. 1994. *Trypanosoma cruzi* infection in the opossum *Didelphis marsupialis*: absence of neonatal transmission and protection by maternal antibodies in experimental infections. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 89: 41-45.

Jansen A.M., Santos de Pinho A.P., Lisboa C.V., Cupolillo E., Mangia R.H., Fernandes O. 1999. The sylvatic cycle os *Trypanosoma cruzi*: a still unsolved puzzle. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 94: 203-204.

Jansen A.M., Lisboa C.V., Pinho A.P., Marchewsky R.S., Mangia R.H., Cupolillo E., Fernandes O. 2000. A ecologia e a complexidade dos ciclos de transmissão do Trypanosoma cruzi na natureza. En: Araujo-Jorge T., Lisboa de Castro S. (Orgs.), Doença de Chagas. Manual para experimentação animal. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, pág. 33-39.

Jansen A.M. y Cortez M.R. 2007. Los reservorios silvestres y su relación con la ecología y la complejidad de los ciclos de transmisión de *Trypanosoma cruzi*. En: Triatominos de Bolivia y la enfermedad de Chagas. Ed. M.R. Cortez. Ministerio de Salud y Deportes, Programa Nacional de Chagas, Bolivia, pág. 215-227.

Guarner J., Bartlett J., Zaki S.R., Colley D.G., Grijalva M.J., Powell M.R.. 2001. Mouse model for Chagas disease: Immunohistochemical distribution of different stages of *Trypanosoma cruzi* in tissues throughout infection. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 65: 152-158.

Jörg M.E. 1937. *Triatoma mazzae* nova species, de Triatomidae (Hemiptera-Heteroptera, Reduvioidea), de Argentina. Misión de Estudios de Patología Regional Argentina (M.E.P.R.A.). 33: 33-47.

Kierszenbaum F., Gottlieb C.A., Budzko D.B. 1981. Antibody-independent, natural resistance of birds to *Trypanosoma cruzi* infection. The Journal of Parasitology. 67: 656-660.

Kollien A.H. y Schaub G.A. 1998. The development of *Trypanosoma cruzi* (Trypanosomatidae) in the reduviid bug *Triatoma infestans* (Insecta): influence of starvation. The Journal of Eukaryotic Microbiology. 45: 59-63.

Krauss H., Weber A., Appel M., Enders B., v. Graevenitz A., Isenberg H.D., Schiefer H.G., Slenczka W., Zahner H. 2003. Zoonoses. Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans. Ed.: ASM Press. American Society for Microbiology, Washington DC., USA. 456 pág.

Kravetz F., Eraso A., Moretti E., Albesa I., Basso B. 1978. Variaciones en la prevalencia de tripanosomas semejantes a *Trypanosoma cruzi* en roedores silvestres. Ecología. 3: 81-88.

Lauricella M.A., Sinagra A.J., Paulone I., Riarte A.R., Segura E.L. 1989. Natural *Trypanosoma cruzi* infection in dogs of endemic areas of the Argentine Republic. Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo. 31: 63-70.

Lauricella M.A., Stariolo R.L., Riarte A.R., Segura E.L., Gürtler R.E. 2005. Distribution and pathogenicity of *Trypanosoma cruzi* isolated from peridomestic populations of *Triatoma infestans* and *Triatoma guasayana* from rural western Argentina. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 100: 123-129.

Lazzari C.R., Nuñez J.A. 1989. Blood temperature and feeding behavior in *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). Entomol Gener (Stuttgart) 14: 183–188.

Lehane M.J. y Schofield C.J. 1978. Measurement of speed and duration of flight by triatomine bugs. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 72: 438.

Lehane M.J., McEwen P.K., Whitaker C.J., Schofield C.J. 1992. The role of temperature and nutritional status in flight initiation by *Triatoma infestans*. Acta Tropica. 52: 27-38.

Lehane M.J. y Schofield C.J. 1981. Field experiments of dispersive flight by *Triatoma infestans*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 75: 399-400.

Lehane M.J. y Schofield C.J. 1982. Flight initiation in *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae). Bulletin of Entomological Research. 72: 497-510.

Lent H., Jurberg J., Galvão C., Carcavallo R.U. 1994. *Triatoma melanosoma* novo status para *Triatoma infestans melanosoma* Martínez, Olmedo & Carcavallo, 1987. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 89: 353-358.

Lent H. y Wygodzinsky P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas´ disease. Bulletin of American Museum of Natural History. 163: 155.

Lisboa C.V., Dietz J., Baker A.J., Russel N.N., Jansen A.M. 2000. *Trypanosoma cruzi* infection in *Leontopithecus rosalia* at the Reserva Biologica de Poco das Antas, Rio de Janeiro, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 95: 445-452.

Lisboa, C.V., Pinho A.M., Monteiro R.V., Jansen A.M. 2007. *Trypanosoma cruzi* (kinetoplastida Trypanosomatidae): Biological heterogeneity in the isolates derived from wild hosts. Experimental Parasitology. 116: 150-155.

Luquetti A.O., Rassi A. 2000. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. En: *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2ª edición. Ed.: Brener, Andrade, Barral-Netto. Editorial Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, Brasil, pág. 344-378.

Macedo A.M., Machado C.R., Oliveira R.P., Pena S.D.J. 2004. *Trypanosoma cruzi*: Genetic structure of populations and relevance of genetic variability to the pathogenesis of Chagas Disease. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 99: 1-12.

Marcet P.L. 2009. Análisis micro-geográfico de la estructura genético-poblacional de *Triatoma infestans* en comunidades rurales del noroeste argentino. Tesis de Doctorado. FCEN-UBA. 148 pág.

Marcet P.L., Duffy T., Cardinal M.V., Burgos J.M., Lauricella M.A., Levin M.J., Kitron U., Gürtler R.E., Schijman A.G. 2006a. PCR-based screening and lineage identification of Trypanosoma cruzi directly from faecal samples of triatomine bugs from northwestern Argentina. Parasitology. 132: 57-65.

Marcet P.L., Lehmann T., Groner G., Gürtler R.E., Kitron U., Dotson E.M. 2006b. Identification and characterization of microsatellite markers in the Chagas disease vector Triatoma infestans (Heteroptera: Reduviidae). Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases. 6: 32-37.

Marcet P.L., Mora M.S., Cutrera A.P., Jones L.J., Gürtler R.E., Kitron U., Dotson E.M. 2008. Genetic structure of *Triatoma infestans* populations in rural villages of Santiago del Estero, northern Argentina. Infection, Genetics and Evolution. 8: 835-846.

Marcili A., Lima L., Valente V.C., Valente S.A., Batista J.S., Junqueira A.C.V., Souza A.I., da Rosa J.A, Campaner M., Lewis M.D., Llewellyn M.S., Miles M.A., Teixeira M.M.G. 2009. Comparative phylogeography of *Trypanosoma cruzi* TCIIc: New hosts, association with terrestrial ecotopes, and spatial clustering. Infection, Genetics and Evolution. 9: 1265-1274.

Marin-Neto J.A., Simões M.V., Lima Sarabanda A.V. 2000. Forma crônica cardíaca. En: *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2ª edición. Ed.: Brener, Andrade, Barral-Netto. Editorial Guanabara Koogan SA, Rio de Janeiro, Brasil, pág. 266-298.

Martínez A., Olmedo R.A., Carcavallo R.U. 1987. Una nueva subespecie argentina de *Triatoma infestans*. Chagas. 4: 479-480.

Martínez F.A., Gauna-Añasco L.G., Resoagli E.H. 1983. Las especies de Dasypodidae como reservorios de la enfermedad de Chagas en el nordeste argentino (Mammalia: Edentata). Gaceta Veterinaria. 45: 376-383.

Mazza S. 1930. Acerca de la infección espontánea de la mulita por el *Trypanosoma cruzi* en el Norte Argentino. Comprobación en el miocardio y pulmón de los "gigantocitos quísticos" de Magarinos Torres. La Prensa Médica Argentina. 17:49-54.

Mazza S., Romaña C., Schürmann K. 1931. Nuevas observaciones sobre la infección espontánea de armadillos del país por el *Trypanosoma cruzi*. Hallazgo de este flagelado en *Dasypus novemcinctus* Lin. del Chaco santafecino. La Prensa Medica Argentina. 17: 1350-1357.

Mazza S., Romaña C. 1932. Infección espontánea de la comadreja del Chaco Santafesino por el *Trypanosoma cruzi*. Séptima reunión de la Sociedad Argnetina de Patología Regional, Tucuman. 981-989.

Mazza S. 1936. Comprobaciones de casos agudos de Enfermedad de Chagas en nuevas partes de la zona biológica chaqueña (Formosa, Chaco Salteño). Hallazgos epidemiológicos especiales de la región. Misión de Estudios de Patología Regional Argentina (M.E.P.R.A.). 27: 3-48.

Mazza S., Basso G., Basso R. 1936. Hallazgos de *Triatoma platensis* en nidos de Dendrocolaptidae de las provincias de Córdoba y Mendoza. Demostración experimental de la capacidad de transimitir *Schizotrypanum cruzi* de esta especie de triatomídeo. Misión de Estudios de Patología Regional Argentina (M.E.P.R.A.). 29: 18-21.

Mazza S. y Schreiber F. 1938. Hallazgos en el Departamento General Obligado, Santa Fe, de otra especie de mustélido naturalmente infectado con *Schizotrypanum cruzi*, de *Triatoma infestans* infestados en nidos de comadrejas; de *Triatoma platensis* en nidos de psitácidos y Psammolestes coreodes sin infestación en nidos de dendrocoláptidos. Misión de Estudios de Patología Regional Argentina (M.E.P.R.A.). 34: 17-35.

Mazza, S. 1940. Otros mamíferos infectados naturalmente por *Schizotrypanum cruzi*, o *cruzi* similes en provincias de Jujuy y Salta. Misión de Estudios de Patología Regional Argentina (M.E.P.R.A.). 45: 119-134.

Mazza, S. 1949. Chagas disease in the Argentine Republic. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 47: 289-302.

Miles M.A., Yeo M., Gaunt M. 2003. Genetic diversity of *Trypanosoma cruzi* and the Epidemiology of Chagas Disease. En: Molecular Mechanisms in the Pathogenesis of Chagas Disease. Ed.: Kelly J.M. Editorial Eurekah.com & Kluwer Academic. Pág. 1-15.

Miles M.A., Toye P.J., Oswald S.C., Godfrey D.G., 1977. The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independently in a rural area of Brazil. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 71: 217-225.

Mills J.N., Childs J.E., Ksiazek T.G., Peters C.J., Velleca W.M. 1998. Métodos para trampeo y muestreo de pequeños mamíferos para estudios virológicos. Versión en español copublicada por el Departamento de Salud y Servicios Humanos de E.E.U.U., Servicio de Salud Pública, Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC); el Insituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio Maiztegui" de la República Argentina; y la Organización Panamericana de la Salud, Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. 64 pág.

Minter D.M. 1976. Effects on transmission to man of the presence of domestic animals in infested households. En: Pan American Health Organization, New Approaches in American Trypanosomiasis Research. Washington DC, Scientific Publication No. 318, pág. 330-337.

Montamat E.E., De Luca d'Oro G., Perret B., Rivas C. 1992. Characterization of *Trypanosoma cruzi* from Argentina by electrophoretic zymograms. Acta Tropica. 50: 125-133.

Monteiro F.A., Perez R., Panzera F., Dujardin J.P., Galvão C., Rocha D., Noireau F., Schofield C., Beard C.B. 1999. Mitochondrial DNA variation of *Triatoma infestans* populations and its implication on the specific status of *Triatoma melanosoma*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 94: 229-238.

Montenegro S. 1983. Determinación de las reservas alimenticias en *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera, Reduviidae) en base a caracteres externos. I. Adultos. Physis. 41: 159-167.

Moretti E., Basso B., Albesa I., Eraso A., Kravetz F. 1980. Infección natural de *Calomys laucha* por *Trypanosoma cruzi*. Medicina. 49: 181-186.

Mott K.E., Muniz T.M., Lehman J.S., Hoff R., Morrow R.H., Oliveira T.S., Sherlock I., Draper C.C. 1978. House construction, triatomine distribution, and household distribution of seoreactivity to *Trypanosoma cruzi* in a rural community in northeast Brasil. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 27: 1116-1122.

Muench H. 1959. Catalytic Models in Epidemiology. Harvard University Press.

Myers P. y Carleton M.D. 1981. The species of *Oryzomys* (*Oligoryzomys*) in Paraguay and the identity of Azara's "rat sixie`me ou rat a` tarse noir". Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan. 161:1-14.

Myers P. 1989. A preliminary revision of the varius group of *Akodon* (*A. dayi, dolores, molinae, neocenus, simulator, toba and varius*). En: Advances in Neotropical Mammalogy. Ed.: Redford K.H. y Eisenberg J.F.. Sandhill Crane Press, Gainesville. Pág. 5-54.

Neves D.P. 1971. Influencia da temperatura na evoluçao do *Trypanosoma cruzi* em triatominos. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 13: 155-161.

Noireau F., Brenière F., Cardozo L., Bosseno M.F., Vargas F., Peredo C., Medinacelli M. 1996. Current spread of *Triatoma infestans* at the expense of *Triatoma sordida* in Bolivia. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 91: 271-272.

Noireau F., Flores R., Gutierrez T., Dujardin J.P. 1997. Detection of wild dark morphs of *Triatoma infestans* in the Bolivian Chaco. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 92: 583-584.

Noireau F., Flores R., Vargas F. 1999a. Trapping sylvatic Triatominae (Reduviidae) in hollow trees. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 93: 13-14.

Noireau F., Gutierrez T., Flores R., Brenière F., Bosseno M.F., Wisnivesky-Colli C.. 1999b. Ecogenetics of *Triatoma sordida* and *Triatoma guasayana* (Hemiptera: Reduviidae) in the Bolivian Chaco. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 94: 451-457.

Noireau F., Bastrenta B., Catalá S., Dujardin J.P., Panzera F., Torres M., Pérez R., Jurberg J., Galvão C.. 2000a. Sylvatic population of *Triatoma infestans* from the Bolivian Chaco: from field collection to characterization. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 95: 119-122.

Noireau F., Flores R., Gutierrez T., Abad-Franch F., Flores E., Vargas F. 2000b. Natural ecotopes of *Triatoma infestans* dark morph and other wild triatomines in the Bolivian Chaco. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 94: 23-27.

Noireau F., Cortez M.R., Monteiro F.A., Jansen A.M., Torrico F. 2005. Can wild *Triatoma infestans* foci in Bolivia jeopardize Chagas disease control efforts? Trends in Parasitology. 21: 7-10.

Noireau N., Diosque P., Jansen A.M. 2009. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. Veterinary Research. 40: 26.

Oelemann W.M., Teixeira M.D., Veríssimo Da Costa G.C., Borges-Pereira J., De Castro J.A., Coura J.R., Peralta J.M. 1998. Evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of Chagas' disease. Journal of Clinical Microbiology. 36: 2423-2427.

Olson D.M., Dinerstein E., Wikramanayake E.D., Burgess N.D., Powell G.V.N., Underwood E.C., D'amico J.A., Itoua I., Strand H.E., Morrison J.C., Loucks C.J., Allnutt T.F., Ricketts T.H., Kura Y., Lamoreux J.F., Wettengel W.W., Hedao P., Kassem K.R. 2001. Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth. BioScience. 51: 933-938.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 1979. Zoonosis parasitarias. Informe del Comité de Expertos en Zoonosis Parasitarias con la participación de la FAO. Informe técnico N° 637. Ginebra, Suiza. 135 pag.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 1992. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Publicación Científica Nº 503. 989 pág.

Orozco M.M. Patógenos transmitidos por garrapatas y triatominos en mamíferos silvestres de áreas protegidas y degradadas del Chaco Argentino. Tesis de Doctorado. FCEN-UBA. En preparación.

Ostfeld R.S. y Holt R.D. 2004. Are predators good for your health? Evaluating evidence for top-down regulation of zoonotic disease reservoirs. Frontiers in Ecology and Environmental. 2: 13-20.

Patz J.A., Daszak P., Tabor G.M., Aguirre A.A., Pearl M., Epstein J., Wolfe N.D., Kilpatrick A.M., Foufopoulos J., Molyneux D., Bradley D.J. 2004. Unhealthy landscapes: Policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. Working Group on Land Use Change and Disease Emergence. Environmental Health Perspectives. 112: 1092-1098.

Patz J.A., Graczyk T.K., Geller N., Vittor A.Y. 2000. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. International Journal for Parasitology. 30: 1395-1405.

Pereira J., Dujardin J.P., Salvatella R., Tibayrenc M. 1996. Enzymatic variability and phylogenetic relatedness among *Triatoma infestans*, *Triatoma platensis*, *Triatoma delpontei* and *Triatoma rubrovaria*. Heredity. 77: 47-54.

Perez-Carusi L. 2006. Estudio de la bilogía reproductiva y la parasitología de la zarigüeya overa (Didelphimorphia, Didelphidae, *Didelphis albiventris*) en una zona rural de la Provincia de Buenos Aires. Seminario de Licenciatura FCEN-UBA. 59 pág.

Pérez R., Hernández M., Quintero O., Canale D. E., Méndez L., Cohanoff C., Martino M., Panzera F. 2005. Cytogenetic analysis of experimental hybrids in species of Triatominae (Hemiptera-Reduviidae). Genetica. 125: 261-270.

Piccinali R.V., Marcet P.L., Noireau F., Kitron U., Gürtler R.E., Dotson E.M. 2009a. Molecular population genetics and phylogeography of the Chagas disease vector *Triatoma infestans* in South America. Journal of Medical Entomology. 46: 796-809.

Piccinali R.V., Ceballos L.A., Noireau F., Kitron U., Gürtler R.E. 2009b.Variabilidad genética y relaciones filogenéticas entre *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) silvestres de Argentina y Bolivia. Lilloa 45, Suplemento: Resúmenes del 38° Congreso Argentino de Genética. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina, pág. 134.

Piccinali R.V., Ceballos L.A., Noireau F., Kitron U., Gürtler R.E. 2009c. Sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia: nucleotide variation and phylogenetic relationships. 150 Years of Darwin's Evolutionary Theory. A South American Celebration. Punta del Este, Maldonado, Uruguay, 3-6 Septiembre.

Picollo M.I., Vassena C., Santo Orihuela P., Barrios S., Zaidemberg M., Zerba E. 2005. High resistance to pyrethroid insecticides associated with ineffective field treatments in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Northern Argentina. Journal of Medical Entomology. 42: 637-42.

Pietrokovsky S., Schweigmann N.J., Riarte A., Alberti A., Conti O., Montoya S., Wisnivesky-Colli C. 1991. The skunk *Conepatus chinga* as new host of *Trypanosoma cruzi* in Argentina. The Journal of Parasitology. 77: 643-645.

Pinho A.P., Cupolillo E., Mangia R.H., Fernandes O., Jansen A.M. 2000. *Trypanosoma cruzi* in the sylvatic environment: distinct transmission cycles involving two sympatric marsupials. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 94: 509-514.

Pinho Ribeiro A.L., da Costa Rocha M.O. 2000. Forma indeterminada da Doença de Chagas. En: *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2ª edición. Ed.: Brener, Andrade, Barral-Netto. Editorial Guanabara Koogan SA, Rio de Janeiro, Brasil. Pág. 246-265.

Porcasi X., Catala S.S., Hrellac H., Scavuzzo M.C., Gorla D.E. 2006. Infestation of rural houses by *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in southern area of Gran Chaco in Argentina. Journal of Medical Entomology. 43: 1060-1067.

Puyravaud J.P. 2003. Standardizing the calculation of the annual rate of deforestation. Forest Ecology and Management. 117:593-596

Rabinovich J.E. 1972. Vital statistics of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. I. *Triatoma infestans* Klug. Journal of Medical Entomology. 9: 331-370.

Rabinovich J.E., Carcavallo R.U., Barretto M.P. 1976. Ecologic methods: marking, trapping, and sampling for vector studies in the field. En: New Approaches in American Trypanosomiasis Research, PAHO scientific publication 318, Washington, pág. 16-20.

Rabinovich J.E., Schweigmann N., Yohai V., Wisnivesky-Colli C. 2001. Probability of *Trypanosoma cruzi* transmission by *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) to the

opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae). American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 65: 125-130.

Richer W., Kengne P., Cortez M.R., Perrineau M.M., Cohuet A., Fontenille D., Noireau F. 2007. Active dispersal by wild *Triatoma infestans* in the Bolivian Andes. Tropical Medicine and International Health. 12: 759-764.

Ridel M.G., Luis I.R., Teja J. 2004. Las enfermedades emergentes y reemergentes: un problema de salud en las Américas. Revista Panamericana de Salud Publica. 15: 285-287.

Romaña C.A. 1955 Falta de transmisión hereditaria de *Trypanosoma (Schizotripanum) cruzi* en *Didelphis paraguayense* y comentarios sobre herencia del parásito en otros mamíferos. Anales del Instituto Médico Regional, Tucuman. 4: 149-154.

Romaña C. y Schürmann K. 1931. La infección espontánea y la experimental del tatú del Chaco santafecino por el *Trypanosoma cruzi*. Séptima reunión de la Sociedad Argnetina de Patología Regional, Tucuman. 969-980.

Romaña C.A., Pizarro J.C., Rodas E., Guilbert E. 1999. Palm trees as ecological indicators of risk areas for Chagas disease. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 93: 594-595.

Ronderos R.A, Schnack J.A., Mauri R.A. 1980. Resultados preliminares respecto de la ecología de *Triatoma infestans* (Klug) y especies congenericas con referencia especial a poblaciones peridomiciliarias. Medicina. 40 (Supl. 1): 187-196.

Roque A.L.R.,. Xavier S.C.C, da Rocha M.G., Duarte A.C.M., D'Andrea P.S., Jansen A.M. 2008. *Trypanosoma cruz*i transmission cycle among wild and domestic mammals in three areas of orally transmitted Chagas Disease outbreaks. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 79: 742-749.

Rozas M., Botto-Mahan C., Coronado X., Ortiz S., Cattan P.E., Solari A. 2007. Coexistence of *Trypanosoma cruzi* genotypes in wild and periodomestic mammals in Chile. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 77: 647-653.

Sartor P., Cardinal M.V., Ceballos L.A., Colaianni I., Gürtler R.E., Leguizamón M.S. 2008. TIA (trans-Sialidase Inhibition Assay) para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en reservorios. III Congreso Latinoamericano de Zoonosis, IV Congreso Argentino de Zoonosis, Buenos Aires, 18 al 20 de junio..

Sartor P., Cardinal M.V., Ceballos L.A., Gürtler R.E., Leguizamón M.S. 2009. TIA (Trans-Sialidase Inhibition Assay) como herramienta para la detección de la infección causada por *Trypanosoma cruzi* en reservorios domésticos. Reunión internacional del Centenario del Descubrimiento de la Enfermedad de Chagas, México D.F., 6 al 9 de octubre. Publicado en Memorias de la Reunión internacional del Centenario del Descubrimiento de la Enfermedad de Chagas, pág. 183.

Schaub G.A. y Böker C.A. 1986. Colonization of rectum of *Triatoma infestans* by *Trypanosoma cruzi*: Influencia os starvation studied by scanning electron microscopy. Acta Tropica. 43: 349-354.

Schaub G.A. y Lösch P. 1988. *Trypanosoma cruzi*: Origin of metacyclic trypomastigotes in the urine of the vector *Triatoma infestans*. Experimental Parasitology. 65: 174-186.

Schijman A.G., Altcheh J., Burgos J.M., Biancardi M., Bisio M., Levin M., Freilij H. 2003. Aetiological treatment of Congenital Chagas disease diagnosed and monitored by the polymerase chain reaction. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 52: 441-449.

Schijman A.G., Lauricella M.A., Marcet P.L., Duffy T., Cardinal M.V., Bisio M., Levin M.J., Kitron U., Gürtler R.E. 2006. Differential detection of *Blastocrithidia triatomae* and

Trypanosoma cruzi by amplification of 24s ribosomal RNA genes in faeces of sylvatic triatomine species from rural northwestern Argentina. Acta Tropica. 99: 50-54.

Schmuñis G., Zicker F., Moncayo A. 1996. Interruption of Chagas' disease transmission through vector elimination. Lancet. 348: 1171.

Schmuñis G.S., 2000. A Tripanossomíase Americana e seu impacto na saúde pública das Américas. En: *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2ª edición. Ed.: Brener, Andrade, Barral-Netto. Editorial Guanabara Koogan SA, Rio de Janeiro, Brasil, pag. 1-15.

Schmuñis G.S. 2007. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 102: 75-85.

Schofield C.J. 1979. The behaviour of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): a review. Bulletin of Entomological Research. 69: 363-379.

Schofield C.J. 1985. Population dynamics and control of *Triatoma infestans*. Annals de la Societe belge de Medice Tropical. 65: 149-164.

Schofield C.J. 1988. Biosystematics of the Triatominae. En: Biosystematics of Haematophagous Insects. Ed.: Service M.W. Systematics Association, Clarendon Press, Oxford. Special Volume 37: 284-312.

Schofield C.J. 1994. Triatominae. Biology & Control. Ed.: Eurocommunica Publications. West Sussex., UK. Pág. 76.

Schofield C.J. y Matthews N.S. 1985. Theoretical approach to active dispersal and colonization of houses by *Triatoma infestans*. Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 88: 211-222.

Schofield C.J., Lehane M.J., McEwen P.K., Catala S., Gorla D.E. 1992. Dispersive Flight by *Triatoma infestans* under natural climatic conditions in Argentina. Medical and Veterinary Entomology. 6: 51-56.

Schofield C.J. y Dias J.C. 1999. The Southern Cone Initiative against Chagas enfermedad. Advance en Parasitology. 42: 1-27.

Schofield C.J., Diotaiuti L., Dujardin J.P. 1999. The process of domestication in triatominae. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 94: 375-378.

Schofield C.J., Jannin J., Salvatella R. 2006. The future of Chagas disease control. Trends in Parasitology. 12: 583-588.

Schweigmann N.J. 1994. Aspectos ecológicos de una población santiagueña de la zarigüeya overa (*Didelphis albiventris*) en relación con la trasmisión del *Trypanosoma cruzi*. Tesis de Doctorado. FCEN-UBA. 184 pág.

Schweigmann N., Vallvé S., Muscio O., Guillini M., Alberti A., Wisnivesky-Colli C. 1988. Dispersal Flight by *Triatoma infestans* in an arid area of Argentina. Medical and Veterinary Entomology. 2: 401-404.

Schweigmann N.J., Alberti A., Pietrokovsky S., Conti O., Riarte A., Montoya S., Wisnivesky-Colli C. 1992. A new host of *Trypanosoma cruzi* from Jujuy, Argentina: octodontomys gliroides (Gervais & D'orbigny 1844) (Rodentia, octodontidae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 87: 217-220.

Schweigmann N.J., Vezzani D., Carbajo A.E., Wisnivesky-Colli, C. 1995a. Refugios, movimientos y mortalidad en *Didelphis albiventris* en la Provincia de Santiago del Estero, Argentina. Actas del III Congreso Latinoamericano de Ecología. Mérida, Venezuela, 22 al 28 de octubre.

Schweigmann N.J., Vezzani D., Carbajo A., Wisnivesky-Colli C.1995b. Ecología pobacional de *Didelphis albiventris* en Santiago del Estero: Movimientos, uso de refugios y mortalidad.

Jornadas del Departamento de Ciencias Biológicas FCEN-UBA, Buenos Aires, 12 de septiembre.

Schweigmann N.J., Breniere S.F., Bosseno M.F., Conti O., Telleria J., Noireau F., Wisnivesky-Colli C. 1995c. Aportes de la técnica de PCR al estudio del ciclo silvestre de *T. cruzi* en Santiago del Estero, Argentina. XII Congreso Latinoamericano de Parasitología. Santiago, Chile, 21 a 27 de octubre. Parasitología al Día. Número extraordinario Vol. 19: 65.

Schweigmann N.J., Pietrokovsky S., Bottazi V., Conti O., Bujas M., Wisnivesky-Colli C., 1999. Estudio de la prevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en zarigüeyas (*Didelphis albiventris*) en Santiago del Estero, Argentina. Revista Panamericana de Salud Pública. 6: 371-377.

Service M.W. 1991. Agricultural development and arthropod-borne diseases: a review. Revista do Saúde Pública de São Paulo. 25: 165-178.

Sherlock I.A. 2000. Vetores. En: *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2ª edición. Ed.: Brener, Andrade, Barral-Netto. Editorial Guanabara Koogan SA, Rio de Janeiro, Brasil, pág. 21-40.

Sherlock I.A., Carcavallo R.U., Galíndez Girón I. 1998. List of natural and experimental flagellate infections in several triatomine species. En: Atlas of Chagas Disease vectors in the Americas. Ed.: Carcavallo, Galíndez Girón, Jurgerg, Lent. Editora Fiocruz Rio de Janeiro, Brasil. Vol I pág. 289-298.

Silveira A.C. 1999. Current status of vector transmission control of Chagas disease in the Americas. En: Atlas dos vectores da doenca de Chagas nas Americas. Ed.: Carcavallo R.U., Galindez Giron I., Jurberg J., Lent H. FIOCRUZ. Vol III, pág. 1161-1182.

Soler C.A., Schenone C., Reyes H. 1969. Problemas derivados de la reaparición de *Triatoma infestans* en viviendas desinsectadas y el concepto de reinfestación. Boletín.Chileno de Parasitología. 10: 83-87.

Steppan S.J. 1995. Revision of the tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae) with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. Fieldiana: Zoology. 80:1-112.

Telford S.R.Jr. y Tonn R.J. 1982. Dynamics of *Trypanosoma cruzi* in populations of a primary reservoir, *Didelphis marsupialis*, in the highlands of Venezuela. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. 93: 341-64.

Telleria J., Lafay B., Virreira M., Barnabé C., Tibayrenc M., Svoboda M. 2006. *Trypanosoma cruzi*: Sequence analysis of the variable region of kinetoplast minicircles. Experimental Parasitology. 45: 221-229.

The Nature Conservancy (TNC), Fundación Vida Silvestre Argentina (FVSA), Fundación para el Desarrollo Sustentable del Chaco (DeSdel Chaco) y Wildife Conservation Society Bolivia (WCS). 2005. Evaluación Ecorregional del Gran Chaco Americano/Gran Chaco Americano Ecoregional Assessment. Buenos Aires. Fundación Vida Silvestre Argentina. Disponible en: http://www.vidasilvestre.org.ar/descargables/.

Toloza A.C., Germano M., Cueto G.M., Vassena C., Zerba E., Picollo M.I. 2008. Differential patterns of insecticide resistance in eggs and first instars of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia. Journal of Medical Entomology. 45: 421-426.

Tonn R.J., Espinola H., Mora E., Jimenez J.E. 1978. Trampa de luz negra como método de captura nocturna de triatominos en Venezuela. Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental. 18: 25-30.

Tonn R.J., Otero M.A., Jiménez J. 1976. Comparación del método hora-hombre con la trampa Gómez-Núñez en la búsqueda de *Rhodnius prolixus*. Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental. 16: 269-275.

Torrico R.A. 1946. Hallazgo de *Eratyrus mucronatus*, infestación natural de "vinchucas" de cerro y Eutriatoma sordida en Cochabamba. Anales del Laboratorio Central de Cochabamba. 1: 19-23.

Travaini A., Delibes M., Ceballos O. 1998. Summer foods of the Andean hog-nosed skunk (*Conepatus chinga*) in Patagonia. Journal of Zoology. 246: 457-460.

Travi B.L., Jaramillo C., Montoya J., Segura I., Zea A., Goncalves A., Velez I.D. 1994. *Didelphis marsupialis*, an important reservoir of *Trypanosoma cruzi* (*Schistotrypanum*) *cruzi* and *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* in Colombia. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 50: 557-565.

Unidad de Manejo del Sistema de Evaluación Forestal (UMSEF). 2004. Mapa forestal Provincia de Santiago del Estero. Departamentos Alberdi, Juan F. Ibarra, Moreno y General Taboada. Actualización Año 2004. Dirección de Bosques, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Ministerio de Salud y Ambiente.

Unidad de Manejo del Sistema de Evaluación Forestal (UMSEF). 2007. Monitoreo De Bosque Nativo. Período 1998-2002 y 2002-2006 (datos preliminares). Provincias de Chaco, Córdoba, Formosa, Salta, Santiago del Estero y Santa Fe. Dirección de Bosques, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Ministerio de Salud y Ambiente.

Usinger R.L., Wygodzinsky P., Ryckman R.E. 1966. The biosystematics of Triatominae. Annual Review of Entomology. 11: 309-330.

Van Gelder R.G. 1968. The genus *Conepatus* (Mammalia, Mustelidae): Variation whitin a population. Novitates. American Museum of Natural History. N° 2322. 37 pag.

Vázquez D.P., Canale D., Gürtler R.E. 1999. Effects of non-susceptible hosts on the infection with *Trypanosoma cruzi* of the vector *Triatoma infestans*: an experimental model. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 94: 413-419.

Vázquez-Prokopec G.M. 2007. Efectos de las acciones de control vectorial sobre la infestación por *Triatoma infestans* a múltiples escalas espaciales y temporales en comunidades rurales del chaco argentino. Tesis de Doctorado. FCEN-UBA. 209 pág.

Vázquez-Prokopec G.M., Ceballos L.A., Kitron U., Gürtler R.E. 2004. Active dispersal of natural populations of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Triatominae) in rural northwestern Argentina. Journal of Medical Entomology. 41: 614-621 .

Vázquez-Prokopec G.M., Ceballos L.A., Marcet P.L., Cecere M.C., Cardinal M.V., Kitron U., Gürtler R.E. 2006. Seasonal variations in active dispersal of natural populations of *Triatoma infestans* in rural north-western Argentina. Medical and Veterinary Entomology. 20: 1-6.

Vázquez-Prokopec G.M., Cecere M.C., Kitron U., Gürtler R.E. 2008. Environmental and demographic factors determining the spatial distribution of *Triatoma guasayana* in peridomestic and semi-sylvatic habitats of rural northwestern Argentina. Medical and Veterinary Entomology. 22: 273-282.

Velasquez C.J. y González G. 1959. Aspectos de la enfermedad de Chagas en Paraguay. Revista Goiana Medica. 5: 357-373.

Vezzani D., Schweigmann N.J., Pietrokovsky S.M., Wisnivesky-Colli, C. 2001. Characterization of *Triatoma guasayana* biotopes in a hardwood forest of Santiago del Estero, Argentina. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 96: 459-466.

Viana M.J. y Carpintero D.J. 1977. Aporte al conocimiento de los triatominos en la Argentina. Primera comunicación. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia 5: 161-174.

Villalba R., Grau H.R., Boninsegna J.A., Jacoby G.J., Ripalta A.. 1998. Tree-ring evidence for long-term precipitation changes in Subtropical South America. International Journal of Climatology. 18:1463-1478.

Walsh J.F., Molyneux D.H., Birley M.H. 1993. Deforestation: effects on vector borne disease. Parasitology 106: 55-75.

Wisnivesky-Colli C. 1987. Feeding patterns of Triatominae in relation to transmission of American Trypanosomiasis. En: Chagas' disease vectors. Vol. I. Ed.: Brenner R.R. Stoka A.M., Boca Raton, Florida, CRC Press. Pág. 99-117.

Wisnivesky-Colli C., Ruiz A., Ledesma O.A.M., Gurtler R.E., Lauricella M., Salomon D.O., Solarz N.D., Segura E.L. 1987. Ecologia domestica de la tripanosomiasis americana: Perfil alimentario de *Triatoma infestans* en un area rural de Santiago del Estero. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 20: 31-39.

Wisnivesky-Colli C., Schweigmann N.J., Alberti A., Pietrokovsky S.M., Conti O., Montoya S., Riarte A., Rivas C. 1992. Sylvatic American trypanosomiasis in Argentina. *Trypanosoma cruzi* infection in mammals from the Chaco forest in Santiago del Estero. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 86: 38-41.

Wisnivesky-Colli C., Schweigmann N.J., Pietrokovsky S.M., Bottazzi V., Petersen R., Flo J., Conti O. 1993a. Perfil alimentario de *Triatoma guasayana* y *Triatoma sordida* en el monte chaqueño de Santiago del Estero. Medicina. 53: 35-36.

Wisnivesky-Colli C., Schweigmann N.J., Pietrokovsky S.M., Bottazzi V., Conti O. 1993b. Pecularities of sylvatic transmission of *Trypanosoma cruzi* in northern Argentina. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 88 (Suppl) pág. 266.

Wisnivesky-Colli C., Gürtler R.E., Solarz N.D., Schweigmann N.J., Pietrokovsky S.M., Alberti A., Flo J. 1993c. Dispersive flight and house invasion by *Triatoma guasayana* and *Triatoma sordida* in Argentina. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 88: 27-32.

Wisnivesky-Colli C., Schweigmann N.J., Pietrokovsky S.M., Bottazi V., Rabinovich J.E. 1997. Spatial distribution of *Triatoma guasayana* (Hemiptera: Reduviidae) in hardwood forest biotopes in Santiago del Estero, Argentina. Journal of Medical Entomology. 34: 102-109.

World Health Organization (WHO). 2002a. Control of Chagas Disease: Second Report of the WHO Expert Committee, World Health Organization. Geneva, pag. 57-58.

World Health Organization (WHO). 2002b. World Health Report 2002: Reducing risks, promoting healthy life. Génova, Suiza. Disponible en: http://www.who.int/whr/2002/.

World Health Organization (WHO). 2004. World Health Report: Changing History, World Health Organization. Geneva, pag. 1-96.

World Health Organization (WHO). 2007. New global effort to eliminate Chagas disease. Partners set out strategy against the 'kissing bug' disease. Available from: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr36/en/index.html.

World-Bank. 1993. The global burden of the diseases. World development report 1993: investing in health. Ed.: Oxford University Press. New York, pag. 216-218.

Yeo M., Acosta N., Llewellyn M., Sanchez H., Adamson S., Miles G.A., Lopez E., Gonzalez N., Patterson J.S., Gaunt M.W., Arias A.R., Miles M.A. 2005. Origins of Chagas disease: *Didelphis* species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. International Journal of Parasitology. 35: 225-233.

Yeo M., Lewis M.D., Carrasco H.J., Acosta M., Llewellyn M., da Silva Valente S.A., de Costa Valente V., Rojas de Arias A., Miles M.A. 2007. Resolution of multiclonal infections of *Trypanosoma cruzi* from naturally infected triatomine bugs and from experimentally

infected mice by direct plating on a sensitive solid medium. International Journal for Parasitology. 37: 111-112.

Zeledón R. 1974. Epidemiology, modes of transmission and reservoir hosts of Chagas ' disease. En: Trypanosomiasis and Leishmaniasis with special reference to Chagas Disease. CIBA Foundation Symposium 20 (new series), pag. 51-77.

Zeledon R., Rabinovich J.E. 1981. Chagas' disease: an ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors. Annual Review of Entomology. 26: 101-133.

Zerba E.N. 1988. Development of new insecticides and synergistic formulations for the Chagas´disease vector control. Revista Argentina de Microbiología. 20 (Supl.): 25-31.

Zingales B., Andrade S.G, Briones M.R.S., Campbe D.A., Chiari E., Fernandes O., Guhl F., Lages-Silva E., Macedo A.M., Machado C.R., Miles M.A., Romanha A.J., Sturm N.R., Tibayrenc M., Schijman A.G. 2009. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 104: 1051-1054.

ANEXO I: Conversión de la variable discreta de clases de edad de las zarigüeyas (*D. albiventris*) a variables contínuas usando la duraciones aproximadas de cada clase de edad para *D. albiventris* estimada por Schweigmann y col. (1999).

Categoría de edad	Promedio de edad (meses)	Edad promedio desde el destete	Marca de clase (meses)
I	3,25	0,00	0,40
II	4,05	0,80	1,53
III	5,50	2,25	2,85
IV	6,70	3,45	4,85
V	9,50	6,25	9,20
VI	15,40	12,15	13,33
VII	17,75	14,50	

ANEXO II: Cálculo de prevalencias de zarigüeyas (*D. albiventris*) por clase etaria y año de estudio recopiladas de Tesis Doctoral de N. J. Schweigmann (1994) y de la presente tesis (datos 2003-2007). nd: no dato.

Año de estudio	Clase etaria	Marca de clase	No. Examinado	No. Infectado	Prevalencia
1988	1	0,400	17	0	0,00
1988	2	1,525	9	1	11,11
1988	3	2,850	24	2	8,33
1988	4	4,850	21	7	33,33
1988	5	9,200	11	5	45,45
1988	6 y 7	13,325	7	3	42,86
1989	1	0,400	11	1	9,09
1989	2	1,525	0	0	nd
1989	3	2,850	13	4	30,77
1989	4	4,850	13	6	46,15
1989	5	9,200	4	2	50,00
1989	6 y 7	13,325	4	3	75,00
1990	1	0,400	25	2	8,00
1990	2	1,525	19	2	10,53
1990	3	2,850	29	12	41,38
1990	4	4,850	64	31	48,44
1990	5	9,200	57	33	57,89
1990	6 y 7	13,325	9	5	55,56
1991	1	0,400	17	1	5,88
1991	2	1,525	8	1	12,50
1991	3	2,850	13	7	53,85
1991	4	4,850	17	7	41,18
1991	5	9,200	13	7	53,85
1991	6 y 7	13,325	4	1	25,00
2003	1	0,400	0	0	nd
2003	2	1,525	0	0	nd
2003	3	2,850	1	0	0,00
2003	4	4,850	6	0	0,00
2003	5	9,200	6	1	16,67
2003	6 y 7	13,325	1	0	0,00
2004	1	0,400	0	0	nd
2004	2	1,525	5	0	0,00
2004	3	2,850	1	0	0,00
2004	4	4,850	6	0	0,00
2004	5	9,200	9	2	22,22
2004	6 y 7	13,325	5	1	20,00
2007	1	0,400	0	0	nd
2007	2	1,525	5	0	0,00
2007	3	2,850	0	0	nd
2007	4	4,850	0	0	nd
2007	5	9,200	0	0	nd
2007	6 y 7	13,325	1	1	100,00

ANEXO III: Análisis de regresión logística múltiple entre la supervivencia y la muda de los triatominos de los xenodiagnósticos con la especie de hospedador a la que se los expuso y la temperatura ambiental durante la realización del xenodiagnóstico.

A) Sobrevivencia de *T. infestans* vivos a los 30-40 días post-exposición
N° de observaciones: 542; Grados de libertad: 508; Log-pseudolikelihood: -426,9.

Factores	Coeficiente de regresión	Error estándar	z	*P*	IC 95%	
Especies						
C. callosus	176,532	4,367	40,430	0,000	167,974	185,090
C. musculinus	2,002	1,597	1,250	0,210	-1,128	5,132
G. musteloides	1,844	1,377	1,340	0,180	-0,854	4,542
D. albiventris	3,084	1,699	1,820	0,069	-0,246	6,414
G. centralis	-1,188	1,960	-0,610	0,545	-5,030	2,655
M. musculus	18,247	2,356	7,750	0,000	13,630	22,865
T. pusillus	18,480	1,632	11,320	0,000	15,281	21,680
T. matacus	3,363	2,400	1,400	0,161	-1,341	8,066
N. lasiurus	0,177	3,247	0,050	0,957	-6,187	6,541
O. chacoensis	1,164	1,654	0,700	0,482	-2,079	4,406
O. cf. flavescens	3,742	3,348	1,120	0,264	-2,821	10,304
Ctenomys sp.	2,429	2,575	0,940	0,346	-2,618	7,475
Ch. villosus	9,476	5,962	1,590	0,112	-2,210	21,162
Ch. vellerosus	2,779	1,931	1,440	0,150	-1,005	6,564
C. chinga	-0,453	1,547	-0,290	0,770	-3,485	2,578
L. gymnocercus	1,930	1,569	1,230	0,219	-1,144	5,005
Temperatura	0,036	0,042	0,860	0,388	-0,046	0,119
Interacciones						
C. callosus x T°	-4,642	0,117	-39,680	0,000	-4,871	-4,413
C. musculinus x T°	-0,093	0,054	-1,730	0,083	-0,198	0,012
G. musteloides x T°	-0,097	0,050	-1,950	0,052	-0,195	0,001
D. albiventris x T°	-0,116	0,060	-1,930	0,054	-0,234	0,002
G. centralis x T°	0,059	0,104	0,570	0,570	-0,144	0,263
M. musculus x T°	-0,036	0,128	-0,280	0,776	-0,288	0,215
T. pusillus x T°	-0,046	0,072	-0,640	0,520	-0,188	0,095
T. matacus x T°	-0,117	0,098	-1,200	0,231	-0,309	0,075
N. lasiurus x T°	-0,056	0,120	-0,470	0,638	-0,290	0,178
O. chacoensis x T°	-0,075	0,080	-0,940	0,348	-0,232	0,082
O. cf. flavescens x T°	-0,163	0,123	-1,320	0,187	-0,405	0,079
Ctenomys sp. x T°	-0,107	0,095	-1,130	0,259	-0,294	0,079
Ch. villosus x T°	-0,352	0,193	-1,820	0,068	-0,730	0,026
Ch. vellerosus x T°	-0,118	0,068	-1,730	0,083	-0,250	0,015
C. chinga x T°	0,001	0,062	0,010	0,992	-0,120	0,121
L. gymnocercus x T°	-0,117	0,055	-2,110	0,035	-0,225	-0,008
Constante	2,673	1,150	2,320	0,020	0,419	4,927

B) Sobrevivencia de *T. infestans* a los 60-70 días post-exposición

N° de observaciones: 542; Grados de libertad: 508; Log-pseudolikelihood: -1093,6.

Factores	Coeficiente de regresión	Error estándar	z	*P*	IC 95%	
Especies						
C. callosus	2,156	0,758	2,850	0,004	0,671	3,641
C. musculinus	-0,355	0,922	-0,390	0,700	-2,162	1,452
G. musteloides	0,792	0,704	1,130	0,260	-0,587	2,171
D. albiventris	2,159	1,096	1,970	0,049	0,011	4,307
G. centralis	0,869	1,124	0,770	0,440	-1,335	3,073
M. musculus	-2,996	3,199	-0,940	0,349	-9,265	3,273
T. pusillus	-0,940	1,203	-0,780	0,434	-3,298	1,418
T. matacus	-0,062	0,771	-0,080	0,936	-1,573	1,449
N. lasiurus	-0,369	1,475	-0,250	0,803	-3,259	2,522
O. chacoensis	1,001	1,156	0,870	0,386	-1,264	3,266
O. cf. flavescens	0,372	1,190	0,310	0,755	-1,960	2,703
Ctenomys sp.	7,955	2,886	2,760	0,006	2,298	13,612
Ch. villosus	7,330	2,757	2,660	0,008	1,927	12,734
Ch. vellerosus	2,934	1,737	1,690	0,091	-0,470	6,338
C. chinga	0,731	0,900	0,810	0,417	-1,033	2,494
L. gymnocercus	1,078	0,754	1,430	0,153	-0,399	2,554
Temperatura	-0,006	0,023	-0,280	0,780	-0,051	0,039
Interacciones						
C. callosus x T°	-0,048	0,030	-1,640	0,102	-0,106	0,010
C. musculinus x T°	0,034	0,035	0,970	0,332	-0,034	0,102
G. musteloides x T°	-0,020	0,028	-0,720	0,473	-0,074	0,034
D. albiventris x T°	-0,062	0,044	-1,410	0,159	-0,149	0,024
G. centralis x T°	0,004	0,062	0,060	0,955	-0,119	0,126
M. musculus x T°	0,170	0,140	1,220	0,224	-0,104	0,444
T. pusillus x T°	0,081	0,055	1,490	0,137	-0,026	0,188
T. matacus x T°	0,063	0,035	1,800	0,072	-0,006	0,132
N. lasiurus x T°	0,014	0,052	0,260	0,795	-0,089	0,116
O. chacoensis x T°	-0,065	0,070	-0,930	0,351	-0,202	0,072
O. cf. flavescens x T°	0,003	0,050	0,070	0,947	-0,094	0,101
Ctenomys sp. x T°	-0,255	0,105	-2,420	0,016	-0,461	-0,048
Ch. villosus x T°	-0,213	0,089	-2,380	0,017	-0,388	-0,038
Ch. vellerosus x T°	-0,069	0,061	-1,140	0,256	-0,187	0,050
C. chinga x T°	0,030	0,038	0,790	0,431	-0,045	0,106
L. gymnocercus x T°	-0,024	0,032	-0,750	0,454	-0,086	0,038
Constante	0,821	0,573	1,430	0,152	-0,302	1,944

C) Mudas de *T. infestans* a los 30-40 días post-exposición

N° de observaciones: 539; Grados de libertad: 505; Log-pseudolikelihood: -1181,3.

Factores	Coeficiente de regresión	Error estándar	z	*P*	IC 95%	
Especies						
C. callosus	0,128	1,076	0,120	0,905	-1,980	2,237
C. musculinus	-1,191	1,179	-1,010	0,312	-3,501	1,120
G. musteloides	-1,302	0,875	-1,490	0,137	-3,016	0,413
D. albiventris	1,487	0,902	1,650	0,099	-0,281	3,255
G. centralis	0,263	1,343	0,200	0,845	-2,370	2,895
M. musculus	3,315	2,511	1,320	0,187	-1,606	8,237
T. pusillus	-1,187	1,595	-0,740	0,457	-4,313	1,940
T. matacus	-1,004	0,869	-1,150	0,248	-2,707	0,700
N. lasiurus	0,937	1,711	0,550	0,584	-2,417	4,291
O. chacoensis	-0,762	1,236	-0,620	0,538	-3,183	1,660
O. cf. flavescens	0,796	1,520	0,520	0,600	-2,182	3,775
Ctenomys sp.	1,461	2,128	0,690	0,492	-2,709	5,632
Ch. villosus	4,274	1,724	2,480	0,013	0,895	7,653
Ch. vellerosus	-0,257	1,443	-0,180	0,858	-3,085	2,570
C. chinga	1,244	0,802	1,550	0,121	-0,328	2,817
L. gymnocercus	-0,198	0,782	-0,250	0,800	-1,731	1,335
Temperatura	0,077	0,027	2,810	0,005	0,023	0,131
Interacciones						
C. callosus x T°	-0,003	0,048	-0,060	0,950	-0,098	0,092
C. musculinus x T°	0,047	0,043	1,100	0,271	-0,037	0,130
G. musteloides x T°	0,027	0,033	0,800	0,424	-0,039	0,092
D. albiventris x T°	-0,073	0,035	-2,070	0,038	-0,142	-0,004
G. centralis x T°	-0,015	0,059	-0,260	0,795	-0,131	0,100
M. musculus x T°	-0,349	0,144	-2,420	0,015	-0,630	-0,067
T. pusillus x T°	0,050	0,072	0,690	0,489	-0,091	0,191
T. matacus x T°	-0,011	0,036	-0,300	0,766	-0,080	0,059
N. lasiurus x T°	-0,066	0,062	-1,070	0,285	-0,187	0,055
O. chacoensis x T°	0,016	0,063	0,250	0,799	-0,108	0,140
O. cf. flavescens x T°	-0,061	0,066	-0,930	0,354	-0,189	0,068
Ctenomys sp. x T°	-0,121	0,081	-1,510	0,132	-0,279	0,037
Ch. villosus x T°	-0,176	0,060	-2,910	0,004	-0,294	-0,057
Ch. vellerosus x T°	-0,037	0,052	-0,710	0,478	-0,139	0,065
C. chinga x T°	-0,057	0,031	-1,810	0,070	-0,118	0,005
L. gymnocercus x T°	-0,029	0,034	-0,850	0,396	-0,096	0,038
Constante	-2,044	0,711	-2,870	0,004	-3,439	-0,650

D) Mudas de *T. infestans* acumuladas a los 60-70 días post-exposición

N° de observaciones: 538; Grados de libertad: 504; Log-pseudolikelihood: -1188,2.

Factores	Coeficiente de regresión	Error estándar	z	*P*	IC 95%	
Especies						
C. callosus	0,128	1,076	0,120	0,905	-1,980	2,237
C. musculinus	-1,191	1,179	-1,010	0,312	-3,501	1,120
G. musteloides	-1,302	0,875	-1,490	0,137	-3,016	0,413
D. albiventris	2,099	0,920	2,280	0,023	0,295	3,903
G. centralis	0,263	1,343	0,200	0,845	-2,370	2,895
M. musculus	3,315	2,511	1,320	0,187	-1,606	8,237
T. pusillus	-1,187	1,595	-0,740	0,457	-4,313	1,940
T. matacus	-1,204	0,874	-1,380	0,168	-2,917	0,509
N. lasiurus	0,937	1,711	0,550	0,584	-2,417	4,291
O. chacoensis	-0,779	1,233	-0,630	0,527	-3,197	1,638
O. cf. flavescens	0,796	1,520	0,520	0,600	-2,182	3,775
Ctenomys sp.	1,461	2,128	0,690	0,492	-2,709	5,632
Ch. villosus	4,306	1,730	2,490	0,013	0,915	7,697
Ch. vellerosus	-0,257	1,443	-0,180	0,858	-3,085	2,570
C. chinga	1,329	0,800	1,660	0,097	-0,240	2,897
L. gymnocercus	0,095	0,795	0,120	0,905	-1,463	1,654
Temperatura	0,077	0,027	2,810	0,005	0,023	0,131
Interacciones						
C. callosus x T°	-0,003	0,048	-0,060	0,950	-0,098	0,092
C. musculinus x T°	0,047	0,043	1,100	0,271	-0,037	0,130
G. musteloides x T°	0,027	0,033	0,800	0,424	-0,039	0,092
D. albiventris x T°	-0,094	0,036	-2,630	0,009	-0,164	-0,024
G. centralis x T°	-0,015	0,059	-0,260	0,795	-0,131	0,100
M. musculus x T°	-0,349	0,144	-2,420	0,015	-0,630	-0,067
T. pusillus x T°	0,050	0,072	0,690	0,489	-0,091	0,191
T. matacus x T°	-0,002	0,036	-0,050	0,957	-0,072	0,068
N. lasiurus x T°	-0,066	0,062	-1,070	0,285	-0,187	0,055
O. chacoensis x T°	0,020	0,064	0,320	0,752	-0,106	0,146
O. cf. flavescens x T°	-0,061	0,066	-0,930	0,354	-0,189	0,068
Ctenomys sp. x T°	-0,121	0,081	-1,510	0,132	-0,279	0,037
Ch. villosus x T°	-0,176	0,061	-2,910	0,004	-0,294	-0,057
Ch. vellerosus x T°	-0,037	0,052	-0,710	0,478	-0,139	0,065
C. chinga x T°	-0,059	0,031	-1,890	0,059	-0,120	0,002
L. gymnocercus x T°	-0,039	0,034	-1,140	0,255	-0,105	0,028
Constante	-2,044	0,711	-2,870	0,004	-3,439	-0,650