

ARTÍCULO ORIGINAL

Sistema vectorial emergente debido a las poblaciones salvajes de *Triatoma infestans*: la enfermedad de Chagas en Bolivia, proyecto TiBo

Emerging vector system due to wild populations of *Triatoma infestans*: Chagas disease in Bolivia, the TIBO project

Simone Frédérique Brenière, Christian Barnabé, Philippe Brémond, Rosio Buitrago

UMR MIVEGEC (UM1-2 / CNRS-5290 / IRD-224), Equipo INCHA, Epidemiología integrada de la Enfermedad de Chagas

En memoria de nuestro colega el Dr. François Noireau, quién dedicó su vida profesional a la eco-epidemiología de la enfermedad de Chagas

Dirección para correspondencia: Simone Frédérique Brenière, IRD, Av. Hernando Siles #5290, CP9214, La Paz Bolivia. Email: frederique.breniere@ird.fr.

Recibido para publicación en: 15/06/12

Aceptado en: 30/06/12

RESUMEN

Se exploró en Bolivia la distribución geográfica y el papel epidemiológico de las poblaciones silvestres de *Triatoma infestans*, vector de la enfermedad de Chagas. Se buscaron nuevos focos silvestres en el área endémica de *T. infestans*. Estudios focalizados permitieron evaluar la re-infestación del hábitat humano. Se aplicaron herramientas de biología y de genética molecular a los vectores y a *Trypanosoma cruzi* el agente de la enfermedad. Se descubrieron: (i) amplia distribución de *T. infestans* silvestre en dos ecoregiones "Bosques Secos Interandinos" y "Gran Chaco" (ii) nueva hipótesis sobre el origen de *T. infestans* (iii) alta tasa de infección de *T. infestans* silvestre andino, (iv) re-infestación con origen silvestre en los Andes (v) peligro de transmisión de *T. cruzi* en el medio silvestre andino. Estos resultados alertarán a las autoridades sobre la amplia distribución de las poblaciones silvestres que pueden moverse hacia los hogares y están altamente infectadas por el parásito.

Palabras Clave: *Triatoma infestans* silvestre, distribución geográfica, re-infestación, riesgo epidemiológico.

ABSTRACT

The geographical distribution and epidemiological role of wild populations of *Triatoma infestans*, the main vector of Chagas disease, was explored in Bolivia. We searched for new wild foci throughout the endemic area of *T. infestans*. Local studies allowed us to evaluate the

re-infestation of human habitats. Molecular biology and genetics tools were applied to vectors and *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease. We found i) a wide distribution of wild *T. infestans* in two ecoregions: Inter-Andean Dry Forests and Gran Chaco, ii) a new hypothesis on the origin of *T. infestans*, iii) a high rate of infection of wild Andean *T. infestans*, iv) re-infestation from wild populations in the Andes, and v) arguments in favor of possible transmission of *T. cruzi* in the wild environment. These results should alert the authorities to the wide distribution of wild populations that can move to homes and are highly infected by the parasite.

Key Words: wild *Triatoma infestans*, geographical distribution, re-infestation, epidemiological risk

INTRODUCCIÓN

En América Latina, alrededor de 10 millones de personas de 21 países están infectadas por *Trypanosoma cruzi*, agente de la Enfermedad de Chagas, transmitido principalmente por las heces infectadas de insectos hematófagos (Triatominae) que colonizan el hábitat humano.^{1, 2, 3} En los países más afectados del Cono Sur (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay), las operaciones de control del vector principal *Triatoma infestans* realizadas por pulverización peri e intradomiciliaria con insecticida y mejorando el hábitat, fueron un éxito.⁴ No obstante, en la región en general y particularmente en Bolivia se observa con mayor frecuencia la persistencia de la infestación. Dos fenómenos amenazarían los resultados adquiridos, la

aparición de una resistencia a los insecticidas piretroides^{5, 6} y la existencia de focos silvestres de *T. infestans* cuya tendencia sinantrópica es poco conocida.⁷ *T. infestans* fue considerado durante mucho tiempo como una especie casi exclusivamente doméstica, con excepción de Bolivia donde se conocen focos silvestres de *T. infestans* desde hace varios años en el valle andino de Cochabamba.^{8, 9} Esta situación y los primeros análisis de genética de poblaciones de *T. infestans* condujeron a las hipótesis de un origen andino de la especie y a una domesticación inicial en el valle de Cochabamba.^{10, 11, 12,}

¹³ Recientemente, el descubrimiento en Bolivia de otros focos silvestres en los Andes y en las tierras bajas de la ecoregión del Gran Chaco¹⁴ ha planteado la incertidumbre sobre estas hipótesis y sobre el éxito del control de los vectores, ya que las poblaciones silvestres podrían tener la capacidad de invadir los poblados después de la eliminación de las poblaciones domésticas.^{15, 16} Por lo tanto, precisar la distribución geográfica de las poblaciones silvestres de *T. infestans* y la evaluación de las consecuencias epidemiológicas de sus movimientos, fueron los dos objetivos mayores del proyecto TiBo, que permitía acercarse al objetivo fijado por la organización INCOSUR (Iniciativa de los países del Cono Sur para el control y la eliminación de la enfermedad de Chagas), es decir la interrupción de la transmisión de *T. cruzi* por *T. infestans* en la región. Este proyecto fue realizado gracias a un gran esfuerzo de trabajo de terreno llevado a cabo por un equipo franco-boliviano, que se apoyó en herramientas modernas de biología molecular para analizar los componentes biológicos de los ciclos de *T. cruzi*, trabajos realizados en laboratorios bolivianos.

A través de esta publicación se pretende contribuir al conocimiento del nuevo paradigma de la Enfermedad de Chagas relacionado a las poblaciones silvestres de *T. infestans*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Terreno. La búsqueda de nuevos focos silvestres se efectuó, por un lado, en sitios elegidos según las informaciones de los habitantes y servicios de salud (63 sitios explorados) y por otro lado, con un enfoque original que ha permitido conocer la distribución de las poblaciones silvestres de *T. infestans* en función a los factores medioambientales (TiBoEco). Para este protocolo (TiBoEco), los sitios explorados fueron repartidos entre las siete ecoregiones (Yungas, YUN; Bosques Secos Interandinos, BSIA; Prepuna, PP; Bosque Tucumano Boliviano, BTB; Chaco Serrano, CS; Bosque Seco Chiquitano BSC y Gran Chaco, GC) definidas según Ibsch¹⁷ que incluyen toda el área endémica de la enfermedad de Chagas en Bolivia (47 sitios explorados). Las capturas se hicieron cerca del hábitat humano a fin de priorizar el estudio del riesgo

que las poblaciones de triatominos silvestres pueden representar para los seres humanos. Cada área de captura incluyó 12 grupos de trampas, repartidos en tres transectos y distantes del límite de los peridomicilios a 50 m, 100 m, 150 m y 200 m. Cada grupo comprendía 4 trampas repartidas en un círculo de 5 m de radio. En ciertos sitios se colocaron unas diez trampas adicionales, eligiendo hábitats considerados propicios para la infestación por *T. infestans*. En todas las exploraciones se utilizó la trampa "Noireau".¹⁸ Adicionalmente en un sitio silvestre de captura, cerca de la ciudad de La Paz, se hizo un seguimiento entomológico durante un año aplicando el método de captura-marcado-recaptura, nunca antes utilizado para los vectores de la Enfermedad de Chagas.

Por otro lado, cinco áreas llamadas "compartidas" (espacios intra, peridomiciliario y silvestre) fueron objeto de un seguimiento entomológico en las viviendas, con la búsqueda activa de los triatominos por el equipo de trabajo y con la vigilancia de los habitantes durante el período del estudio: dos pueblos en la ecoregión GC, San Silvestre (19°21'19"S; 62°34'11"O) y Rancho Nuevo (19°26'23"S; 62°34'06"O), dos pueblos, Sapini (16°48'47"S, 67°42'10"O) y Thago Thago (18°00'43"S, 65°48'32"O), y una zona periurbana, Quillacollo, (17°25'20"S, 66°17'40"O) en la ecoregión BSIA. En las zonas silvestres correspondientes, se aplicaron varios periodos de captura. Distintas colonias de *T. infestans*, capturadas en zonas urbanas y peridomésticas, fueron criadas en el laboratorio para poner a prueba su sensibilidad a la deltametrina.

Epidemiología molecular. Se utilizaron herramientas de biología molecular para determinar el origen de la sangre consumida por los triatominos (ensayo de heteroduplex del gen mitocondrial citocromo B y secuenciación) y su infección por *T. cruzi*. El método de PCR multiplex del gen mini-exón (MMPCR),¹⁹ asociado a la secuenciación del gen que codifica para la enzima *Gpi* (glucosa fosfato isomerasa),²⁰ ha permitido precisar las DTUs (Discrete Typing Units) de *T. cruzi* que infectan a los triatominos. Dos artículos recientemente publicados han complementado la validez de estos dos métodos.^{21, 22} La secuenciación de genes ha permitido desarrollar estudios de filogeografía y genética de poblaciones de *T. infestans* (secuenciación de regiones intergénicas (ITS-2)²³ y del gen citocromo B (CytB).²⁴ Además, se hizo el análisis del polimorfismo de zonas microsatélites de ADN en las poblaciones de *T. infestans* y *T. cruzi* para evaluar los flujos genéticos y la estructura de las poblaciones de vectores y parásitos entre los medios silvestre y doméstico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Distribución geográfica de las poblaciones silvestres de *T. infestans* en Bolivia. Durante la búsqueda sistemática de focos silvestres en 7 ecoregiones (protocolo TiBoEco, 47 sitios explorados, 2719 trampas colocadas), se identificaron 10 nuevos sitios con *T. infestans*, repartidos principalmente en tres ecoregiones (PP, 33,3% de sitios positivos, BSIA, 36% y GC, 40%). Los resultados muestran una distribución más bien discontinua de las poblaciones silvestres entre PP-BSIA y GC, ausencia o escasas de capturas en la región andina intermedia (ecoregiones CS y BTB), con excepción de la captura de un ejemplar adulto de *T. infestans* en CS. El descubrimiento de 34 sitios adicionales a través de la búsqueda dirigida (63 sitios explorados, 6042 trampas puestas) confirmó este resultado. Además, los datos mostraron claramente que las colonias naturales de *T. infestans* son más grandes en BSIA que en GC, donde hay pocas trampas positivas y solamente 1 o 2 especímenes que fueron capturados por lo general en la misma trampa. Dos publicaciones son referentes a los nuevos focos descubiertos en las ecoregiones BSIA (depto. de La Paz)²⁵ y GC.²⁶

En varias exploraciones se capturaron otras especies de triatomos: dos del complejo *Triatoma sordida* (*T. sordida* y *T. guasayana*) en 4 ecoregiones (GC, 66,6% de los sitios positivos; CS, 33,3%; BSIA, 15,9%; BTB, 11,1%), otras dos especies todavía no descritas en Bolivia, *T. breyeri* (límite entre las ecoregiones BSIA y CS), *T. costalimai* (BSC), y *Rhodnius sp.* en dos sitios de BSC.

Ecología de las poblaciones silvestres de *T. infestans*. *Hábitat.* Las investigaciones han demostrado que en las ecoregiones PP y BSIA *T. infestans* no vive solamente en los afloramientos rocosos (hábitat rupícola) sino también en otros ecotopos como los campos de tunales, de cactus y acantilados sedimentarios. En cambio, los datos confirman que el hábitat de *T. infestans* silvestres capturados en GC es arborícola, como se observó anteriormente,¹⁴ ya que todos los especímenes fueron capturados en huecos de árboles.

Dinámica de las poblaciones y movilidad. El seguimiento entomológico realizado durante un año con el método de captura-marcado-recaptura, en cincuenta sitios distribuidos en un campo semi antropizado (Mecapaca, valle de La Paz, BSIA), ha demostrado la estabilidad temporal de la población local de *T. infestans*, su distribución discontinua en el espacio y el desplazamiento notable de ninfas y de adultos, mayormente hembras, en un periodo de varios meses.

Fuentes alimenticias. El método de análisis molecular del origen de las comidas sanguíneas de los triatomos ha permitido identificar 141 fuentes alimenticias en total en BSIA y PP, dos hospedadores alimenticios

importantes de *T. infestans*: *Octodontomys gliroides* pequeño roedor originario de los Andes que representa el 37% de los hospedadores identificados y *Galea musteloides* 31% especie de conejillo de indias. De manera inesperada, en el contenido estomacal de varios especímenes (19%) se detectó sangre humana. Esto sugiere dos posibles fenómenos: (i) el desplazamiento de insectos del hábitat humano hacia el medio silvestre después de alimentarse de sangre, (ii) la exposición humana a las picaduras de los triatomos en el medio ambiente silvestre donde el hombre puede desarrollar actividades. Se identificaron otras diez y ocho fuentes alimenticias (13%), de 4 pequeños roedores, de tres animales domésticos (burro, gallina y gato), de un ave y de un reptil.

*Infección por *T. cruzi*.* En los nuevos focos silvestres detectados en 2 valles andinos del departamento de La Paz, en el norte de la ecoregión BSIA, las tasas promedio de infección de *T. infestans*, evaluadas por microscopía, fueron de 44,1% y 59,5%. En los departamentos de Cochabamba y Potosí (BSIA y PP), las tasas de infección también fueron altas (31,9% y 16,6%). En la ecoregión GC se capturaron mucho menos ejemplares de *T. infestans* y por las condiciones generales de transporte se tuvo que mantener los insectos en alcohol, lo que impidió evaluar por microscopía la infección de todos los insectos. Sin embargo, algunos datos tienden a demostrar que las tasas de infección son menos altas que en las ecoregiones BSIA y PP: de 23 especímenes cuyas heces fueron examinadas en el microscopio, ninguno fue positivo, pero 2/17 (11,7%) fueron positivos con el método de PCR multiplex MMPCR.

Susceptibilidad natural a los insecticidas. La primera publicación²⁷ ha demostrado una mínima susceptibilidad a la deltametrina y al fipronil de 3 poblaciones silvestres de *T. infestans*. Resultados adicionales de otras 9 colonias, han permitido detectar una colonia silvestre resistente a la deltametrina y otras dos de menor susceptibilidad que la cepa sensible argentina de referencia.

Estudio de las áreas compartidas (medio silvestre, peridoméstico y doméstico): Rancho Nuevo, San Silvestre, Quillacollo, Sapini y Thago Thago. *Entorno y distribución de los triatomos silvestres.* En la ecoregión GC, se capturaron 6 especímenes de *T. infestans* (tipo “dark morph”) únicamente en los alrededores de San Silvestre y no de Rancho Nuevo, durante la tercera exploración hecha a 4 km del pueblo, 4,3% de las trampas fueron positivas, pero la tasa de infección de estos triatomos no pudo determinarse. En la ecoregión BSIA, áreas muy infestadas por *T. infestans* y cercanas a las viviendas (50 m a 500 m) fueron identificadas: en Quillacollo 29,6% de las trampas fueron positivas (702 *T. infestans*, 2,1 *T. infestans* /

trampa positiva), en Sapini 20,2% (216 *T. infestans*, 2,4 *T. infestans* / trampa positiva), y en Thago Thago 16,8% (318 *T. infestans*, 2,5 *T. infestans* / trampa positiva). Asimismo, la tasa de infección por *T. cruzi* de los insectos silvestres fue muy alta, de 40,7% en Quillacollo, 88,5% en Sapini y es intermedia en Thago Thago.

Cinética de la reinfestación. En los dos pueblos de la ecoregión GC, el seguimiento entomológico (búsqueda activa de triatominos en los pueblos), realizado desde diciembre de 2007 hasta enero de 2011, después de la fumigación de todas las casas, ha demostrado que la reinfestación llegó a niveles muy elevados, aunque las viviendas con triatominos fueran nuevamente tratadas en cada control. En enero de 2011, 37 meses después del tratamiento por insecticida, la tasa de reinfestación intradomiciliaria fue la más alta en Rancho Nuevo (37,6%). En San Silvestre la reinfestación aún persistía (16,6%). Por otro lado, las tasas de infección de los triatominos antes de la fumigación alcanzaron el 28,6% en Rancho Nuevo y 5,3% en San Silvestre (PCR multiplex MMPCR) y no bajaron durante los controles. La reinfestación de estos pueblos no puede tener como origen las poblaciones silvestres circundantes ya que son extremadamente raras. Esta situación puede tener dos causas principales: la cobertura incompleta del tratamiento por insecticidas durante los controles, ya que el número de viviendas sin supervisión es considerable (casas cerradas por ausencia de los habitantes), y el desarrollo de una resistencia a los insecticidas, ya que las colonias de *T. infestans* provenientes de los dos pueblos presentaron niveles significativos de resistencia a la deltametrina.

En la zona periurbana de Quillacollo (BSIA), en septiembre de 2009, febrero y junio de 2010, se llevaron a cabo encuestas entomológicas en 176 casas elegidas al comienzo del estudio. Durante este periodo, no se aplicó ningún tratamiento insecticida debido a que las autoridades locales no contaban con personal. Se encontraron triatominos exclusivamente en peridomicilios (infestación = 14,7%) y su tasa de infección fue baja (2,2%, cifra promedio de las tres encuestas después de un examen microscópico de heces). Desde septiembre de 2009 y durante 9 meses, se solicitó a los residentes que recolectaran los triatominos que vieran en sus viviendas; capturaron especímenes de *T. infestans* afuera y adentro de sus casas (infestación intradomiciliaria 8,5%) pero ningún insecto era portador del parásito (examen por microscopía). Dos colonias de *T. infestans* provenientes de insectos capturados en peridomicilio presentaron sensibilidad a la deltametrina. Las otras dos áreas compartidas son rurales y se encuentran a una altura de alrededor de 2000 m en la ecoregión BSIA. En Sapini (Depto. de La Paz) se efectuó una sola visita a las viviendas (N = 27) en octubre de 2010. Estos resultados han confirmado los

datos comunicados por las autoridades sanitarias (seguimiento entomológico de 2000 a 2010) demostrando una persistencia de la reinfestación de los peridomicilios y una penetración ocasional dentro de las casas (infestación peri e intradomiciliaria de 30%), a pesar de los tratamientos insecticidas aplicados con regularidad por las autoridades sanitarias. La tasa de infección de los triatominos capturados fue de 25% (examen por microscopía). En Thago Thago (Depto. de Potosí), el seguimiento entomológico de las viviendas de septiembre de 2010 a abril de 2011, en el marco de las búsquedas activas y la vigilancia de los habitantes, ha demostrado también una situación análoga de persistencia de la infestación peri e intradomiciliaria con tasas de infestación comparables. Lamentablemente, no se pudo evaluar el nivel de sensibilidad a los insecticidas en las poblaciones domésticas de los dos pueblos.

Genética de poblaciones de vectores, evolución y epidemiología. *Filogeografía de T. infestans.* El estudio filogeográfico de las poblaciones silvestres de *T. infestans* (secuenciación de los genes ITS-2 y CytB), revela un posible origen andino de la especie, en la ecoregión del “Chaco Serrano” (CS), que es intermedia entre las ecoregiones PP-BSIA y GC, y no en la ecoregión BSIA como se sugirió anteriormente,²⁸ sin embargo, los focos silvestres parecen ser muy escasos en esta ecoregión (CS).

Fenómeno de domesticación. La observación de haplotipos comunes (CytB) en los medios silvestre y doméstico de BSIA y de GC,^{28, 29} sugiere que los eventos de domesticación de la especie son múltiples y no provienen de un evento único en los valles altos de Cochabamba, como se propuso anteriormente.

Origen de las reinfestaciones. La reinfestación observada en los dos pueblos de las áreas compartidas del GC (Rancho Nuevo y San Silvestre), provendría de poblaciones remanentes (análisis de las secuencias ITS-2 y CytB)²⁹. Además, se observó una fuerte estructuración de las poblaciones de *T. infestans* entre los pueblos, aunque no existen barreras geográficas entre ellos. Por otra parte, estas poblaciones derivan de la mezcla de poblaciones originarias del GC y de poblaciones andinas probablemente introducidas accidentalmente por los seres humanos durante migraciones.

En las otras 3 áreas compartidas de la ecoregión BSIA (Quillacollo, Sapini y Thago Thago) se analizaron, mediante 7 marcadores microsatélites, los flujos de genes entre las poblaciones capturadas en el espacio silvestre y las capturadas en ambientes peridomésticos y domésticos. En cada área se tomaron en cuenta varias poblaciones en función de criterios de proximidad y se analizaron un total de 25 poblaciones. En las tres áreas no se observó diferenciación significativa entre poblaciones silvestres por un lado y peridomésticas o

domésticas por otro lado. En Quillacollo y Sapini se identificaron dos grupos genéticos (análisis con el programa STRUCTURE) que agruparon cada uno a varias poblaciones silvestres o peri-intra domésticas. En Thago Thago se presentó una situación diferente siendo detectados 9 grupos genéticos. El examen del grado de asignatura de cada insecto entre estos 9 grupo genéticos permitió concluir a movimientos de los insectos entre los dos medios. Varios insectos que sean silvestres o domésticos tenían un origen híbrido. Estos resultados reflejan, en las tres áreas, la existencia de flujo genético entre las poblaciones de los diferentes medios y apoya el origen silvestre de las poblaciones que se encuentran en el hábitat humano.

Tipificación genética de las poblaciones de *T. cruzi*. *Identificación de las DTUs.* El método MMPCR de tipificación rápida y directa de *T. cruzi* a partir del tubo digestivo de los triatominos (extracción del ADN sin aislamiento de cepas), asociado a la secuenciación del gen de la enzima *Gpi*, aplicada a la identificación de las DTUs (6 descritas en *T. cruzi*: TcI a TcVI), ha permitido determinar que *T. infestans* silvestres de la ecoregión BSIA, están en su mayoría infectados por TcI (99,1%) y marginalmente por TcIII (0,9%). Sin embargo pocos datos se pudieron obtener en las otras ecoregiones donde hay *T. infestans* silvestres: 7 TcI en PP, 1 TcIII en CS, 1 TcI y 1 TcII en GC. *T. infestans* domésticos recogidos antes y después del tratamiento insecticida en los dos pueblos del GC, albergaban 5 de las 6 DTUs. Las DTUs que infectan a *T. infestans* domésticos en BSIA están en proceso de determinación.

Genética de poblaciones. Un primer análisis de genética de poblaciones³⁰ basado en el polimorfismo de los microsatélites (8 loci) de cepas bolivianas y peruanas, mayoritariamente domésticas aisladas anteriormente, ha mostrado el interés de este marcador en la exploración de la variabilidad genética intra-DTU, ha permitido también brindar información sobre el modo de reproducción (clonalidad frente a recombinación). El análisis reciente de 6 poblaciones potencialmente panmícticas (recolectadas en pequeñas áreas) correspondientes a 79 cepas de la DTU TcI aisladas de *T. infestans* silvestre, no ha permitido desechar la hipótesis de panmixia en las poblaciones y plantea la hipótesis de una reproducción “sexuada” de *T. cruzi* en zonas silvestres. Además, a menudo hay una fuerte diferenciación genética entre estas poblaciones de parásitos, aunque las poblaciones de *T. infestans* que las alberga están geográficamente poco alejadas.

CONCLUSION

El proyecto TiBo ha puesto en evidencia la amplia distribución de las poblaciones de *T. infestans* silvestres en Bolivia, sobre todo en los Andes ecoregiones

Bosques Secos Interandinos (BSIA), Prepuna (PP)] y Gran Chaco (GC), donde las poblaciones del vector, que a menudo se encuentran cerca de los poblados, deben ser consideradas un riesgo para la salud pública, más aun si las tasas de infección por el parásito son sumamente elevadas. Esta amplia distribución fue ahora confirmada por los recientes descubrimientos de nuevos focos de *T. infestans* silvestres en Chile, Argentina y Paraguay, sin embargo su papel epidemiológico todavía se encuentra poco documentado en estos países.^{31, 32, 33} Las encuestas entomológicas realizadas durante el proyecto y la vigilancia llevada a cabo por los habitantes en las cinco áreas compartidas (3 en BSIA y 2 en GC), que incluyen cada una de las viviendas humanas (domicilio y peridomicilio) y el entorno silvestre cercano, han puesto en evidencia la persistencia de la reinfestación del hábitat humano. Los análisis de genética de poblaciones han mostrado que en los Andes las poblaciones silvestres se desplazan hacia el hábitat humano y son con mucha probabilidad la causa de la reinfestación. En el Gran Chaco, donde las poblaciones silvestres son poco abundantes, la reinfestación tiene como origen poblaciones domésticas residuales, relacionadas a una cobertura incompleta de las intervenciones de control durante las campañas de lucha, y también a una resistencia de los insectos a la deltametrina. Por otra parte, estos análisis han permitido proponer argumentos a favor (i) de una nueva área de origen de *T. infestans* (CS) y (ii) de varios eventos de domesticación de la especie.

Los análisis de genética de poblaciones parasitarias han puesto en evidencia la infección de las poblaciones andinas silvestres de *T. infestans* mayormente por la DTU TcI y marginalmente por TcIII, así como de las poblaciones domésticas reinfestantes en el Chaco, por 5 de las 6 DTU descritas. Lo más destacado respecto a las poblaciones del parásito es el resultado de los análisis del polimorfismo microsatélite de las poblaciones silvestres en las cuales no se puede rechazar la hipótesis de panmixia, lo que sugiere fuertemente la intervención de la recombinación en la reproducción de estos parásitos.

Ya sea que se trate de la amplia distribución de los focos silvestres de *T. infestans* descubiertos particularmente en los Andes, la reinfestación del hábitat humano por el vector a partir del entorno natural cercano, o la alta tasa de infección de estos triatominos por *T. cruzi*, los resultados de este estudio muestran claramente que en adelante las poblaciones silvestres de *T. infestans* deben tomarse en consideración en el control de la enfermedad de Chagas tanto en Bolivia como en los otros países del Cono Sur, donde este vector es el principal responsable de la transmisión parasitaria.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a las instituciones financiadoras del presente proyecto: "Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Agence Nationale de la Recherche (ANR) de Francia en el marco de su programa "Salud-Medio ambiente y Salud-Trabajo", SEST2007, UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Program for Research and Training in Tropical Diseases (TDR, No. A70596), IDRC Canada Grant No. 103696-012. Agradecemos al Dr. R. Gütlér (Universidad de Buenos Aires) coordinador de los proyectos TDR e IDRC. Agradecemos también a los señores Abdul Castillo y Marcelo Claure por el apoyo brindado al proyecto en el trabajo de terreno.

REFERENCIAS

1. WHO, World Health Organization Global health atlas. Available: <http://www.who.int/globalatlas/>. 2007. Accessed 2 March 2008.
2. Hotez PJ, Bottazzi ME, Franco-Paredes C, Ault SK, Periago MR. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. *PLoS Neg Trop Dis*. 2008; 2: 300.
3. Schmunis GA, Yadon ZE. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta Trop*. 2010; 115: 14-21.
4. Moncayo A, Silveira AC. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009; 104 Suppl 1: 17-30.
5. Picoll, MI, Vassena C, Santo Orihuela P, Barrios S, Zaidenberg M, Zerba E. High resistance to pyrethroid insecticides associated with ineffective field treatments in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Northern Argentina. *J Med Entomol*. 2005; 42: 637-642.
6. Lardeux F, Depickère S, Duchon S, Chávez T. Insecticide resistance of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) vector of Chagas disease in Bolivia. *Trop Med Int Health*. 2010 Jun 9; [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20545921.
7. Noireau F. Wild *Triatoma infestans*, a potential threat that needs to be monitored. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009; 104 Suppl 1: 60-64.
8. Torrico RA. Hallazgo de *Eratyrus mucronatus*, infestación natural de "vinchucas" de cerro y *Eutritoma sordida* en Cochabamba. *An Lab Central Cochabamba*. 1946; 1, 19-23.
9. Dujardin JP, Tibayrenc M, Venegas E, Maldonado L, Desjeux P, Ayala FJ. Isozyme evidence of lack of speciation between wild and domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) in Bolivia. *J Med Entomol*. 1987; 24: 40-45.
10. Schofield CJ. Parasitology Today readership survey. *Parasitol Today*. 1988 Jun; 4(6):153-5.
11. Panzera F, Dujardin JP, Nicolini P, Caraccio MN, Rose V, Tellez T, Bermudez H, Bargues MD, Mas-Coma S, O'Connor JE, Perez R. Genomic changes of Chagas disease vector, South America. *Emerg Infect Dis*. 2004 Mar; 10(3):438-446.
12. Bargues MD, Klisiowicz DR, Panzera F, Noireau F, Marcilla A, Perez R, Rojas MG, O'Connor JE, Gonzalez-Candelas F, Galvao C, Jurberg J, Carcavallo RU, Dujardin JP, Mas-Coma S. Origin and phylogeography of the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* based on nuclear rDNA sequences and genome size. *Infect Genet Evol*. 2006; 6: 46-62.
13. Cortez MR, Monteiro FA, Noireau F. New insights on the spread of *Triatoma infestans* from Bolivia-implications for Chagas disease emergence in the southern cone. *Infect Genet Evol*. 2010; 10: 350-353.
14. Noireau F, Flores R, Gutierrez T, Dujardin JP. Detection of sylvatic dark morphs of *Triatoma infestans* in the Bolivian Chaco. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1997; 92: 583-584.
15. Noireau F, Flores R, Gutierrez T, Abad-Franch F, Flores E, Vargas F. Natural ecotopes of *Triatoma infestans* dark morph and other sylvatic triatomines in the Bolivian Chaco. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2000; 94: 23-27.
16. Noireau F, Cortez MG, Monteiro FA, Jansen AM, Torrico F. Can wild *Triatoma infestans* foci in Bolivia jeopardize Chagas disease control efforts? *Trends Parasitol*. 2005; 21: 7-10.
17. Ibisch PL, Beck SG, Gerckmann B, Carretero A. La Diversidad biológica, in: (eds. Ibisch PL, Mérida G), Biodiversidad: la riqueza de Bolivia. Estado de conocimiento y conservación. FAN Bolivia, Santa Cruz de la Sierra. 2008; 47-51.
18. Noireau F, Abad-Franch F, Valente SA, Dias-Lima A, Lopes CM, Cunha V, Valente VC, Palomeque FS, de Carvalho-Pinto CJ, Sherlock I, Aguilar M, Steindel M, Grisard EC, Jurberg J. Trapping Triatominae in silvatic habitats. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002; 97: 61-63.
19. Fernandes O, Santos SS, Cupolillo E, Mendonça B, Derre R, Junqueira AC, Santos LC, Sturm NR, Naiff RD, Barret TV, Campbell DA, Coura JR. A mini-exon multiplex polymerase chain reaction to distinguish the major groups of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Brazilian Amazon. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2001; 95: 97-99.
20. Broutin H, Tarrieu F, Tibayrenc M, Oury B, Barnabé C. Phylogenetic analysis of the glucose-6-phosphate isomerase gene in *Trypanosoma cruzi*. *Exp Parasitol*. 2006; 113: 1-7.
21. Aliaga C, Brenière SF, Barnabé C. Further interest of miniexon multiplex PCR for a rapid typing of *Trypanosoma cruzi* DTU groups. *Infect Genet Evol*. 2011; 11: 1155-1158.
22. Buitrago R, Depickère S, Bosseno MF, Siñani E, Waleckx E, Salas R., Aliaga C., Brenière SF. Combination of cytochrome-b heteroduplex-assay and sequencing for identification of Triatomine bloodmeals. *Infect Genet Evol*. 2012; 12: 21-27.
23. Marcilla A, Bargues MD, Ramsey JM, Magallon-Gastelum E, Salazar-Schettino PM, Abad-Franch F, Dujardin JP, Schofield CJ, Mas-Coma S. The ITS-2 of

- the nuclear rDNA as a molecular marker for populations, species, and phylogenetic relationships in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vectors of Chagas disease. *Mol Phyl Evol.* 2001; 18: 136-142.
24. Lyman DE, Monteiro FA, Escalante AA, Cordon-Rosales C, Wesson DM, Dujardin JP, Beard CB. Mitochondrial DNA sequence variation among triatomine vectors of Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 60 : 377-386.
 25. Buitrago R, Waleckx E, Bosseno MF, Zoveda F, Vidaurre P, Salas R, Mamani E, Noireau F, and Brenière SF. First Report of widespread wild populations of *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) in the valleys of La Paz-Bolivia. *Am J Trop Med Hyg.* 2010; 82 (4): 574-579.
 26. Waleckx E, Depickère S, Salas R, Aliaga C, Monje M, Calle H, Buitrago R, Noireau F, Brenière SF. New Discoveries of sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) Throughout the Bolivian Chaco. *Am J Trop Med Hyg.* In Press.
 27. Roca Acevedo G, Cueto GM, Germano M, Orihuela PS, Cortez MR, Noireau F, Picollo MI, Vassena C, Susceptibility of sylvatic *Triatoma infestans* from Andean valleys of Bolivia to deltamethrin and fipronil. *J Med Entomol.* 2011; 48 (4): 828-35.
 28. Waleckx E, Salas R, Huamán N, Buitrago R, Bosseno MF, Aliaga C, Barnabé C, Rodríguez R, Zoveda F, Monje M, Baune M, Quisberth S, Villena E, Kengne P, Noireau F, Brenière SF. New insights on the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) brought by the genetic analysis of Bolivian sylvatic populations. *Infect Genet Evol.* 2011; Jul, 11(5): 1045-57.
 29. Quisberth S, Waleckx E, Monje M, Chang B, Noireau F, Brenière SF. "Andean" and "non-Andean" ITS-2 and mtCytB haplotypes of *Triatoma infestans* are observed in the Gran Chaco (Bolivia): population genetics and the origin of reinfestation. *Infect Genet Evol.* 2011; *Infect Genet Evol.* 2011 Jul; 11(5):1006-14.
 30. Barnabé C, De Meeûs T, Noireau F, Bosseno MF, Monje EM, Renaud F, Brenière SF. *Trypanosoma cruzi* discrete typing units (DTUs): Microsatellite loci and population genetics of DTUs TcV and TcI in Bolivia and Peru. *Infect Genet Evol.* 2011 Oct; 11(7) 1752-1760.
 31. Bacigalupo A, Torres-Pérez F, Segovia V, García A, Correa JP, Moreno L, Arroyo P, Cattán PE. Sylvatic foci of the Chagas disease vector *Triatoma infestans* in Chile: description of a new focus and challenges for control programs. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2006; 105: 633-641.
 32. Ceballos LA, Piccinal, RV, Berkunsk, I, Kitron U, Gurtler RE. First finding of melanic sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) colonies in the Argentine Chaco. *J Med Entomol.* 2009; 46: 1195-1202.
 33. Rolón M, Veg M.C, Román F, Gómez A, Rojas de Arias A. First report of colonies of sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Paraguayan Chaco, using a trained dog. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5: 10-26.