

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UNIDAD DE POSGRADO

**“EVALUACION DE POTENCIALES
RESERVORIOS SILVESTRES DE *Trypanosoma*
sp. EN CUATRO LOCALIDADES DE LOS
DEPARTAMENTOS DE AMAZONAS Y
LORETO”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magister en Zoología con mención en
Ecología y Conservación

AUTOR

Nancy Victoria Carlos Erazo

Lima – Perú

2015

CONTENIDO

	Pag.
Agradecimientos	i
Dedicatoria	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	11
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	
4.1 Área de estudio	12
4.2 Captura, contención química y colección de la muestra	15
4.3 Análisis de laboratorio	20
4.4 Análisis de Datos	21
V. RESULTADOS	
5.1 Composición y abundancia	24
5.2 Esfuerzo y éxito de captura	24
5.3 Indicadores de biodiversidad	25
5.4 Presencia de especies reservorio conocido de <i>Trypanosoma cruzi</i>	25

5.4 Presencia de <i>Trypanosoma</i> sp.	26
---	----

VI. DISCUSIÓN

6.1 Composición, abundancia e índices de biodiversidad	27
6.2 Protocolo anestésico	28
6.3 Frecuencia de especies reservorio conocido de <i>Trypanosoma cruzi</i>	29
6.4 Caracterización de las cepas de <i>Trypanosoma</i> sp.	30
6.5 Frecuencia <i>Trypanosoma</i> sp.	31
6.6 Factores predisponentes	38

VII. CONCLUSIONES	40
-------------------	----

VIII. RECOMENDACIONES	41
-----------------------	----

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
--------------------------------	----

X. ANEXOS	56
-----------	----

Anexo N°1. . Relación de algunas especies de roedores, marsupiales y quirópteros reportadas como reservorio de *Trypanosoma cruzi* en el Latinoamérica.

Anexo N°2. Centros Poblados El Ron y Tres Marías en la provincia de Utcubamba, departamento de Amazonas.

Anexo N°3. Caserío Manacamiri y Cahuide, provincia de Maynas, departamento de Loreto.

Anexo N°4. Trampas para roedores colocadas en el departamento de Amazonas y Loreto, 2013.

Anexo N°5. Murciélago capturado en una red de neblina en el departamento de Loreto, 2013.

- Anexo N°6. Marsupial capturado y anestesiado en el departamento de Amazonas, 2012.
- Anexo N°7. Murciélago captura y anestesiado en el departamento de Loreto, 2013.
- Anexo N°8. Roedor (*Proechimys* sp.) capturado y anestesiado en el departamento de Loreto, 2013.
- Anexo N°9. Toma de xenodiagnóstico en el roedor (*Mus musculus*) capturado en el departamento de Amazonas, 2012.
- Anexo N°10. Toma de xenodiagnóstico en el marsupial (*Philander opossum*) capturado en el departamento de Loreto, 2013.
- Anexo N°12. Toma de xenodiagnóstico en un quiróptero capturado en el departamento de Loreto, 2013.
- Anexo N°13. Obtención de las heces de triatominos utilizados en la técnica de xenodiagnóstico, 2013.
- Anexo N° 14. Trypomastigote de *Trypanosoma* sp., utilizando la tinción Giemsa a 100x, 2013.
- Anexo N°15. Especies de potenciales hospederos de *Trypanosoma* sp. capturadas en los departamentos de Amazonas y Loreto, 2012-2013.
- Anexo N°16. Indicadores de biodiversidad según la localidad muestreada en los departamentos de Amazonas y Loreto, 2012-2013
- Anexo N°17. Presencia de especies capturadas y conocidas como reservorios de *Trypanosoma* sp. conocidas por departamento y localidad, 2012-2013.
- Anexo N° 18. Porcentaje de la presencia de especies capturadas y reservorios de *Trypanosoma* sp. conocidas, por localidad y departamento, 2012-2013.
- Anexo N°19. Frecuencia de animales positivos a *Trypanosoma* sp. utilizando la técnica de xenodiagnóstico en cuatro localidades de los departamentos de Amazonas y Loreto, 2012-2013.
- Anexo N°20. Porcentaje de individuos positivos a *Trypanosoma* sp. utilizando la técnica de xenodiagnóstico por localidad y departamento, 2012-2013.

Anexo N°21. Presencia de animales positivos a *Trypanosoma sp.* utilizando la técnica de xenodiagnóstico en los departamentos de Amazonas y Loreto, 2012-2013.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Hilda Solís Acosta quien guió este estudio con sus conocimientos,
paciencia y dedicación.

A Fernando Pancorbo quien ayudo en la captura e
identificación de las especies.

Al financiamiento CON-CON otorgado por el Vicerrectorado de
Investigación.

Personal técnico del Laboratorio de Parasitología de Instituto de Medicina
Tropical “Daniel A. Carrión”-UNMSM por su apoyo en la preparación
y análisis de las muestras.

DEDICATORIA

A mi madre y hermanas que me han apoyado y servido de ejemplo para
toda mi carrera profesional.

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo evaluar los potenciales reservorios silvestres de *Trypanosoma* sp. en cuatro localidades de los departamentos de Amazonas y Loreto, capturando y analizando marsupiales, roedores y quirópteros en busca de este protozoo. Además, se comparó la diversidad y presencia de *Trypanosoma* sp. en hospederos silvestres del departamento de Amazonas y Loreto, área endémica y no endémica de la enfermedad de Chagas, respectivamente. El estudio se realizó en los centros poblados el Ron y Tres Marías, provincia de Utcubamba departamento de Amazonas y los caseríos Cahuide y Manacamiri en la provincia de Maynas, departamento de Loreto. Los roedores y marsupiales fueron capturados utilizando trampas Tomahawk y Sherman, y para los quirópteros se utilizó redes de neblina. Los animales capturados fueron anestesiados para aplicar la técnica de xenodiagnóstico. Se determinó los índices de biodiversidad utilizando el programa Past; para el análisis porcentual y Prueba Exacta de Fisher se utilizó el software STATA. Se capturaron 95 individuos correspondiendo a 16 especies, Loreto mostro mayor diversidad de especies y abundancia, sin embargo Amazonas mostro mayor abundancia de individuos reservorio conocidos de *Trypanosoma* sp. El 10, 68% (5/47) de los individuos fueron positivos a *Trypanosoma* sp.: *Didelphis marsupialis* (2/3), *Mus musculus* (1/7) y *Phyllostomus elongatus* (2/4). El quiróptero *Phyllostomus elongatus* se reporta como nueva especie de reservorio de *Trypanosoma* sp. para el Perú. Además, se lograron aislar las cepas *Trypanosoma* sp. obtenidas en los reservorios silvestres estudiados, que según las características morfológicas son compatibles con *Trypanosoma cruzi*. Por último, se obtuvieron nuevos protocolos anestésicos para los quirópteros y marsupiales capturados.

Palabras claves: Amazonía, *Tripanosomiasis*, reservorios, xenodiagnóstico

ABSTRACT

The study aimed to assess the potential wild reservoirs of *Trypanosoma* sp. in four localities of the departments of Amazonas and Loreto, capturing and analyzing marsupials, rodents and bats in search of this protozoan. In addition, diversity and presence of *Trypanosoma* sp. wild hosts in Amazonas and Loreto department, endemic and non-endemic area of Chagas disease respectively. The study was conducted in two population centers Ron y Tres Marias in the province of Utcubamba, Amazonas department and Cahuide and Manacamiri villages in the province of Maynas, Loreto department. Rodents and marsupials were captured using Tomahawk and Sherman traps, and bats used mist nets. Captured animals were anesthetized for xenodiagnosis technique. Biodiversity indices using the Past program were determined; for the percentage analysis and Fisher Exact Test was used STATA software. 95 individuals corresponding to 16 species, Loreto showed greater species diversity and abundance were captured, however Amazonas showed greater abundance of individuals known reservoir of *Trypanosoma* sp. The 10, 68% (5/47) of the individuals were positive for *Trypanosoma* sp.: *Didelphis marsupialis* (2/3), *Mus musculus* (1/7) and *Phyllostomus elongatus* (2/4). The chiropteran *Phyllostomus elongatus* reported as a new reservoir of *Trypanosoma* sp. for Peru. Furthermore, *Trypanosoma* sp. strains were isolated. obtained in the studied wild reservoirs, according to the morphological characteristics that are compatible with *Trypanosoma cruzi*. Finally, news anesthetic protocols for bats and marsupials captured were obtained.

Key words: Amazon, Trypanosomiasis, reservoirs, xenodiagnoses

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es causada por el protozooario *Trypanosoma cruzi*, la cual constituye uno de los grandes problemas de salud pública en muchos países de Latinoamérica, con graves repercusiones socio económicas (Solís *et al.*, 2003; OMS, 2002). Se ha reconocido a esta enfermedad como un problema emergente que debe ser monitoreado en la cuenca Amazónica (Guhl, 2009; Coura *et al.*, 2002). En el Perú existe un 9% de prevalencia y en la última década existen evidencias que llevarían a considerarla como una enfermedad emergente en la Amazonía peruana (Cabrera *et al.*, 2009; Náquira y Cabrera, 2009).

El ciclo vital de *T. cruzi* involucra a un hospedero mamífero y a un insecto hematófago que actúa como vector (Salazar *et al.*, 2005). Los reservorios naturales de *T. cruzi* son los mamíferos domésticos, sinantrópicos y silvestres. En nuestro país, los principales reservorios son los roedores domésticos como el cobayo o cuy (*Cavia porcellus*) y sinantrópicos y silvestres como *Mus musculus*, *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus*; además del marsupial *Didelphis marsupialis* (Ayaqui, 1991; Ayaqui, 1988). Sin embargo, en la Amazonía peruana la información respecto al tema es muy escasa. Poco se sabe sobre las particularidades de la interacción de este parásito con la mayoría de sus reservorios silvestres.

Por otro lado, el impacto de las enfermedades parasitarias sobre las poblaciones animales en estado silvestre ha sido reconocido como un factor importante que influye en la distribución y densidad de las especies (Anderson, 1979). Cuando el equilibrio se altera pueden aparecer enfermedades emergentes o

reemergentes. Es necesario conocer el impacto que tendrían las enfermedades infecciosas sobre la dinámica y la sostenibilidad de las poblaciones de vida silvestre (Dasak *et al.*, 2001; Holmes, 1996; MacCallum y Dobson, 1995).

La Amazonía está siendo afectada por la incursión del hombre y su establecimiento en forma precaria en zonas rurales, acompañada de animales domésticos que favorecen la presencia de los vectores y el riesgo consiguiente para adquirir la infección con *T. cruzi*. (OMS, 2002). Reconfigurándose los ciclos de transmisión, se incorpora así a los seres humanos y los animales domésticos en la cadena epidemiológica, existiendo intercambios entre los ciclos silvestres y doméstico (Tartarotti *et al.*, 2004). Además, considerando la gran biodiversidad de la Amazonía peruana, que bajo ciertas condiciones, podría favorecer la cercanía de los hombres con animales silvestres como los marsupiales que son potenciales reservorios silvestres de *T. cruzi* (Schweigmann, 1994; OMS, 1991).

Por lo expuesto, el objetivo del estudio fue evaluar los potenciales reservorios silvestres de *Trypanosoma sp.* en cuatro localidades de los departamentos de Amazonas y Loreto. Para lo cual, se realizó la captura y anestesia de marsupiales, roedores y murciélagos en el departamento de Loreto (área no endémica de la enfermedad) y Amazonas (área endémica de la enfermedad) para aplicar la técnica de xenodiagnóstico. Además, de evaluar la diversidad de roedores, marsupiales y murciélagos en ambas zonas y su relación con la frecuencia de infección de *Trypanosoma sp.* Esta información es necesaria para mejorar los planes de control de la enfermedad ayudando a caracterizar las áreas de riesgo, así como un futuro conocer el efecto en la morbilidad o mortalidad e implicancias en dinámica población del hospedero reservorio.

II. ANTECEDENTES

El impacto de las enfermedades parasitarias sobre las poblaciones de animales en estado silvestre ha sido reconocido como un factor importante que influye en la distribución y densidad de las especies (Anderson, 1979). Asimismo, las parasitosis están condicionadas por factores biológicos y ambientales que actúan como presiones de selección natural y han sido identificadas como componentes críticos para la biología de la conservación. El impacto de los parásitos no solo tiene implicancias en la supervivencia y reproducción de los individuos de la población hospedadora, sino también en la estructura de edades, la dispersión, la diversidad genética, la abundancia relativa y la estructura de la comunidad ecológica (Scott, 1988).

Las condiciones ambientales y las características poblacionales de los hospederos (como el estado nutricional y densidad) juegan un papel determinante en la distribución de sus infecciones parasitarias (Scott, 1988). La fragmentación de los hábitats altera la composición de las especies, muchas de ellas son hospedadoras de patógenos, incrementando el riesgo de transmisión de agentes infecciosos como los parásitos (Patz *et al.*, 2004; Holmes, 1996).

Los agentes patógenos (como parásitos y bacterias) de animales silvestres contribuyen al incremento de las enfermedades emergentes y re-emergentes como una amenaza para la salud pública. La emergencia de enfermedades humanas ocurre cuando los patógenos de los hospedadores silvestres pueden saltar y mutar en la especie humana. Además, se puede darse cuando los patógenos pueden

seguir transfiriéndose entre diferentes especies animales, y continuar siendo reservorios, convirtiéndose así en enfermedades epizoóticas (Morse, 1995). Es importante comprender la dirección del flujo en los ciclos de vida del parásito para determinar cómo se establecen los reservorios silvestres de enfermedades parasitarias (Thompson *et al.*, 2009; Thompson y Murrel, 2005).

Por otro lado, la enfermedad de Chagas es causada por el protozoario *Trypanosoma cruzi* y es considerada como una enfermedad endémica en 21 países de Latinoamérica (OMS, 2002). Las comunidades indígenas se encuentran particularmente en riesgo de infección debido a sus problemas sociales, ecológicos, condiciones ambientales y culturales. Estas condiciones son ventajosas para el establecimiento de los insectos vectores y la posible transmisión del parásito (Calzada *et al.*, 2010, Dib *et al.*, 2006; Parra *et al.*, 2004; Verdú y Ruiz, 2003). La presencia de triatominos en ambientes naturales representa una posibilidad de fuente de infestación de residencias y también contribuye al mantenimiento del ciclo silvestre del parásito (Carcavallo *et al.*, 1998).

Se ha reportado 1 000 casos agudos de la Enfermedad de Chagas, de los cuales 138 fueron brotes en la Cuenca Amazónica y 776 han sido atribuidos a la ingestión de alimentos contaminados con heces de triatominos infectadas (Shikanai *et al.*, 2012).

En el Perú, la pobreza en las zonas rurales del país condiciona viviendas ligeras de adobe o barro no enlucidas en las que el hombre convive con el cuy (*Cavia porcellus*) y otros animales domésticos, lo que favorece la presencia de los vectores y el riesgo consiguiente para adquirir la infección. (INS, 2011; Cornejo 1963; 1962).

Existen dos regiones endémicas: la suroccidental (departamentos de Arequipa, Tacna, Moquegua e Ica) y la selva norte (departamentos de Cajamarca, Amazonas y San Martín) (Cuba *et al.*, 2002; MINSA, 1998; Apt y Reyes, 1990). En el departamento de Amazonas se encontró el vector *Panstrongylus herreri* en el 9.7% de viviendas inspeccionadas y un índice trypano-triatominico de 62,4% (Cáceres *et al.*, 2006; Sulca, 2004; Cáceres *et al.*, 2002). En 31 localidades de la provincia de Utcubamba, en menores de 15 años, una seroprevalencia de 5,8% utilizando el método de IFI (Vega *et al.*, 2005). Además, se han capturado diferentes especies de triatominos (*Panstrongylus herreri*, *Panstrongylus chinai*, *Panstrongylus geniculatus* y *Rhodnius robustus*) en Bagua, Condorcanqui y Utcubamba, lo cual es considerado como un riesgo para contraer la enfermedad de Chagas (Cáceres *et al.*, 2002).

En el departamento de Loreto, distrito de Pebas, se realizó un estudio en 104 pobladores con un promedio de edad de 18 años, encontrandó una seroprevalencia de IgG anti-*T. cruzi* de 1/104 (0,96%) utilizando el método de ELISA y de IFI (1/32). Además, se han reportado cinco especies de triatominos (*Cavernicola pilosa*, *Eratyrus mucronatus*, *Panstrongylus geniculatus*, *Rhodnius robustus*, *Rhodnius pictipes*) (Cabrera *et al.*, 2010; Náquira y Cabrera 2009).

El ciclo vital de *T. cruzi* involucra a un hospedero mamífero y a un insecto hematófago que actúa como vector (Salazar-Schettino *et al.*, 2005). El ciclo biológico se inicia cuando un triatmino portador del parásito se alimenta de un mamífero, ingiere sangre y simultáneamente defeca. En las deyecciones se encuentran las formas de tripomastigotes metacíclicos que ingresan por el lugar de la picadura o por erosiones de la piel y son fagocitados, fundamentalmente por macrófagos. En la célula hospedera, el tripomastigote se diferencia en amastigote. Esta forma celular inicia numerosos ciclos de división, ocupando el citoplasma de la célula hospedera (Tyler y Engman, 2001).

Posteriormente, los amastigotes se diferencian a tripomastigotes altamente móviles, que son liberados al torrente sanguíneo desde donde infectan otras células blanco, tales como las ganglionares y musculares (Andrade y Andrew, 2005). Estos tripomastigotes sanguíneos, cuando son ingeridos por triatominos, se diferencian en el intestino anterior a epimastigotes que se dividen y migran hacia el intestino posterior del insecto, para luego diferenciarse en tripomastigotes metacíclicos. Una vez que se despegan de la pared intestinal, son eliminados por las heces del triatomo, cerrando el ciclo de vida (Tyler y Engman, 2001).

Los reservorios naturales desempeñan un papel importante en el mantenimiento de los ciclos domésticos y silvestres de *T. cruzi* (OMS, 2002). Se han identificado alrededor de 200 especies de mamíferos silvestres y domésticos, entre los animales domésticos reportados se encuentran el perro (*Canis familiaris*), el gato (*Felis catus*), el cerdo (*Sus scrofa*), la cabra (*Capra hircus*) y el cobayo (*C. porcellus*) (Mallimaci *et al.*, 2001; Brener *et al.*, 2000; Brener, 1973; Hoare, 1972; Ferriolli *et al.*, 1968; Hoare, 1964).

En la mayor parte del Continente Americano se ha identificado diversas especies de mamíferos silvestres (terrestres y arbóreos) infectados de forma natural con *T. cruzi* (OMS, 2002). Se han encontrado en el orden Didelphimorphia (*Didelphis marsupialis*, *Didelphis albiventris*, *Philander opossum*, *Marmosa cinérea* y *Thylamis elegans*), Chiroptera (*Glossophaga soricina*, *Molossus spp.* y *Phyllostomus spp.*), Rodentia (*Rattus rattus*, *Octodon degus*, *Abrotis olivaceus*, *Proechymis semiespinosus*, *Heteromys anomalus* y *Phyllotis darwini*), Xenarthra (*Cyclopes didactylus*, *Tamandua tetradactyla* y *Dasybus novemcinctus*), Carnivora (*Nasua nasua* y *Eira barbara*) y Primate (*Saimiris sciurus*, *Cebus apella* y *Alouatta caraya*) (Mejia-Jaramillo *et al.*, 2014; López *et al.*, 2013; Orozco *et al.*, 2013; Alvarado-Otegui *et al.*, 2012; Siquerira-Batista *et al.*, 2007; Barreto, 1964; Whiting, 1956).

En Latinoamérica, se han llevado a cabo diversos estudios identificando *T. cruzi* en animales silvestres, utilizando principalmente las técnicas de xenodiagnóstico y PCR (Reacción en cadena de la polimerasa). Encontrando diversas especies positivas como *Didelphis marsupialis* en Venezuela, Brasil, México y Colombia (Soto *et al.*, 2014; Villagrán *et al.*, 2012; Grisard *et al.*, 2000; Herrera & Urdaneta-Morales, 1992), *Philander oposum* en Guyana Francesa y Brasil (Pinho *et al.*, 2000; Lainson *et al.*, 1979; Deane, 1964), *Mus musculus* en México (Ramsey *et al.*, 2012, Deane 1964), *Proechimys semispinosus* en México (Ramsey *et al.*, 2012) y *Proechimys guayannensis* en Brasil (Lainson *et al.*, 1979; Deane, 1964) Además, de los murciélagos *Carollia perspicillata* y *Phyllostomus elongatus* en Brasil (Días *et al.*, 1942) (Anexo N° 1).

Tres géneros merecen especial atención como reservorios de *Trypanosoma cruzi*: la zarigüeya (*Didelphis* spp.), el armadillo (*Dasybus* spp.) y el agutí (*Dasyprocta* spp.) (Schweigmann *et al.*, 1999). Probablemente las zarigüeyas son los reservorios silvestres más importantes, debido a ciertas características ecológicas (omnívoras, muy prolíficas y sumamente adaptables). Además, pueden acercarse a viviendas humanas actuando como vehículos entre áreas silvestres y peri domésticas; asimismo tienen tasas altas de infección y pueden eliminar *T. cruzi* en la orina (Ramsey *et al.*, 2012; Schweigmann *et al.*, 1999; Araujo *et al.*, 1996).

La zarigüeya orejinegra (*D. marsupialis*) ha sido reportada como reservorio de *T. cruzi* en diversos países como Brasil (Grisard *et al.*, 2000). En Colombia, se ha encontrado uno de dos individuos analizados utilizando técnicas parasitológicas directas y dos de cuatro individuos utilizando PCR (Mejilla-Jaramillo *et al.*, 2014; Soto *et al.*, 2014). En Venezuela, el 57,1% (4/7) de los individuos estudiados utilizando las técnicas de examen en fresco, extendido para coloración Giemsa y cultivo en agar sangre (Soto *et al.*, 2014, De Lima *et al.*, 2006).

Además, se ha estudiado la comadreja overa (*D. albiventris*) utilizando la técnica de xenodiagnóstico y posteriormente ampliando el ADN de *T. cruzi* con la técnica de PCR, encontrando una positividad de 69,0% (27/39) y 8,3% (2/21) en Brasil, así como en Argentina donde se halló en el 7,9% (3/42) de los individuos analizados (Dos santos *et al.*, 2013; Ceballos *et al.*, 2006; Ramírez *et al.*, 2002). En Argentina, se halló *T. cruzi* en el 36,0% (4/11) y 38,1% (16/42) de los individuos utilizando la técnica de xenodiagnóstico y PCR conjuntamente (Orozco *et al.*, 2013; Alvarado-Otegui *et al.*, 2012). Similar a lo reportado por Scheigmann y colaboradores, que reporta el 35,0% (22-43%) de los zarigüeyas infectadas, utilizando únicamente la técnica de xenodiagnóstico (Schweigmann *et al.*, 1999).

En México, en la zarigüeya norteamericana (*D. virginiana*) se reporta la presencia de *T. cruzi* en el 53,9% (55/102) de los individuos analizados con la técnica de Strout, frotis sanguíneo y xenodiagnóstico (Ruiz-Piña y Cruz –Reyes, 2002).

En el Perú se han identificado como reservorios silvestres de *T. cruzi* a siete especies de mamíferos: los roedores *Mus musculus* y *Rattus rattus* en Arequipa y *Rattus norvegicus* en Lambayeque; el marsupial *Didelphis paraguayensis pernigra* en Piura y Cajamarca, *D. marsupialis*, *Saimiris boliviensis* y *Saguinus nigricollis* en Loreto (Náquira y Cabrera, 2009; Vargas, 2005; Sullivan *et al.*, 1993; Calderón *et al.*, 1985; Herrero, 1972; Dunn *et al.*, 1963; Ayala, 1961). En el roedor *Mus musculus* se han encontrado infecciones naturales desde 18,2% al 50,0% en el Suroccidente del Perú (INS, 2011, Ayaqui y Córdova, 1990). Atención especial recibe el cobayo (*C. porcellus*) en el sur del país, considerado como el principal reservorio doméstico de *T. cruzi* (Náquira & Cabrera, 2009; Uyema *et al.*, 2006; García *et al.*, 2003; Solís-Acosta, 2000).

El protozoario *T. cruzi* es transmitido mayormente de manera vectorial, que es la clásica y más frecuente, además de transmisión oral cuando las heces de triatomíneos contaminan los alimentos, así como la transmisión parenteral por transfusión sanguínea y la transmisión materno-fetal (Silveira, 2011; OMS, 2002; Mallimaci *et al.*, 2001; Brener *et al.*, 2000).

Además, se ha planteado que la ruptura de nidos de amastigotes de *T. cruzi* en tejidos profundos de glándulas anales en los didélfidos (*Didelphis* spp.) podrían ser eliminados y contaminar los alimentos (Herrera y Urdaneta-Morales, 2002; Urdaneta-Morales y Nironi, 1996; Deane *et al.*, 1986). La orina y las heces de estos marsupiales (*Didelphis* spp.) tienen la capacidad de transmitir la enfermedad por vía oral al contaminar los alimentos (Días, 2006; Silveira, 2006). También existe el antecedente de la ingesta de carne de animales silvestres infectados, así como el consumo de sangre de animales reservorios que pueden infectar al hombre (Silveira, 2006; Storino y Jorg, 1994).

Los vectores son insectos que pertenecen al orden Hemiptera, familia Reduviidae, subfamilia Triatominae. Actualmente, se conocen más de 130 especies y 16 géneros, de los cuales solo tres géneros (*Rhodnius* spp, *Panstrongylus* spp. y *Triatoma* spp.) son vectores importantes de *T. cruzi*. (Carcavallo *et al.*, 1998; Lent y Wigodzensky, 1979). Para el Perú, el principal vector domiciliario es *Triatoma infestans*, conocido en el suroccidente peruano como “chirimacha” (Mallimaci *et al.*, 2001; Brener *et al.*, 2000; Herrero, 1955). Para la zona nororiental el vector más importante involucrado es *Panstrongylus herreri* (Naquira y Cabrera, 2009; Cáceres *et al.*, 2006; Sulca, 2004).

La mayoría de las especies de triatomíneos tienen hábitats exclusivamente silvestre y se pueden encontrar, por ejemplo, bajo la corteza de árboles muertos, en

huecos de árboles, madrigueras de zarigüeyas, murciélagos, roedores, etc., así como en acúmulos de piedras y hojas de diversas plantas como palmeras y bromeliáceas, nidos de aves y madrigueras de armadillos (OMS, 2002).

Por último, existen diversas pruebas diagnósticas para *T. cruzi* utilizadas en las personas, como las parasitológicas (como gota fina, hemocultivo y xenodiagnóstico), de inmunodiagnóstico (Hemaglutinación Indirecta -HAI, Inmunofluorescencia Indirecta – IFI, ELISA y Western Blot) y moleculares (PCR) (OMS, 2002).

El diagnóstico de *T. cruzi* en los animales reservorios se ha realizado principalmente mediante pruebas parasitológicas como las extensiones de sangre en gota fina y gota gruesa teñidas adecuadamente con colorantes (como el Giemsa), que permiten observar las características morfológicas del parásito. Así como la técnica de xenodiagnóstico cuya sensibilidad depende del grado de parasitemia del paciente, en el cual se utiliza el vector libre de infección, que picara al paciente sospechoso de infección y esperar, en caso de positividad, que el parásito se reproduzca en el intestino del vector, de manera que al examinar las heces del mismo se puede demostrar la presencia del parásito (OMS, 2002; Schenone 1999; Schenone *et al.*, 1974).

Además, en los últimos años se ha utilizado la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), donde principalmente se ha extraído y amplificado el ADN de *T. cruzi* utilizando Kits comerciales dirigidos a identificar los 330 pb del fragmento minicírculo del genoma cinetoplastido (kADN) (Alvarado-Otegui *et al.*, 2012).

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

a. Hipótesis general

- Los animales silvestres (marsupiales, roedores y murciélagos) son potenciales reservorios silvestres de *Trypanosoma* sp. en cuatro localidades de los departamentos de Amazonas y Loreto.

b. Hipótesis específicas

- Existe relación directa entre la diversidad de la zona y la presencia de *Trypanosoma* sp. en los animales silvestres.

- Una zona endémica de la enfermedad (departamento de Amazonas) tendrá mayor presencia de animales silvestres infectados con *Trypanosoma* sp. que los de una zona no endémica (departamento de Loreto).

3.2 Objetivos

a. Objetivo general

- Evaluar los potenciales reservorios silvestres de *Trypanosoma* sp. en cuatro localidades de los departamentos de Amazonas y Loreto, identificando el parásito en marsupiales, roedores y quirópteros

b. Objetivos específicos

- Establecer la diversidad de las cuatro localidades y evaluar la presencia de animales potencialmente reservorios.

- Establecer las diferencias entre las especies muestreadas, la frecuencia de infección y procedencia de los animales (departamento y localidad).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Área de estudio

El estudio se realizó en cuatro localidades de dos departamentos de la Amazonía peruana:

- Departamento de Amazonas, provincia de Utcubamba, en los Centros Poblados de El Ron y Tres Marías, siendo el departamento un área endémica de la Enfermedad de Chagas.
- Departamento de Loreto, provincia de Maynas, en el Caserío Cahuide y Manacamiri, siendo un área no endémica de la Enfermedad de Chagas.

El muestreo se llevó a cabo durante el mes de agosto de 2012 y setiembre de 2013 en los departamentos de Amazonas y Loreto, respectivamente.

4.1.1 Ubicación y clima

En el departamento de Amazonas, provincia de Utcubamba, distrito de Cajaruro se encuentra el Centro poblado el Ron y Tres Marías. El distrito de Cajaruro presenta una extensión de 819,99 km² y se encuentra ubicado a 5 km de la Capital Bagua Grande, al margen izquierdo del Rio Utcubamba. Cada Centro Poblado tiene una extensión de 1000 km² aproximadamente. El Centro Poblado el Ron se ubica a 5° 44' 40.1" longitud sur y 78° 11' 40.8" longitud oeste y Tres Marías a 5° 45' 18.2" longitud sur y 78° 35' 6.9" longitud oeste (Anexo N° 2). El distrito tiene un clima subtropical y semidesértico, la temperatura oscila entre 26° y 36° C. Presenta una altura que va desde 400 a 2 600 msnm. Las precipitaciones van desde 200 a 700 m³.

En el departamento de Loreto, provincia de Maynas, distrito San Juan Bautista se encuentra el Caserío Cahuide, ubicada a la altura del Km. 57 de la carretera Iquitos/Nauta y tienen una extensión de 3 117,05 km². Se ubica a una altitud de 106 msnm, a 4 °11´ 23.2´´ longitud sur y 73° 24´ 2.2´´ longitud oeste (Anexo N° 3). El clima corresponde a selva baja tropical con una temperatura media anual de 26.4°C con pequeñas fluctuaciones durante el año principalmente en el mes de junio bajando su temperatura a 18°C. La precipitación media anual es de 2, 687 mm con variaciones anuales en el rango de 1 800 a 4000 m³.

El Centro Poblado o Caserío Manacamiri se encuentra a 45 min en bote por el Rio Nanay. El Distrito de Iquitos tiene una extensión de terreno de 368.15 km². Se ubica a una altitud de 106 msnm, a 3° 43´ 10.2´´ longitud sur y 73° 16´ 57.8´´ longitud oeste (Anexo N° 3). Con una temperatura promedio anual de 28°C, máximo 36° y mínima 17° y precipitación media anual de 2000 a 3000 m³.

4.1.2 Viviendas y población

En los centros poblados de Ron y Tres Marías se cuenta con una población de 500 habitantes, los pobladores habitan en construcciones con paredes de adobe y techo de madera o calamina. Los caseríos Cahuide y Manacamiri son poblados con pocas viviendas, alrededor de 165 a 180 viviendas, siendo estas construidas con paredes madera y techo a dos aguas de crisneja.

4.1.3 Actividad y producción

En ambos centros poblados ubicados en el distrito de Cajaruro se dedican principalmente a la producción agrícola y crianza de ganado vacuno. Dentro de las viviendas algunos pobladores crían cuyes (*C. porcellus*) y cuentan con pollos y patos como animales de traspatio. En ambos caseríos de la provincia de Maynas se dedican a la producción agrícola. En el Caserío de Manacamiri existen dos empresas dedicadas exclusivamente a la crianza y producción de pollos de carne y huevo. A diferencia de Cajaruro, no suelen criar cuyes dentro de sus viviendas, ni aves de traspatio y suelen tener cultivos de frutos muy cerca de cada casa.

4.1.4 Presencia de vectores en viviendas

Como parte de otro estudio, se llevó a cabo la búsqueda de triatominos intradomiciliarios en ambos Caseríos del distrito de Cajaruro. Tarqui (2014), encontró 139 especímenes de triatominos de *Panstrongylus herreri*, de los cuales el 10,8% fueron positivos a *T. cruzi*, diagnosticado después de realizar la caracterización morfológica y observación de los nidos de amastigotes ratones previamente inoculados. Además, empleando el test de Precipitina en tubo capilar se determinó que su principal fuente de alimentación fue el cobayo (64,6%), seguida a la alimentación múltiple humano/cobayo con 62,5% (Tarqui, 2014).

En las viviendas de distrito de Maynas, no se encontraron triatominos, algunos habitantes solo hacían referencia a avistamientos del mismo cerca a sus cultivos.

4.1.5 Diversidad de Fauna

El departamento de Amazonas alberga una fauna amazónica típicamente rica y de amplia distribución, con varias especies endémicas que constituyen nuevos registros para el Perú y para la ciencia, y algunas amenazadas. Lo que evidencia su alta importancia para la conservación de la diversidad biológica. Se han registrado 1 022 especies de vertebrados, de las que las aves representaron la mayor cantidad con el 64 %, seguida en porcentaje por los peces, con 12 %, y mamíferos, con 11 %. La mayoría de mamíferos registrados pertenece a los órdenes Chiroptera, Carnivora y Rodentia, siendo la familia de murciélagos Phyllostomidae la que congrega la mayor diversidad de especies (IIAP, 2006).

El departamento de Loreto presenta una gran diversidad biológica. Combina en su gran territorio influencias andinas con las que son propias del llano amazónico. En términos generales, se estima que Loreto posee más de 3 500 especies de vertebrados (Dourojeanni, 2013). La fauna silvestre también viene siendo utilizada por la población loreтана, para consumir su carne, cuero, plumas, dientes y otras partes de los animales. Entre las especies más demandadas se encuentra el venado, majaz, sajino, huangana, sachavaca, ronsoco, lagarto, vaca marina, quelonios en

general, algunos pájaros usados como mascotas (CONAM, 2005).

4.2 Captura, contención química y colección de muestra

4.2.1 Captura

La captura de animales se realizó por 2 a 3 días consecutivos en cada localidad. En el departamento de Amazonas la unidad de vegetación fue bosque de colinas y en Loreto fue tipo Purma o bosque secundario. A continuación, se describe la modalidad de captura para roedores, marsupiales y murciélagos:

4.2.1.1 Roedores y marsupiales: Se empleó una modificación de los métodos utilizados en Jones *et al.* (1996), Voss y Emmons (1996) y Woodman *et al.* (1996). Utilizando cuarenta (40) trampas de modelo Tomahawk[®] (10 grandes de 40 pulgadas de largo y 8 pulg. de ancho y alto, y 30 medianas de 18 pulg. largo x 5 pulg. ancho y alto) y cuarenta a cincuenta (40-50) del tipo Sherman[®]. Las trampas fueron dispuestas en dos transectos de 20 a 22 estaciones cada uno, con un par de trampas por estación y una separación de aproximadamente 10 m (Anexo N° 04).

4.3.1.2 Murciélagos: Para la captura de quirópteros se colocaron cuatro (04) redes de neblina, tomando en cuenta las áreas de mayor tránsito de murciélagos como quebradas o en borde de bosques. Se utilizó redes de 8 y 12 m de longitud dependiendo de las características de la zona escogida. Las redes se instalaron al nivel del estrato herbáceo y arbustivo entre los 0 y 5m sobre el nivel del suelo. El periodo de muestreo se realizó entre las 18:00 – 00: 00 con revisiones cada 30 minutos, para disminuir el stress y evitar la muerte de animales, sacando los murciélagos de las redes con la ayuda de guantes de cuero (Anexo N °05).

Se utilizó el método de captura-marcación-soltura con el fin de recapturar los individuos marcados. Los animales fueron marcados individualmente, pesados y

después de observaron sus condiciones reproductivas y posterior a la completa recuperación de la anestesia, se liberaron en sus respectivos puntos de captura. Se colectaron los individuos que no se pudieron identificar en campo.

4.2.2 Identificación de los individuos

Posterior a la captura se tomó las medidas somáticas, peso, edad y estado reproductiva, para luego realizar la identificación de la especie.

4.2.2.1 Medidas somáticas y peso: Los mamíferos fueron pesados y medidos de acuerdo a procedimientos usuales para quirópteros (longitud total, de la tibia, del antebrazo, del pulgar, del pie, de la oreja y del trago) en roedores y marsupiales (longitud total, de la cola, de la oreja y del pie) (De Paz & Benzal, 1990; WHO, 1979).

4.2.2.2 Edad relativa: Para los quirópteros se determinó la edad de los individuos mediante la osificación de los discos interfalangeales de las alas, con tres categorías: juvenil para ejemplares en los cuales la articulación aún no se encuentran osificadas), subadulto con individuos con la osificación de las falanges incompletas y adulto con la osificación de la falanges completas (Anthony, 1988). En el caso particular de las zarigüeyas, se determinó la edad en tres clases en función de longitud total y secuencia de erupción de los dientes (juveniles, de 3-5 meses de edad; subadultos, 6-8; y adultos, mayores de 9 meses) (Petrides, 1949).

4.2.2.3 Condición reproductiva: Para los quirópteros hembras se determinó por medio de la palpación del abdomen para la condición de preñez; para conocer el periodo de lactancia, se aplicó una ligera presión en el pezón para comprobar si contenía leche, definiendo las siguientes categorías: inactiva, preñada, lactante y poslactante. En caso de los machos, se registró en tamaño y la posición de los testículos, consideradando tres categorías según su posición: abdominales, inguinales o escrotales (Sosa y Soriano, 1993;

Racey, 1988). Para los marsupiales, en las hembras se determinó por la actividad reproductiva según presencia de embriones en el interior del marsupio. En los subadultos y adultos machos se consideró la madurez sexual (Hunsaker, 1977).

4.2.2.4 Identificación de especies: Para determinar las especies se consultó la bibliografía actualizada, analizando las medidas biométricas, distribución geográfica y nomenclatura actualizada. A los individuos colectados se tomaron las medidas de los cráneos obtenidos (longitud condilobasal, condilocanina, anchura cigomática, mastoidea, interorbitaria, anchura rostral entre caninos, serie dentaria superior, longitud mandibular, altura de la rama mandibular y serie dentaria inferior) para la verificación de la identificación taxonómica de las especies) (Pacheco *et al.*, 2009; Eisenberg & Redford, 1999; De Paz & Benzal, 1990).

4.2.3 Anestesia

De los animales capturados, se escogieron según peso, edad y especie los individuos más óptimos para ser anestesiados utilizando una combinación de clorhidrato de ketamina y clorhidrato de xilacina o diazepam, con el fin de inmovilizar de manera segura los individuos por un período de 25 min aproximadamente para poder realizar la técnica de xenodiagnóstico.

4.2.3.1 Protocolo anestésico: El protocolo utilizado para quirópteros fue de 10-20 mg/kg p.v de clorhidrato de ketamina (Ket- A-10® Agrovvet Market) + 2 mg/kg p.v de clorhidrato de xilacina (Dormy-xyl® Agrovvet Market). Para el protocolo utilizado en roedores se tomó como referencia las dosis de 20-100 mg/kg p.v de clorhidrato de ketamina (Ket- A-10® Agrovvet Market) + 1-8 mg/kg p.v de Diazepam (Valium® Roche) citado por otros autores (Carpenter 2011; Fowler y Miller 1999). En marsupiales, se tomó como referencia la dosis brindada por otros autores para marsupiales en general, 25 mg/kg p.v de clorhidrato de ketamina (Ket- A-10® Agrovvet Market) + 0,25 mg/kg p.v de clorhidrato de

xilacina (Dormy-xyl® Agrovvet Market) (Pietrzak & Pung 1998). La anestesia fue aplicada por vía intramuscular en un solo coctel utilizando una jeringan de 1 ml con una aguja de 26G y 29G x ½”.

En caso se creyó necesario se aplicó sulfato de atropina (V-Tropin® 0.3% Agrovvet Market) a una dosis de 0,04 mg/kg p.v vía subcutánea. La atropina se puede utilizar para disminuir la secreción salival y efectos bradicardizantes de la ketamina (Muir y Hubbel, 1992). Así como adrenalina (Adrena-Vida ® Agrovvet Market) 0,1 mg/kg vía aplicada por vía intramuscular en caso de bradicardia y bradipnea.

4.2.3.2 Actividad farmacológica: La ketamina es un anestésico general de rápida acción y la xilacina es un potente agonista alfa-2- adrenérgico y produce relajación de los músculos esqueléticos, es un compuesto de acción tranquilizante, analgésica, sedativa y relajante. Su acción está relacionada con la depresión del sistema nervioso central. El diazepam, actúa deprimiendo la conducción nerviosa en ciertas neuronas del sistema nervioso central, donde produce desde una leve sedación hasta hipnosis o coma, en función de la dosis administrada (Muir y Hubbel, 1992).

4.2.3.3 Monitoreo y recuperación de la anestesia: La inducción se realizó a los 5 a 10 minutos después de la aplicación, llevándolos a un plano anestésico 2, según la especie, la recuperación se dio después de 30 a 45 minutos. Durante la anestesia se realizó el monitoreo de las frecuencias vitales (frecuencia cardíaca y respiratoria) y reflejos (Anexo N° 6-8).

4.2.4 Toma de muestra sanguínea

La toma de este tipo de muestra biológica se realizó siguiendo las normas y nivel de bioseguridad 02 brindadas por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC). Se tomó un volumen de muestra sanguínea no mayor del 2% del peso vivo del animal. El procedimiento general fue el siguiente:

- Inmovilización del individuo: se realizó mediante la sujeción física correcta para este fin en el caso que no se hallan anestesiado.
- Identificación de la vena para la venopunción: para el caso de marsupiales se identificó la vena safena ubicada en la cara ventral del miembro posterior, en roedores de la vena safena, coccígea o caudal y en murciélagos de arteria mediana o vena cefálica ubicada en el antebrazo.
- Limpieza del área de venopunción: utilizando un algodón con alcohol al 96%.
- La venopunción se realizó con una aguja de 26 G x ½'' en el caso de quirópteros y roedores, la extracción en marsupiales se realizó utilizando una jeringan de 3 ml con una aguja de 23G x ½". La de muestra en quirópteros se colectó con la ayuda un microhematocrito no heparinizado de 75 mm de largo.
- Finalizada la toma la muestra se colocó un algodón a presión hasta que el vaso sanguíneo dejen sangrar.

4.2.5 Frotis sanguíneo

Con la muestra sanguínea obtenida se realizó de 2 a 3 frotises sanguíneos por individuo, siguiendo el siguiente procedimiento:

- Se colocó una gota de sangre en el extremo de la superficie de una lámina portaobjetos limpia.
- Se acercó la muestra el borde de otra lámina portaobjetos, posesionándola de tal manera que formen un ángulo de 45º y dejar que la muestra se distribuya en el borde de la lámina.
- Conservando el ángulo de 45º, deslizar la lámina auxiliar sobre la superficie de la lámina con la muestra, realizando el extendido de sangre o frotis formando una película fina.
- Por último, se dejó secar a temperatura ambiente para ser fijados con Metanol absoluto (INS, 2005).

Los frotises sanguíneos fueron debidamente marcados utilizando códigos y conservadas en una caja de porta lámina con silica para evitar el deterioro de las mismas.

4.2.6 Toma del Xenodiagnóstico

Para esta prueba se utilizaron de 7 a 10 ninfas de *Triatoma infestans* sanas alimentadas con sangre de aves, ya que estas son refractarias a la infección por *T. cruzi*, del criadero del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión” (IMT/DAC). Las cuales estuvieron en cajitas de madera cubiertas con un tul delgado y fueron colocadas con un brazalete de tela por 20 min sobre los animales (Anexo 9-11). Antes de colocar la caja de xenodiagnóstico se desinfecto el área utilizando alcohol yodado.

4.3 Análisis de laboratorio

Esta etapa fue realizada en el Laboratorio de Parasitología del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión” de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

4.3.1 Frotis sanguíneo

Las láminas fijadas fueron teñidas en el laboratorio utilizando la tinción Giemsa. Se enfocó con el objetivo de 10X, para luego colocar una gotita de aceite de inmersión sobre la muestra y examinar con el objetivo de inmersión 100X (INS, 2005).

4.3.2 Xenodiagnóstico

Las cajas se trasladaron al Laboratorio donde se realizó el examen directo de las heces de los triatominos a los 30, 60 y 90 días posteriores a la fase de campo. Cada triatomo se analizó utilizando una lámina portaobjeto con una gota de solución salina, luego cogiendo con una pinza al triatomo se presiona el abdomen del insecto para que defaque, sobre la gota de suero para realizar una emulsión (INS, 2005; Solís-Acosta, 2000).

La muestra se observó en el microscopio (objetivo de 20X de aumento),

buscando formas móviles: epimastigotes o trypomastigotes metacíclicas del parásito que son identificadas por el movimiento ondulante característico (Anexo N° 12 y 13) (INS, 2005; Solís, 2000).

4.3.3 Caracterización biológica

Las muestras de heces de triatomíneos positivos, fueron inoculados por vía intraperitoneal en ratones machos (cepa Swiss-Webster) de un mes de edad. Después de 7 a 10 días se obtuvo una muestra sanguínea de la vena coxígea o caudal de los roedores, para realizar frotises sanguíneos que fueron teñidos con tinción Giemsa. Para luego observarlos al microscopio a 100x y 400x para determinar la presencia de tripomastigotes sanguíneos para realizar la caracterización morfológica utilizando una lámina patrón (Anexo 14) (INS, 2005).

Además, se tomaron muestras del tejido cardíaco de los ratones previamente inoculados, los cuales fueron fijados en formol al 10% y luego en parafina para realizar cortes en sección de 5 μ y teñidos con Hematoxilina-eosina. Las láminas histológicas se observaron al microscopio a 40x y 100x en busca de nidos de amastigotes en el tejido cardíaco y diferenciar con *Trypanosoma rangeli* (Ruiz-Piña & Cruz-Reyes, 2002; Cuba, 1998; Araujo *et al.*, 1996). Las cepas obtenidas se encuentran mantenidas en el Laboratorio de Parasitología de Instituto de Medicina Tropical “Daniel A. Carrión”-UNMSM.

4.4 Análisis de Datos

4.4.1 Composición y abundancia

Se obtuvo en la frecuencia (%) por orden taxonómico del total de los individuos capturados, así como para cada departamento y por localidad.

4.4.2 Esfuerzo y éxito de captura

Para cada localidad y departamento se determinó el esfuerzo y el éxito de captura. El esfuerzo de capturas fue hallado utilizando la siguiente fórmula:

Esfuerzo= N° de trampas o redes x N° días de muestreo

El éxito de captura se halló utilizando la siguiente fórmula:

Éxito= N° individuos capturados x N° redes x N° días de muestreo

4.4.3 Indicadores de Biodiversidad

Se calcularon 08 indicadores de diversidad para cada departamento y localidad según el caso, utilizando el programa estadístico PAST 3.04. Los índices utilizados fueron los siguientes:

- Riqueza de especies (S)
- Índice de Shannon- Wiener (H)
- Índice de Simpson (D)
- Índice de equidad de Pielou (J)
- Índice de Margalef (DMg)
- Índice Fisher-alfa
- Índice de Rarefacción $E(S_n)$
- Índice de Jaccard (S_j)

4.4.4 Presencia de especies reservorio conocido de *Trypanosoma cruzi*

Se obtuvo en la frecuencia (%) de las especies e individuos capturados que son conocidas como reservorio de *Trypanosoma ruzi*. por localidad y departamento.

4.4.5 Presencia de *Trypanosoma* sp.

Los individuos positivos a *Trypanosoma* sp. fueron expresada en frecuencia (%), según la técnica utilizada (frotis sanguíneo y xenodiagnóstico) y por departamento y localidad utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Frecuencia (\%)} = \frac{\text{número de individuos positivos} \times 100}{\text{Número total de individuos analizados}}$$

Además, se utilizó la Prueba Exacta de Fisher ($p > 0.05$) para determinar si existen diferencias significativas entre las especies muestreadas y la frecuencia de infección, así como comparar entre departamentos y localidades.

V. RESULTADOS

5.1 Composición y abundancia

Se capturaron 95 individuos pertenecientes a 9 géneros y tres órdenes: Didelphimorphia 2,44% (4/95), Rodentia 8,4% (8/95) y Chiroptera 87,4% (83/95). En el departamento de Amazonas se capturaron 38 individuos, distribuidos de la siguiente manera: Didelphimorphia 7,9% (3/38), Rodentia 7,9% (3/38) y Chiroptera 84,2% (32/38). En el departamento de Loreto se capturaron 57 individuos: Didelphimorphia 1,8% (1/57), Rodentia 8,8% (5/57) y Chiroptera 89,5% (51/57) (Anexo N° 15).

5.2 Esfuerzo y éxito de captura

5.2.1 Esfuerzo de captura

Se obtuvo en total un esfuerzo de captura de 1870 trampas-noches para roedores y marsupiales y 44 redes-noche para quirópteros. Teniendo un esfuerzo mayor en el departamento de Loreto (24 redes-noche y 540 trampas-noche) que el departamento de Amazonas (20 redes-noche y 400 trampas-noche 400).

5.2.2 Éxito de captura

Se obtuvo en total un éxito de captura de 1,4 por 100 trampas-noche para roedores y marsupiales, obteniéndose un éxito mayor en el departamento de Amazonas. En el departamento de Amazonas se obtuvo un éxito de captura de 1,5

por 100 trampas noches, siendo mayor en el centro poblado El Ron (1,7 por 100 trampas-noches) que Tres Marías (1,3 por 100 trampas-noche). En el departamento de Loreto se obtuvo un éxito de captura de 1,3 por 100 trampas noches, el Caserío Cahuide (2,5 por 100 trampas-noche) fue el único lugar donde hubo capturas.

Se obtuvo en total un éxito de captura de 20,2 por 10 redes-noche para quirópteros, siendo mayor en el departamento de Loreto. En el departamento de Amazonas se obtuvo un éxito de captura de 16 por 10 redes-noche, siendo mayor en el centro poblado El Ron (16,7 por 10 redes-noche) que en Tres Marías (15 por 10 redes-noche). En el departamento de Loreto, se obtuvo un éxito de captura de 23,8 por 10 redes-noche, observando mayor éxito en el centro poblado Manacamiri (21,7 redes-noche) en comparación a la localidad de Cahuide (20,8 redes-noche).

5.3 Índices de Biodiversidad

Se obtuvo una riqueza de especies igual a 16 para todo el estudio, siendo mayor en el departamento de Loreto (S=14) que en el departamento de Amazonas (S=7). Además, se muestran los índices de biodiversidad (H, D, J, DMg, Índice de Fisher-alfa e Índice de Rarefacción) para cada localidad en Tabla N° 3 (Anexo N° 16). El Índice de similitud de Jaccard (coeficiente de similitud Ij) obtenido entre ambos departamentos tuvo un valor Ij= 0.321.

5.4 Presencia de especies reservorio conocido de *Trypanosoma cruzi*

Considerando los especies de reservorio conocido de *Trypanosoma cruzi* (Anexo 1) se capturaron las siguientes especies: *Mus musculus*, *Didelphis marsupialis*, *Philander opossum*, *Phyllostomus elongatus* y *Carollia perspicillata*. En el

departamento de Amazonas (área endémica) y Loreto (área no endémica) se capturaron la misma cantidad de especies (4 especies), pero en Amazonas (78,95%) de obtuvo mayor cantidad o porcentaje de individuos que en Loreto (36,84%) (Anexo N° 17 y 18).

5.5 Presencia de *Trypanosoma* sp.

5.5.1 Frotis sanguíneo

No se observaron trypomastigotes sanguíneos en los frotises de los 95 individuos analizados.

5.5.2 Xenodiagnóstico

Se obtuvo positividad para *Trypanosoma* sp. en el 10,64% (5/47) de los animales. Las especies positivas fueron *Didelphis marsupialis*, *Mus musculus* y *Phyllostomus elongatus*. Teniendo en cuenta el número de individuos positivos y total de analizados por especie se obtuvo: 66,67% (2/3) de *Didelphis marsupialis*, 14,29% (1/7) de *Mus musculus* y 50,0% (2/4) de *Phyllostomus elongatus*. (Anexo N° 19). No se encontraron diferencias significativas entre las especies muestreadas y la frecuencia de infección por *Trypanosoma* sp. ($p=0.169$).

En el departamento de Amazonas y Loreto, se obtuvo una positividad del 13,6% (3/22) y 8% (2/25), respectivamente (Anexo N° 20-21). En Amazonas se encontró 2 individuos de *Didelphis marsupialis*, hembras una adulta y otra juvenil, capturadas en el Centro Poblado del Ron y Tres Marías y un individuo *Mus musculus* macho adulto capturado en el centro poblado El Ron. En el departamento de Loreto, se encontró dos individuos de *Phyllostomus elongatus* 10,5% (2/19), macho y hembra capturados en el Caserío Manacamiri. No se halló diferencias significativas de los entre departamentos ($p=0,654$) ni entre las localidades ($p=0,146$).

VI. DISCUSIÓN

6.1 Composición, abundancia e Índices de Biodiversidad

En el departamento de Loreto se encontró una mayor riqueza y número de individuos de roedores, marsupiales y murciélagos comparado con el departamento de Amazonas. Además, los índices indican mayor diversidad en el departamento de Loreto, lo cual es evidenciado con los numerosos reportes y recopilaciones que señalan a este departamento como el más diverso de la Amazonía peruana (IIAP, 2006). El Caserío Cahuide fue el más diverso (mayores índices de diversidad), lo cual podría estar relacionada con la conservación del tipo de vegetación Purma en el área de muestreo, lo cual también es evidenciado por la composición de especies observadas.

Además, la diversidad estuvo conformada principalmente por murciélagos, esto podría deberse a que el área muestreada ubicada en Loreto presentaba plantaciones agrícolas, recurso alimenticio disponible que explicaría el mayor registro de murciélagos, siendo *Carollia* spp las especies con mayor abundancia, ya que son los murciélagos más numerosos de la selva baja y se encuentran comúnmente en hábitats perturbados (Emmons 1999).

Otra especie abundante fue el roedor *Mus musculus*, la cual es de gran importancia ya que los roedores son considerados como principales reservorios para nuestro país (INS, 2011). Este roedor es raro de encontrar en regiones de selva, como los lugares de muestreo, sin embargo en áreas de agricultura es posible

encontrarse ya que se alimenta principalmente de granos (Emmons, 1999). Debido a las características de los hábitats muestreados con ciertas plantaciones agrícolas y cercanía de viviendas se podría esperar la abundancia encontrada de este roedor.

Por consiguiente, en las dos localidades del departamento de Amazonas (área endémica de la Enfermedad de Chagas) mostro menor biodiversidad de roedores, marsupiales y quirópteros que las dos localidades del departamento de Loreto (área no endémica de la Enfermedad de Chagas).

Por otro lado, si bien es importante evaluar la biodiversidad de la fauna, también es relevante conocer la composición y abundancia de las especies para determinar su importancia como reservorio de *Trypanosoma* sp. En general, los departamentos de Amazonas y Loreto no compartieron muchas especies ($Ij= 0.321$), mostrando diferencias en la composición de especies de roedores, marsupiales y murciélagos, lo cual pudo estar influenciado el esfuerzo de captura, composición de especies y unidad de vegetación muestreada.

6.2 Protocolo anestésico

Ante la necesidad de realizar la colecta de muestras biológicas (sangre) y la aplicación de la técnica de xenodiagnóstico, se hizo indispensable la creación de protocolos de contención química para llevar a cabo el estudio, utilizando referencias bibliográficas brindadas por otros autores para otras especies semejantes.

Para los murciélagos, en base a la experiencia personal, se utilizó un protocolo 10-20 mg/kg + 2 mg/kg p.v de clorhidrato de ketamina y xilacina, respectivamente. Observando una inducción adecuada a los 5 minutos y durante la anestesia mostraron frecuencias vitales estables (FC y FC). Por lo cual, recomendamos el uso

de este protocolo para la inmovilización de quirópteros para un periodo de 25 a 30 min. Es indicado mencionar, que las especies del genero *Sturnira* spp. presentaron un despertar más rápido, lo cual puede deberse que al ser pequeños (14- 25 gr) presentarían una tasa metabólica mayor, sumado a presentar mayor agresividad al momento de la inoculación, metabolizarían con mayor rapidez la anestesia. Siendo necesario en estas especies suplementar la dosis.

Para *M. musculus* se observaron adecuados las dosis de 50 mg/kg + 2 mg/kg p.v de clorhidrato de ketamina y diazepam, respectivamente. Para *Proechimys* sp. utilizando la misma dosis, fue necesario un aplicación de 10 mg/kg de ketamina para una anestesia de 30 min, por lo cual se aconseja aumentar la dosis de ambos fármacos.

Por último, para *D. marsupialis*, según la observación en campo, se considera un protocolo adecuado para este estudio de 20 mg/kg + 0,25 mg/kg p.v de clorhidrato de ketamina y xilacina, respectivamente, para la inmovilización por 30 minutos de individuos adultos.

6.3 Frecuencia de especies reservorio conocido de *Trypanosoma cruzi*

De las 16 especies capturadas en este estudio, en Latinoamérica se han identificado como reservorio de *T. cruzi* a 5 de ellas: *Mus musculus*, *Didelphis marsupialis*, *Phillander opossum*, *Phyllostomus elongatus* y *Carollia perspicillata* (Soto *et al.*, 2014; Villagran *et al.*, 2012; OMS, 2002; Grisard *et al.*, 2000; Pinho *et al.*, 2000; Herrera & Urdaneta-Morales, 1992; Dedet *et al.*, 1985; Días, 1942).

Además, se ha identificado a *Proechimys guayannensis* como reservorio de *T. cruzi* en México utilizando la técnica de PCR y a *P. semispinosus* en Brasil diagnosticado con una técnica no especificada (Ramsey *et al.*, 2012; Lainson *et al.*, 1979; Deane, 1964). Solo el roedor introducido, *Mus musculus* y el marsupial *D.*

marsupialis son reservorios conocido de *Trypanosoma cruzi* para el Perú (Ayaqui y Cordoba 1991), estos fueron capturados principalmente en el departamento de Amazonas.

Por lo tanto, al observar que las localidades estudiadas en el departamento de Amazonas (área endémica) mostro una mayor cantidad y porcentaje de individuos reservorios conocidos cercanos a caserío o centros poblados, esto aumentaría el factor de riesgo para la transmisión de *T. cruzi*. Ya que cuando los animales silvestres, y vectores, invaden domicilios y facilitaría la infección por medio de la transmisión vectorial o por medio de los alimentos contaminación debido a los excrementos de vectores o marsupiales (Coura y Díaz, 2009). Así también se favorecería el ciclo peri doméstico de la enfermedad, ya que se considera que *M. musculus* es una especie sin antrópica (OMS, 2002).

6.4 Caracterización de las cepas de *Trypanosoma* sp.

Luego de realizar la caracterización morfológica de los trypomastigotes sanguíneos observados en los frotises sanguíneos obtenidos de los ratones previamente inoculados y la observación los nidos de amastigotes, las cepa obtenida en estos reservorios es compatible con los parámetros establecidos para *Trypanosoma cruzi* (Cuba, 1998; Araujo *et al.*, 1996, Barretto, 1979).

Otras especies de Trypanosomatidae han sido reportados en animales silvestres, como *Trypanosoma lewisi* en *Rattus sp.* en Venezuela (De Lima *et al.*, 2006), sin embargo esta es de menor tamaño que *T. cruzi* y tiene como vector una pulga que parasita a estos roedores (Browne y Wade, 1914). Además, en *D. alviventris* se ha reportado como hospedero de *Trypanosoma rangeli* en Brasil (Ramírez *et al.*, 2002). Los tripomastigotes de *T. rangeli* se diferencian de los de *T. cruzi* porque son más delgados y largos y su cinetoplasto es subterminal y pequeño (Cuba, 1998).

Haciéndose necesario la confirmación de las cepas de *Trypanosoma* sp. halladas en este estudio utilizando métodos moleculares. La técnica más utilizada es la extracción y amplificado el ADN de *T. cruzi* con PCR, utilizando Kits comerciales dirigidos a identificar los 330 pb del fragmento minicírculo del genoma cinetoplastido (kADN), lo cual permite confirmar la especie y la cepa o Unidad de discreta de tipificación (DTUs) (Alvarado-Otegui *et al.*, 2012).

6.5 Frecuencia de *Trypanosoma* sp.

Los frotis sanguíneos observados resultaron negativos, pudiendo deberse a su limitada capacidad diagnóstica en cuadro crónicos como los esperados en animales reservorios (OMS, 2002). Sin embargo, en la zarigüeya norteamericana (*D. virginiana*) se ha diagnosticado trypomastigotes de *T. cruzi* en frotises sanguíneos el 16% (17/102) de los individuos analizados, pero fue de menor sensibilidad que el método de Strout (52%, 54/102) y la técnica de xenodiagnóstico (53,9%, 55/102) para el diagnóstico en 102 individuos (Ruiz-Piña & Cruz-Reyes, 2002). El hallazgo podrá variar según la parasitemia de los individuos analizados que suelen ser baja por ser animales reservorios (Ruiz-Piña & Cruz-Reyes, 2002).

En el departamento Amazonas se encontró que el 13,64% (3/22) de los animales analizados fueron positivos a *Trypanosoma* sp., mayor que en el departamento de Loreto (8%, 2/25). Esto podría ser de esperarse ya que una zona endémica de la Enfermedad de Chagas se presentaría mayor frecuencia de reservorios positivos, ya que habría una mayor circulación de *T. cruzi* en el ambiente, conllevando mayor frecuencia de vectores y reservorios positivos, e inclusive en hospederos humanos. Sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa y podría estar influenciada por la baja cantidad de individuos encontrados positivos.

El roedor *Mus musculus* fue el único roedor infectado, correspondiendo al 14,29% (1/7) de los individuos analizados. Esta especie ha sido reportada como reservorio de *T. cruzi* en el país, se encontró una infección de 18,2 al 50% en los Valles de Vitor y Murco en el departamento de Arequipa, analizada en los años 1987, 1988 y 1990 (INS, 2001; Ayaqui y Córdova, 1990). La diferencia en porcentajes se puede deber a la metodología utilizada, los tipos de ciclo de *Trypanosoma* sp., así como el área muestreada. En Arequipa, el estudio fue llevado a cabo intradomiciliariamente, a diferencia del presente estudio que fue peri doméstico y silvestre, involucrando diferentes hábitat y posibles ciclos de *T. cruzi*, en donde *M. musculus* es considerado importante reservorio el ciclo doméstico. Además, Arequipa es un área endémica de la Enfermedad de Chagas, por lo cual se esperaría un mayor frecuencia de infección de *T. cruzi* en sus reservorios. Además, es posible que la parasitemia tenga fluctuaciones con el tiempo, como se observó en el Valle de Vitor que en el año 1987 (38.8%) fue mayor que lo observado en 1990 (18.2%) (INS, 2001; Ayaqui y Córdova, 1990).

La importancia de los roedores silvestres como reservorios naturales de la Enfermedad de Chagas, es reconocida ampliamente, ya que alberga este parásito por periodo largo y su interacción está caracterizada por una baja morbilidad (Pereira- Barreto, 1965; Deane, 1964).

El único marsupial positivo a *Trypanosoma* sp. fue *Didelphis marsupialis* con un 66,7% (2/3). Este valor guarda relación con lo encontrado en Colombia (50%), por Soto y colaboradores que encontraron una positividad de *T. cruzi* en uno de dos individuos analizados en el Municipio de Aguachica, así como Mejía y colaboradores que reportan dos de cuatro individuos infectados en Sierra Nevada (Mejía *et al.*, 2014; Soto *et al.*, 2014). Ambos lugares son endémicos de *T. cruzi* en Colombia (ACIN, 2012), similar a lo reportado para el departamento de Amazonas en Perú, donde se realizó el presente estudio. A pesar de utilizar diferentes métodos

diagnósticos como método directo (Soto *et al.*, 2014), amplificación de kADN con PCR (Mejía *et al.*, 2014) y xenodiagnóstico en este estudio, se obtuvieron similares resultados. Sin embargo, es necesario considerar la cantidad de individuos muestreados para los estudios mencionados.

En la ciudad de Mérida ubicada en Venezuela, se encontró un porcentaje similar de 57,4% (4/7) de *D. marsupialis* positivos a *T. cruzi*, utilizando como método diagnóstico el examen en fresco, extendido sanguíneo teñido con Giemsa, xenodiagnóstico y cultivo en agar sangre. A diferencia en este estudio, en tres de los 4 individuos hallados positivos se observaron los trypomastigotes en los frotises sanguíneos teñidos, aunque reportan una parasitemia extremadamente baja (1 parásito/50 campos de 40x) en el examen en fresco (De Lima *et al.*, 2006), lo cual pueda explicar la menor sensibilidad en el hallazgo de *T. cruzi*. Además, la ciudad de Mérida no es conocida como área endémica de la enfermedad de Chagas en Venezuela, pero aun así se considera a *D. marsupialis* el reservorio más frecuentemente infectado para ese país (Telford & Tonn, 1982).

En Brasil, se reportaron porcentajes de 21,9% (30/137) a 45, 2% (28/62) de *T. cruzi* en *D. marsupialis*, llevado a cabo en dos islas en Santa Catarina en el año 2000. De las tres técnicas utilizadas (examen en fresco, xenodiagnóstico y hemocultivo), el xenodiagnóstico mostro mayor sensibilidad para el diagnóstico de *T. cruzi* (Grisard *et al.*, 2000). Tomando en cuenta los animales diagnosticados solo mediante la técnica de xenodiagnóstico y capturados en ambientes silvestres, se encuentran similares porcentajes (45,2%, 28/62) (Grisard *et al.*, 2000), comparado a lo hallado en este estudio (50%, 2/4). Es necesario considerar que Santa Catarina no es un área endémica de la enfermedad de Chagas, pero a pesar de eso mostro un alto porcentaje de *D. marsupialis* positivos, lo cual se considera un riesgo para la transmisión de *T. cruzi* (Grisard *et al.*, 2000).

El hallazgo de individuos positivos a *Trypanosoma sp.* como la zarigüeya orejinegra (*D. marsupialis*) en la Amazonia peruana es sumamente significativo. Ya que el género *Didelphis spp.* es considerado como los reservorios silvestres más importantes de *Trypanosoma cruzi*, debido a su amplia distribución, su gran capacidad de adaptación y su estrecha asociación con humanos (OMS, 1991). Aparentemente, la infección no les provoca enfermedad y algunos autores sugieren que esto evidenciaría una asociación muy antigua entre los marsupiales y el parásito (Jansen *et al.*, 1988).

Además, las características ecológicas y de comportamiento de *D. marsupialis*, como ser semi nomadas, el uso de misma nidos por diferentes hembras y fácil aclimatación a los ambientes modificados por los seres humanos favorecen su importancia epidemiológica (Do Santos *et al.*, 2013). Esta especie no solo es considerada como reservorio sino, que en ciertos casos, puede ser fuente de infección, ya que se ha relacionado que la carne de cierto mamíferos pueden contener pseudoquiste y formas de trypomastigotes en la sangre y secreciones de la glándula anal en marsupiales infectados (Deane *et al.*, 1986).

También las construcciones de viviendas y estructuras peridomésticos, pueden proporcionar un nicho para marsupiales, ofreciendo comida debido a la acumulación de residuos orgánicos y la presencia de gallinas en los espacios abiertos, que lo atraería y llevaría invadir áreas peridomiciliares (Coura, 2013). Además, pueden adquirir la infección al ingerir triatomíneos o transmitirla al servir como fuente de sangre para estos, constituyéndose en un nexo entre los ciclos silvestre y doméstico (WHO, 1991; Barreto *et al.*, 1979; Schweigmann *et al.*, 1955).

Las zarigüeyas positivas fueron capturadas una en cada centro poblado del departamento de Amazonas, encontrándose a una distancia de 36 km entre ellas. Si

se considera que el rango de hábitat promedio de esta especie para las hembras es de 0,16 km² (Brito *et al.*, 2008), se podría considerar que las poblaciones de zarigüeyas del centro poblado El Ron y Tres Marías son diferentes, teniendo ambas poblaciones infectadas. Aunque es necesaria mayor investigación, para ambos lugares el *Didelphis marsupialis* jugaría un rol importante en el mantenimiento de *Trypanosoma sp.* en esta zona endémica.

Ciertos factores pueden condicionar la parasitosis de *T. cruzi* en reservorios silvestres, como las estaciones, sexo y edad que han sido analizados en *Didelphis* spp. En el estudio, debido al diseño de investigación, no se evaluaron estos factores. Se ha evidenciado que hembras reproductoras de *Didelphis virginiana* se encuentran más infectadas durante la estación seca en México (Ruiz Piña y Cruz-Reyes, 2002). El género *Didelphis* spp. tiende a consumir una mayor proporción de insectos en edades tempranas (Cordero *et al.*, 1987), lo cual podría favorecer edades tempranas o juveniles a presentar mayores tasas de infección, pero se ha encontrado que adultos de *Didelphis virginiana* estaban más frecuentemente parasitados por *Trypanosoma cruzi* (Ruiz Piña y Cruz-Reyes, 2002).

Si bien se han reportado una variedad de quirópteros como animales reservorios, *Phyllostomus elongatus* ha sido solo reportado en Brasil (Días *et al.*, 1942). Por lo cual, se reporta en el presente estudio como nuevo reservorio de *Trypanosoma sp.* para el Perú. El hallazgo de *Phyllostomus elongatus* como reservorio evidencia la presencia de *Trypanosoma sp.* en todo tipo de estrado en el bosque. Su composición social es de un macho con varias hembras y sus crías o grupo solo de machos. Esta especie de murciélago anida en hueco de árboles y son principalmente frugívoros pero pueden alimentarse de polen, néctar y grandes insectos (Eisenberg y Redford, 1999).

Otros murciélagos han sido estudiados en busca de *T. cruzi*, como el murciélaguito frugívoro mayor (*Artibeus lituratus*) que resulto negativo tras el análisis del tejido cardíaco utilizando PCR en México (Ramsey, 2012; Siqueira-Batista *et al.*, 2007), similar a lo encontrado en nuestro estudio con la misma especie donde también se encontraron negativos en los individuos analizados. Lo cual indicaría que los quirópteros no son reservorios frecuentes de *Trypanosoma* sp.

Se ha descrito que la posible fuente de infección de *T. cruzi* de animales silvestres puede darse en sus refugios. Algunas especies de triatomíneos se han observado en huecos habitados por animales como murciélagos y roedores. Se ha observado focos del triatomíneo *Panstrongylus megistus* en huecos habitados por murciélagos, zarigüeyas, roedores y aves. También se han identificados triatomíneos en árboles como bromelias epifitas, el Pino *Cryptomeria* sp. y la palma *Attalea* sp. habitados por roedores y zarigüeyas (Schlemper *et al.*, 1985; Forattini *et al.*, 1978; Forattini *et al.*, 1977; Forattini *et al.*, 1970).

En el caso de marsupiales, además es importante considerar la dieta de omnívora de estos les permite consumir insectos como una alternativa nutricional (Cáceres y Monteiro, 2001, Schweigmann *et al.*, 1999, Schweigmann *et al.*, 1995, Ribeiro *et al.*, 1987). Experimentalmente, en marsupiales se ha demostrado la infección de *Trypanosoma cruzi* por vía oral con alta infectividad, después de consumir triatomíneos infectados. Los triatomíneos *Rhodnius nasutus*, *Rhodnius neglectus* y *Panstrongylus lignarius* son encontrados principalmente asociados a palmeras que esta regularmente habitadas por *Didelphis* spp. (Coura *et al.*, 2002).

Por otro lado, las otras 13 especies (42 individuos) encontrados negativos en este estudio, no pueden ser descartados como reservorios de este parásito, ya que ocasionalmente en fauna silvestre pudiesen presentarse patrones no convencionales

en las manifestaciones del parasitismo de este protozoario (Herrera, 2010). El desarrollo, evolución y posterior resultado positivo de *T. cruzi*. puede estar dado por diversos factores dependientes del hospedero y del parásito, como ya se han mencionado. Entre los factores se observa la variabilidad genética, sexo, y edad del hospedero, así como la dosis del inóculo inicial y la cepa de parásito, aun cuando la influencia de algunas de estas variables no ha sido claramente establecida (Zuñiga *et al.*, 2012; Urzúa *et al.*, 2004).

Un factor importante que afecta el hallazgo de *Trypanosoma* sp. es el método diagnóstico utilizado. La técnica de xenodiagnóstico ha sido utilizada para el diagnóstico de animales silvestres por diversos estudios (Alvarado-Otegui *et al.*, 2012; Ceballos *et al.*, 2006; Schweigmann *et al.*, 1999; Barr *et al.*, 1991). Además, fueron Ruiz-Piña y Cruz-Reyes (2002) encontró que el método de xenodiagnóstico fue el más fiable para detectar infecciones de *T. cruzi*. en los mamíferos silvestres (Ruiz Piña y Cruz Reyes, 2002). Asimismo, Zeledón y colaboradores (1970) postulan que la técnica xenodiagnóstico es la más sensible para detectar la infección por *Trypanosoma* sp. en *D. marsupialis* en Costa Rica (Zeledón *et al.*, 1970). Se ha reportado que el uso de métodos parasitológicos y serológicos son igualmente sensibles para la detección de infecciones de *Trypanosoma* sp. en *Didelphis* (Grisard *et al.*, 2000; Fernández y Quicaño, 1995).

Sin embargo, pruebas más precisas, como las serológicas pueden incrementar los índices de infección (Ruiz-Piña & Cruz-Reyes, 2002). Las pruebas moleculares, como la del PCR, podrían aumentar el porcentaje de positividad. Como lo evidenciado en un estudio llevado a cabo en Argentina, donde se analizaron 11 individuos de *D. albiventris*, hallando 3 positivas utilizando xenodiagnóstico y 4 utilizando simultáneamente la amplificación del kADN utilizando PCR, aumentando la frecuencia de infección al utilizar la técnica de PCR (Alvarado-Otegui *et al.*, 2012).

6.4 Factores predisponentes

Existe diversos factores que favorecerían la infección de *Trypanosoma sp.* en la Amazonía, presencia de vectores, características de las viviendas, presencia o cercanía de reservorios silvestres y domésticos, entre otros (OMS, 2002), algunos de ellos ya mencionado párrafos anteriores.

En el departamento de Amazonas se observaron varios aspectos favorables para el ciclo de *Trypanosoma sp.*: como la presencia de triatomíneos (*Panstrongylus herreri*) en algunas viviendas, viviendas de adobe y la crianza del reservorio doméstico “cuy” (*Cavea porcellus*); es conocido que estos factores aumentarían el riesgo de contraer la enfermedad de Chagas (Náquira & Cabrera, 2009; Uyema *et al.*, 2006; García *et al.*, 2003; Solís-Acosta, 2000; Jara *et al.*, 1999).

En el departamento de Loreto, sus viviendas eran de madera, no se encontró al vector en viviendas ni la costumbre de criar cuy, la crianza observada fue de caninos domésticos y aves de traspatio. Aunque esto último es de consideración ya que la crianza de aves de traspatio podría favorecer mayor densidad de triatomíneo (Catala *et al.*, 1996; López, 1996, Gürtler *et al.*, 1987).

Por otro lado, la captura de *Mus musculus*, *Didelphis marsupialis* y *Philander opossum* se realizó a una distancia entre 50m a 80 m de la vivienda más cercana. La importancia de la cercanía de reservorios sinantrópicos como *Mus musculus* ha sido altamente documentada y es considerado como un factor de riesgo para la presentación de la enfermedad. (Coura y Diaz, 2009). *Didelphis marsupialis* solo fue capturado en ambas localidades del departamento de Amazonas y al ser considerado como el principal reservorio de *Trypanosoma sp.* para la Amazonia

aumentaría el de riesgo para la presentación de la enfermedad en esta área endémica.

Por lo cual, al comparar ambos departamentos, Amazonas (área endémica de la enfermedad) presenta más factores predisponentes que Loreto (área no endémica) para la infección de *Trypanosoma* sp.

VII. CONCLUSIONES

- Las localidades del departamento de Amazonas (área endémica) presentaron menor diversidad de especies de marsupiales, roedores y murciélagos, pero mayor abundancia de especies de reservorios conocidos de *Trypanosoma* sp. que las localidades del departamento de Loreto (área no endémica).
- El 10,64% (5/47) de animales silvestres muestreados en 4 localidades de los departamentos de Amazonas y Loreto fueron positivos a *Trypanosoma* sp., encontrado en las especies *Mus musculus*, *Didelphis marsupialis* y *Phyllostomus elongatus*.
- El quiróptero *Phyllostomus elongatus* se reporta como nueva especie de reservorio de *Trypanosoma* sp. para el Perú.
- Se lograron aislar las cepas *Trypanosoma* sp. obtenidas en los reservorios silvestres estudiados.
- Según las características morfológicas de los trypomastogotes de *Trypanosoma* sp. obtenidas en este estudio se trataría de *Trypanosoma cruzi*.
- Se obtuvieron nuevos protocolos anestésicos para los quirópteros (*Carollia* spp., *Sturnira* spp., *Phyllostomus* spp., *Artibeus* spp. y *Uroderma* spp) y marsupiales (*D. marsupialis*) capturados.

VIII. RECOMENDACIONES

- Continuar con el estudio de reservorios silvestres para conocer su real importancia epidemiológica en la Amazonía Peruana.
- Realizar estudios de caracterización e identificación de la cepa de *Trypanosoma sp.* en estos reservorios utilizando técnicas moleculares como el PCR .

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACIN. Guía 23: Guía de atención de la Enfermedad de Chagas. Cali: ACIN. 2002.
- Alvarado-Otegui J; Ceballos L; Orozco M; Enriquez G; Cardinal M; Cura C; Schjman A, Litron U; Gurtler R. The sylvatic transmission cycle of *Trypanosoma cruzi* in a rural área in the humid Chaco of Argentina. *Acta Trop.* 2012;124(1):79-86.
- Anderson RM. 1979. Parasite pathogenicity and the depression of host population equilibria. *Nature* 279:150-152.
- Andrade LO; Andrews NW. The *Trypanosoma cruzi* host- cell interplay: location, invasion, retention. *Nat Rev Microbiol* 2005; 10: 819-23.
- Anthony, E. 1988. Age determination in Bats. p 47-57 En: Ecological and behavioral methods for the study of bats. H. Kunz (ed.) Washington D.C Smithsonian Institution Press. 533pp.
- Apt W; Reyes H. Algunos aspectos de la enfermedad de Chagas en Latinoamérica. *Parasitol al Día.* 1990;14: 23-40.
- Araujo J. Jansen a, Deane M, Leonel H. Histopatology study of experimental and natural infection by *Trypanosoma cruzi* in *Didelphis marsupialis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996;91 (5): 609-618.
- Ayaqui R; Córdova E. 1988. Infección natural de *Rattus rattus* y *Cavia porcellus* por *Trypanosoma cruzi*. Chagas 1909 en la localidad de Murco, Arequipa 1988. IX Congreso Nacional de Biología, Piura – Perú. Res. 182.
- Ayaqui R; Córdova E. 1991. Infección natural de roedores sinantrópicos por *Trypanosoma cruzi*. Chagas 1909, en el valle del río Vitor (Arequipa – Perú). *Acta Médica Agustina,* 1(2):66-70.
- Ayala M. Finding of *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909 in the monkey, *Saimiri boliviensis*, from Amazonia, Peru. *Rev Bras Malariol Doencas Trop.* 1961;13:99-105.

- Barreto, M. Reservorios do *Trypanosoma cruzi* nas América. Ver. Brás. Matar. 1964;16: 527.
- Barreto, M.R; Ribeiro, RD; Belda Neto, FM. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. LXXIV. Comportamento de amastigotas e tripomastigotas de cultura de amostras diversas do *T. cruzi* incubados com soro humano normal e inoculados em camundongos. Rev. Bras. Biol, 39:897-9, 1979.
- Barr SC; Schmidt SP; Brown CC; Klei TR. Pathologic features of dogs inoculated with North American *Trypanosoma cruzi* isolates. Am. J. Vet. Res. 1991;52:2033–2039.
- Brener Z. Biology of *Trypanosoma cruzi*. Annales Revista Microbiologia 1973;27: 347-382.
- Brener Z; Andrade Z; Barral-Neto M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2.a ed. Rio do Janeiro: Guanabara-Koogan; 2000.
- Brito D; Astua de Moraes, D; Lew, D; Soriano, P; Emmons, L; Cuarón, A.D; Helgen, K; Reid, R; Vazquez, E. 2008. *Didelphis marsupialis*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3
- Browne B, Wade H. A note on the pathogenicity of *Trypanosoma lewisi*. J Expl Med. 1914;19 (4):406–410.
- Cabrera R; Vega S; Valderrama Y; Cabanillas K; Fernández C; Rodríguez. Probable emergencia de la enfermedad de Chagas en la Amazonía peruana: reporte de 5 casos agudos en Datem del Marañón, Loreto (2006-2009). En: Abstract Book Colloquium Neglected Tropical Disease of Latin America, 12-14 nov 2009, Lima, Peru. p. 73.
- Cabrera R; Vega S, Caceres A; Ramal C; Alvarez C; Ladera P; Pinedo R; Chiquipindo G. Epidemiological investigation of an acute case of Chagas disease in an area of active transmission in peruvian amazon region. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2010;52(5):269-272.
- Cáceres NC; Monteiro-Filho EL. Food habits, home range and activity of *Didelphis aurita* (Mammalia, Marsupialia) in a Forest Fragment of Southern Brazil. Stud Neo F Envir 2001; 36:85-92.

- Cáceres A; Vega S; Pinto J; Gonzáles A; Náquira C. 2006. Identificación de fuentes de alimentación e infección por *Trypanosoma cruzi* en *Panstrongylus herreri* en Utcubamba , Amazonas – Perú. INS Informe técnico N° 41.
- Cáceres G; Troyes L; Gonzáles-Pérez A; Llontop E; Bonilla C; Murias E.. Enfermedad de Chagas en la región nororiental del Perú. I. Triatominos (Hemiptera, Reduviidae) presentes en Cajamarca y Amazonas. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2002; 19(1): 17-23.
- Calderón G; Cuzquén L; Figueroa KE; Náquira F. Perú. 1985. In RU Carcavallo, JE Rabinovich, RJ Tonn (eds.), Factores Biológicos y Ecológicos en la Enfermedad de Chagas. Tomo II. Buenos Aires: Ministerio de Salud y Acción Social de Argentina, Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud: 449-455.
- Calzada JE; Pineda V; Garisto JD; Samudio F; Santamaria AM; Saldaña A: Human trypanosomiasis in the eastern region of the Panama Province: new endemic areas for Chagas disease. Am J Trop Med Hyg 2010, 82:580–582.
- Carcavallo RU; Franca Rodríguez ME; Salvatella R; Curto de Casas SI; Sherlock IS; Galvão C. Hábitats e fauna relacionada. In: Carcavallo RU, Galíndez Girón I; Jurberg J; Lent H; orgs. Atlas dos Vetores da Doença de Chagas nas Américas. Vol. II. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1998.p. 561-619.
- Carpenter, J.W; Mashima, T.Y; Rupiper, D.J., 2001. Exotic Animal Formulary, 2nd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia
- Catalá S; Crocco L; Morales G; Paulone I; Giraldez E; Candiotti C. *Trypanosoma cruzi* transmission risk index: a tool to improve vector control. Annual Report. Geneva: World Health Organization (Tropical Disease Research); 1996.
- Ceballos L; Cardinal M; Vasquez-Prokopec G; Lauricella M; Orozco M; Cortinas R; Schijman A; Levin M; Kitron U; Gurtler R. 2006. Long term reduction *Trypanosoma cruzi* infection n sylvatic mammals following deforestation and sustained vector surveillance in northwestern Argentina- Acta tropica. 98:286-296.

- CONAM Consejo Nacional del Ambiente. 2005. Indicadores ambientales Loreto – Perú. Serie Indicadores Ambientales 7. Lima: CONAM. 60 p.
- Cornejo A; Berrocal A; Cubas E. Chagas Disease in Lima. *Am J Trop Med Hyg.* 1962; 11(5):610-612.
- Cornejo A; Berrocal A; Cubas E. Casos de enfermedad de Chagas diagnosticados en Lima. *Ann Fac Med.* 1963; 46:57-65.
- Coura J. Chagas disease: control, elimination and eradication. It is possible?. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013;108(8): 962-967.
- Coura J; Diaz J. 2009. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease 100 years after its Discovery. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104:31-40.
- Coura J; Junqueira ACV; Fernandes O; Valente SAS; Miles MA. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. *Trends Parasitol.* 2002. 18: 171-176.
- Cordero GA; Ruben A; Nicolas B. Feeding Habits of the Opossum (*Didelphis marsupialis*) in Northern Venezuela. *Fieldiana: Zoology.* 1987; 39: 125- 131.
- Cuba CA; Abad-Franch F; Roldan Rodriguez J; Vargas Vasquez F; Pollack Velasquez L; Miles MA. The triatomines of northern Peru, with emphasis on ecology and infection by trypanosomes of *Rhodnius ecuadoriensis* (Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002; 97(2):175-83.
- Cuba C. Revisión de los aspectos biológicos y diagnósticos del *Trypanosoma* (Herpetosoma) *rangeli*. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1998; 31(2):207-220.
- Dasak P; Cunnigham A; Hyatt A. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Act Trop.* 2001; 78:103-116.
- Deane M; Lenzi H; Jansen A. Double development cycle of *Trypanosoma cruzi* in the opossum. *Parasitol. Today.* 1986;2:146-147.
- Deane L. Animal reservoirs of *Trypanozoma cruzi* in Brazil. *Rev Marariol. Doença trop.* 1964;16: 27-48.
- Dedet J; Chippaux J; Goyot P; Pajot F; Tibayrenc M; Geoffroy B; Gosselin H; Jacquet-Vialet P. Natural hosts of *Trypanosoma cruzi* in French Guiana. High endemicity of zymodeme 1 in wild marsupials. *Ann. Parasitol. Hum. Comp* 1985; 60: 111-117.

- De Paz O, Benzal J. Clave para la identificación de los murciélagos de la Península Ibérica (Mammalia, Chiroptera). *Mis Zool*; 1989;13:153-176.
- De Lima J, Rodríguez A, Guglielmo Z, Rodríguez N. Trypanosomatidae de importancia en salud pública en animales silvestres y sinantrópicos en un área rural del municipio de Tovas del estado Mérida, Venezuela. *Biomédica*; 2006;26:45-50.
- Días JC. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bioecológicas, como agente de enfermedades transmitidas por alimentos. *Rev Soc Bras Méd Trop* 2006; 39: 370-5.
- Días E; Mello G; Costa O; Dasmaceno R; Azevedo M. Investigações sobre esquistotripanose de morcegos no Estado do Pará. Encontro do barbeiro "*Cavernicola pilosa*" como transmissor. *Revista Brasileira de Biologia*. 1942; 2: 103–110.
- Dib J; Agudelo L; Vélez I: Prevalencia de patologías tropicales y factores de riesgo en la comunidad indígena de Bunkuimake, Sierra Nevada de Santa Marta. *Duazary* 2006, 3:7.
- Do Santos J; Gubert M; Seixas E; Marques E; Leite A; Corseuil E. 2013. Evaluation of natural foci of *Panstrongylus megistus* in a forest fragment in Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Soc Bras Me Trop* 46(5):575-583.
- Dourojeanni M. Loreto Sostenibilidad al 2021. Lima: DAR. 2013.
- Dunn F; Lambrecht F; Du Plessis R. Trypanosomes of South American monkeys and marmosets. *Am J Trop Med Hyg*. 1963;12: 524-34.
- Eisenberg J; Redford K. Mammals of the neotropics: The central neotropics. Chicago: Chicago Press; 1999.
- Emmoms L. Neotropical rainforest mammals: a field guide. 2a ed. Chicago: University of Chicago Press; 1999.
- Fernández R; Quicaño A. 1995. Reservorios domésticos de *Trypanosoma cruzi* en el Distrito de La Tinguina - Ica. [Tesis para optar el título de Biólogo]. Ica: Facultad de Ciencias, Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica.
- Ferriolli F; Barretto MP; Carvalheiro JR. Estudos sobre reservorios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXIV. Variação dos dados biometricos obtidos

em amostras do *T. cruzi* isolados de casos humanos da Doença de Chagas. Rev Soc Bras Med Trop 1968; 1:2.

- Forattini OP; Ferreira AO; Silva EOR; Rabello EX. Aspectos ecológicos da tripanossomose americana XII - Variação regional da tendência de *Panstrongylus megistus* à domiciliação. Rev Saude Publica 1978; 12:209-233.
- Forattini OP; Ferreira OA; Silva EOR; Rabello EX. Aspectos ecológicos da tripanossomose americana. VIII – Domiciliação de *Panstrongylus megistus* e sua presença extradomiciliar. Rev Saude Publica. 1977; 11: 73-86.
- Forattini OP; Rabello EX; Castanho MLS; Pattoli DGB. Aspectos ecológicos da tripanossomose americana I – Observações sobre *Panstrongylus megistus* e suas relações com focos naturais da infecção em área urbana da cidade de São Paulo, Brasil. Rev Saude Publica 1970; 4:19-30.
- Fowler M; Miller R. Zoo and wild animal medicine: current therapy. 4a ed. Philadelphia: Saunders; 1999.
- García L; Lázaro M; Chia P; Escalante A. Frecuencia de pobladores y animales domésticos del Caserío de Chirinos (Piura) con anticuerpos a *Trypanosoma cruzi* entre abril a diciembre del 2000. Rev Peru Parasitol. 2003;16: 35-40.
- Grisard EC; Carvalho-Pinto CJ; Scholz AF; TomaHK; Schlemper BR Jr; Steindel M. *Trypanosoma cruzi* infection in *Didelphis marsupialis* in Santa Catarina and Arvoredo Islands, southern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000;95:795-800.
- Guhl F. Enfermedad de Chagas: Realidad y perspectivas. Rev Biomed. 2009;20:228-234.
- Gürtler RE; Wisniveski-Colli C; Solarz ND; Lauricella M; Bujas MA. Dynamics of transmission of *Trypanosoma cruzi* in a rural area of Argentina: II. Household infection patterns among children and dogs relative to the density of infected *Triatoma infestans*. Bull Pan Am Health Organ 1987;21:280–292.
- Herrer A. *Trypanozoma Phyllotis n.sp.* e infecciones asociadas en una titira, el *Phlebotomus noguchii*. Rev per med exp salud pública. 1972; 1:1-2.
- Herrer A. Trypanosomiasis americana en el Perú. I. El insecto vector y los animales que actúan de reservorio de la enfermedad de Chagas en la región sud occidental. Rev Med Exp. 1955; 9:23-37.

- Herrera L. Una revisión sobre reservorios de *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas. Bol Marlog Sal Amb. 2010;1(1): 3-15.
- Herrera L; Urdaneta-Morales S. Avances en la caracterización de biotopos de *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* aislado de urbanizaciones y parques recreacionales del valle de Caracas (Venezuela). Act Biol Venez. 2002;20: 45-51.
- Hoare CA. The trypanosomes of mammals. A Zoological Monograph. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburg; 1972.
- Hoare CA. Morphological and taxonomic studies on mammalian trypanosomes. X Revision of the Systematics. J Protoz. 1964; 11:200-207.
- Holmes J. Parasites as threats to biodiversity in shrinking ecosystems. Biodiversity Conservation. 1996;5:975-983.
- Hunsaker D II 1977. The Biology of Marsupials, Academic Press, New York, 537 pp.
- IIAP. Estrategia Regional de la diversidad biológica de Amazonas. Iquitos: BIODAMAZ; 2006.
- INS. Enfermedad de Chagas. Lima: INS; 2011.
- INS. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la Trypanosomiosis Americana (Enfermedad de Chagas). Lima: INS; 2005.
- Jansen AM; Carreira JC; Deane MP. Infection of a mammal by monogenetic insect trypanosomatids (Kinetoplastida, Trypanosomatidae). Mem Inst Oswaldo Cruz .1988;83: 271-272.
- Jara C; Escalante H; Roldán J; Díaz E. Distribución y frecuencia de infección por *Trypanosoma cruzi* de triatomíneos y *Ovis aries* en el Valle de Chamán, La Libertad, Perú. Sciendo. 1999; 1: 21-37.
- Jones C; McShea W; Conroy M; Kunz T. 1996. Capturing mammals. In: D.E. Wilson, F.R. 258 34(2): 251-258. ISSN:0377-9424 / 2010.
- Lainson R; Shaw JJ; Frahia H; Miles MA; Draper CC. Chagas`disease in the Amazon Basin I. *Trypanosoma cruzi* in silvatic mammals, triatomine bugs and

man in the State of Pará, north Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1979;73: 193-204.

- Lent A; Wigodzensky P. 1979. Revision of the triatomine (Hemiptera: Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, art. 3, New York, 520 pp.
- López A. Frecuencia de picada, infectividad y estado fisiológico de poblaciones peridomésticas de triatomíneos [tesina de graduación]. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba; 1996.
- López F; Rodrigues A; Saab J; Carvalho C; Temesio F; Caavalcanti F. *Trypanosoma cruzi* Infection in Neotropical Wild Carnivores (Mammalia: Carnivora): At the Top of the *T. cruzi* Transmission Chain. 2013. *PLoS ONE* 8(7): e67463. doi:10.1371/journal.pone.0067463
- Mallimaci MC; Sijvarger C; Dates A; Álvarez M; Sosa-Estani S. Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en Ushuaia, Argentina, una zona sin triatomíneos. *Rev Panam Salud Pública*. 2001;9(3):169–71
- McCallum, H; Dobson, A. Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. *Trends Ecol Evol*. 1995, 10:190-194.
- Mejía-Jaramillo A; Agudelo-Uribe L; Dib J; Ortiz S; Solari A; Triana-Chavez O. 2014. Genotyping of *Trypanosoma cruzi* in a hiper-endemic area of Colombia reveals overlap among domestic and sylvatic cycle of Chagas disease. *Parasit & Vect*. 2014;7: 108.
- MINSA. 1998. Perú, Ministerio de Salud. Doctrina, normas y procedimientos para el control de la tripanosomiasis o Enfermedad de Chagas en el Perú. Lima
- Morse, S. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis*. 1995;1(1):7-15.
- Muir W; Hubbel J. 1992. *Manual de Anestesia veterinaria* Ed Acribia Zaragoza.
- Náquira C; Cabrera R. Breve reseña histórica de la enfermedad a cien años de su descubrimiento y situación en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pulica*. 2009; 26 (4):494-504.
- OMS. Control de la Enfermedad de Chagas. Ginebra: OMS; 2002.
- OMS. Control de la Enfermedad de Chagas. Ginebra: OMS; 1991.

- Orozco M; Enriquez G; Alvarado-Otegui J; Cadinal V; Schijam A; Kiltron U; Gurter E. New sylvatic host of *Trypanosoma cruzi* and their reservoir competence in the humid chago of Argentina: a longitudinal study. *A Jn tro Med Hy.* 2013;88(5): 8872-882.
- Pacheco V; Cadenillas R; Salas E; Tello C; Zeballos H. Diversidad y endemismo de los mamíferos del Perú *Rev Per Biol.* 2009;16(1):5-32.
- Patz J; Daszak P; Tabor G; Aguirre A; Pearl M; Epstein J; Wolfe E. Unhealthy landscapes: Policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environ Health Perspec.* 2004; 112:1092-1098.
- Parra G; Restrepo M; Restrepo B; Domínguez J. Estudio de Tripanosomiasis americana en dos poblados indígenas de la Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. *Revista CES Medicina* 2004, 18:4.
- Pereira-Barreto M. Tripanossomos semelhantes ao *Trypanosoma cruzi* ea animais silvestres e sua identificação como agente etiológico da doença da chagas. *Rev Ins Med Trop S Paulo* 1965;7; 305-315.
- Petrides GA. Sex and age determination in the opossum. *J Mammal* 1949; 30: 364-378.
- Pietrzak SM; Pung OJ. Trypanosomiasis in raccoons from Georgia. *J Wildl Dis.* 1998;34:132–136.
- Pinho A; Cupolillo E; Mangia R; Fernandes O; Jansen A M. *Trypanosoma cruzi* in the sylvatic environment: distinct transmission cycles involving two sympatric marsupials. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2000; 94: 509-514.
- Racey P. 1988 Reproductive assessment in bats p 31-43 .In: ecological and behavioral methods for the study of bats. T H Kuns (eds) Smithsonian Institution Press. Washington DC 533 pp.
- Ramirez L, Lages-Silva E, Alvarenga Franco F, Matos A, Vargas N, Fernández O, Zingales B. High prevalence of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* in opossums and triatomids in a formerly-endemic area of Chagas disease in Southeast Brazil. *Act Trop;* 2000;84(3):189-198.
- Ramsey J; Guitierrez A; Salgado L; Townsend A; Sanchez V; Ibarra C.. Ecological connectivity of *Trypanosoma cruzi* reservoirs and triatoma pallidipennis host in

an Anthropogenic landscape with endemic chagas disease. PLoS One. 2012; 7(9): e 46013.

- Ribeiro RD; García TAR; Bonomo WC. Contribuição para o estudo dos mecanismos de transmissão do agente etiológico da doença de Chagas. Rev Saude Publ. 1987; 21:51-54.
- Ruiz-Piña H; Cruz-Reyes A. The Opossum *Didelphis virginiana* as a Synanthropic reservoir of *Trypanosoma cruzi* in Dzdzilche, Yucatan, Mexico. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002; 97 (5):613-620.
- Salazar-Schettino P; Rojas-Wastavino G; Cabrera-Bravo M; Bucio-Torres M; Guevara-Gómez Y. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz. Salud Pública de México. 2005; 47: 201-8.
- Scheone H; Alfaro E; Rojas A. Basis and yield of the xenodiagnosis in human chagasic infection. Bol Chil Parasitol. 1974: 29:24-6.
- Schenone H. Xenodiagnosis. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94:289-94.
- Schlemper Jr BR; Steindel M; Gargioni R; Farias CJM; Oliveira R; Trianon JAX. Reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi* e suas relações com o domicílio humano na Ilha de Santa Catarina. Arq Cat Med 1985; 14:91-96.
- Schweigmann N; Pietrokovsky S; Bottazzi V; Conti O; Bujas M; Wisnivesky-Colli C. Estudio de la prevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en zarigüeyas (*Didelphis albiventris*) en Santiago del Estero, Argentina. Rev Panam Salud Pública. 1999;6: 371-377.
- Schweigmann N. Aspectos ecológicos de una población santiagueña de la comadreja overa (*Didelphis albiventris*) en relación con la transmisión del *Trypanosoma cruzi* [tesis doctoral]. Buenos Aires: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires; 1994.
- Schweigmann NJ; Pietrokovsky S; Bottazzi V; Conti O; Wisnivesky-Colli C. Interaction between *Didelphis albiventris* and *Triatoma infestans* in relation to *Trypanosoma cruzi* transmission. Mem Inst Oswaldo Cruz 1995; 90:679-682.
- Silveira A. Factores de riesgos implicados en la transmisión oral de la Enfermedad de Chagas. In: Informe Final Consulta Técnica e Epidemiología, Prevención y Manejo de la Transmisión de la Enfermedad de Chagas como

Enfermedad Transmitida por Alimentos (ETA); 4-5 mayo 2006; Rio de Janeiro. Pp. 16-9.

- Siqueira-Batista R; Gomes A. P; Rubião E C N; Gonçalves MLC. (2007). Infecção por *Trypanosoma cruzi* na Amazônia. En: R. Siqueira-Batista, A. P. Gomes, A. D. Corrêa, M. Geller (Eds). Moléstia de Chagas. 2ª ed. Rio de Janeiro, Brasil.
- Scott M. The impact of infection and disease on animal populations: implications for conservation biology. *Conser Biol.* 1988; 2:40-56.
- Shikanai-Yasuda MA; Carvalho NB. Oral transmission of Chagas disease. *Clin Infect Dis.* 2012; 54:845-52.
- Silveira AC. New challenges and the future of control. *Rev Soc Bras Med Trop* 2011; 44 Suppl 2:122-4
- Siqueira-Batista R; Gomes A P; Rubião ECN; Gonçalves MLC. (2007). Infecção por *Trypanosoma cruzi* na Amazônia. En: R. SiqueiraBatista, A. P. Gomes, A. D. Corrêa, M. Geller (Eds). Moléstia de Chagas. 2ª ed. Rio de Janeiro, Brasil
- Solís H; Carvalho E; Ferreria C; Casanova C; Huamán A; Mendoza V. Contribución al estudio de la epidemiología de la enfermedad de Chagas en tres localidades de la zona sur del Perú. *Ana Fac Med UNMSM* 2003; 64: 223-227.
- Solís – Acosta H.M. Contribuição ao Estudo da doença de chagas em tres localidades de a Zona sur do Perú. São Paulo- Brasil, 2000. [Tesse para obtenção do grau de DOUTOR, Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas].
- Sosa M; Soriano P. Solapamiento de dietas entre *Leptonycteris crusossoae* y *Glossophaga longirostris* (Mammalia: Chriptera). *Rev Biol Trop.* 1993;41: 529-532.
- Soto H; Tibaudulza T; Montilla M; Triana O; Suarez D; Torres M; Arias M; Lugo L. Investigación de vectores y reservorios en brote de chagas agudo por posible transmisión oral en Aguachica, Cesar, Colombia. *Cad Saude Publica.* 2014;30(4):746-756.

- Sulca L. 2004. *Trypanosoma cruzi* en triatominos del Distrito de Cajaruro, Utcubamba-Amazonas, Perú 2001. Tesis para optar el título de Biólogo. Facultad de ciencias Biológicas UNMSM, 95 pp.
- Storino R; Jorg ME. Vías de infección y aspectos clínicos. En: Storino R, Milei J (orgs) Enfermedad de Chagas. Buenos Aires, Doyma Argentina; 1994. p. 132-141.
- Sullivan J; Steurer F; Benavides G; Tarleton RL; Eberhard ML; Landry S. Trypanosomes and microfilariae in feral owl and squirrel monkeys maintained in research colonies. Am J Trop Med Hyg. 1993;49(2): 254-259.
- Tartatotti E; Azeredo –Oliveira MTV; Cerón C. Problemática vectorial da Docença de Chagas. Arq Cienc Saude. 2004; 11:44-47.
- Telfort Jr S, Tonn R. Dinámica de *Trypanosoma cruzi* en poblaciones de un reservorio primario, *Didelphis marsupialis*, en los llanos altos de Venezuela. Bol Oficina Sanit Panam 1982;93:341-64.
- Tyler KM; Engman DM. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. Int J Parasitol 2001; 5-6: 472-81.
- Thompson RC; Kutz S; Smith A. Parasite zoonoses and wildlife: Emerging issues. 2009;6(2):678-693.
- Thompson RC; Murrell K. Parasitic Zoonoses – Emerging Issues, Thematic Issue Int. J. Parasitol. 2005, 35, 1153-1332.
- Tarqui, K. Determinación de indicadores entomológicos y fuentes de alimentación de triatominos en el centro poblado el Ron, distrito de Cajaruro, provincia de Utcubamba, Amazonas-Perú. 2014. [Tesis para optar el grado de Magister en Epidemiología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Humana].
- Urdaneta-Morales S; Nironi I. *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of urban opossums. Isolation and experimental infections. Mem Inst Osw Cruz. 1991; 91: 399-403.
- Urzúa C; Morales M, Vergara U; Paláu Mt; Zúñiga C. 2004. Sexo del hospedero y dosis infectante de parásitos como factores en el desarrollo de la infección con *Trypanosoma cruzi* en un modelo murino. Parasitol Latinoam. 3-4: 104-109

- Uyema N; Montalvan E; Huapaya J. 2006. Seroprevalencia de los animales posibles reservorios de la Enfermedad de Chagas en la Provincia de Nazca, Departamento de Ica-Perú. Rev Horiz Med. 2006;6(2):80-86.
- Vargas F. 2005. Epidemiología molecular de la Trypanosomiasis americana (*Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli*) en la región norte y nororiental del Perú. [Tesis Doctoral]. Granada: Facultad de Ciencias, Universidad de Granada.
- Vega S; Náquira C; Cáceres A; Purisaca E; Gonzales L; Sánchez E. Seroprevalencia de la tripanosomiasis americana en los departamentos de Amazonas, Cajamarca – Perú 2002. Parasitol Latinoam. 2005; 60(Supl 1): S157
- Verdú J; Ruiz M: Control del Chagas en comunidades guaraníes: conocimiento y hábitos higiénicos dentro del proyecto de mejoramiento de viviendas en Bolivia. Gac Sanit. 2003, 17:3.
- Villagran M; Martinez-Ibarra J; De Diego J. Alteraciones patológicas y prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en zarigüeyas en el occidente de México. Bol Mariologia Sal Amb. 2011;11(1):87-88.
- Voss R; Emmons L. 1996. Mammalian diversity in neotropical lowland rainforest: A preliminary assessment. Bulletin of the American Museum of Natural History 230:1-115.
- Whiting C. Contribución al estudio de las reservas de parásitos de la enfermedad de Chagas en Chile. Primeros hallazgos en Chile de mamíferos silvestres infestados por *Trypanosoma cruzi*. Rev Chil Hig Med Prev. 1956; 8:9–102.
- WHO World Health Organization. Report from the Expert Committee Meeting on Epidemiology of Chagas' disease, Brasilia, July 16-19. Geneva: World Health Organization, mimeographed document TDR/EPICHA/79.1, Rev. 1, p. 25, 1979.
- Woodman N; Timm N; Slade E; Doonan T.. Comparison of traps and baits for censusing small mammals in Neotropical lowlands. J Mamm. 1996; 77: 274-281.
- Zeledón R; Solano G; Saenz SG; Swartzwelder J. Wild reservoirs of *Trypanosoma cruzi* with special mention of the opossum, *Didelphis marsupialis*, and its role in the epidemiology of Chagas'disease in an endemic area of Costa Rica. J Parasitol 1970 56:38.

- Zuñiga C; Binder N; Palaum T; Larenas J; Vergara U. Edad del hospedero en la evolución de infección experimental con *Trypanosoma cruzi* en un modelo murino. Rev Ibero-latinoam Parsitol 2012;71(1) 23-33.

X. ANEXOS

Anexo N° 01

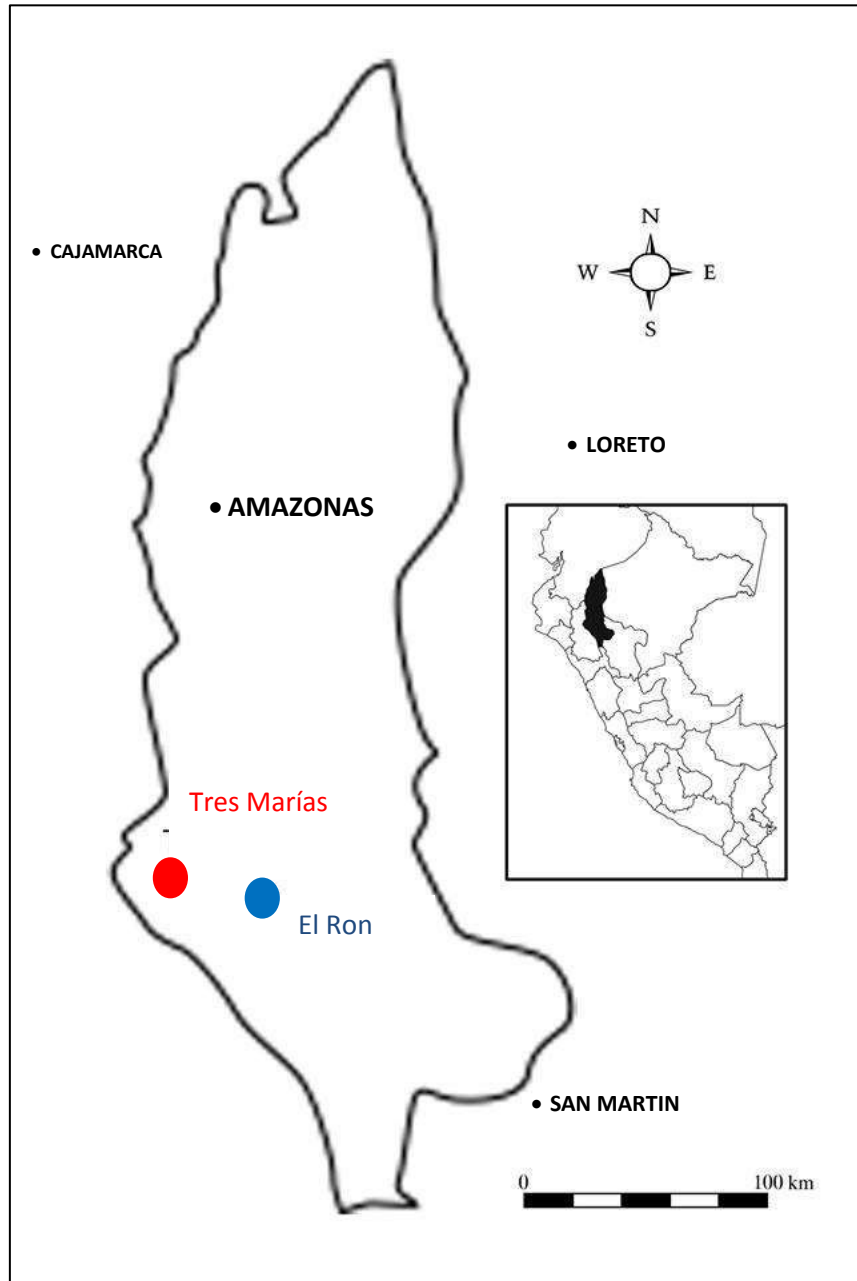
Tabla N° 1. Relación de algunas especies de roedores, marsupiales y quirópteros reportadas como reservorio de *Trypanosoma cruzi* en el Latinoamérica

Nombre científico	País	Fuente
<i>Didelphis marsupialis</i>	Venezuela	Herrera & Urdaneta-Morales, 1992; De Lima <i>et al</i> 2006; Gil De Soto 1971; Telford y Too 1982
	Brasil	Grisard <i>et al</i> 2000; Deane 1964, Rodrigues y Mello 1942; Deane 1961; Lainson 1979; Miles <i>et al</i> 1981; Pova <i>et al</i> 1984
	México	Villagran <i>et al</i> 2012
	Colombia	Soto <i>et al</i> 2014
	México	Ruiz Piña y Cruz Reyes 2002
<i>Philander opossum</i>	Guyana Francesa	Dedet <i>et al.</i> , 1985; Pinho <i>et al.</i> , 2000
	Brasil	Deane 1958; Lainson R <i>et al</i> 1979; Miles 1978
<i>Mus musculus</i>	México	Ramsey <i>et al</i> 2012; Deane 1965; Deane 1961; Lainson <i>et al</i> 1979; Barretto & Ribeiro, 1979
	Perú	Ayaqui y Cordobo, 1990; MINSA 2001
<i>Proechimys sp</i>	Mexico (<i>P. semispinosus</i>)	Ramsey <i>et al</i> 2012
	Brasil (<i>P. guayannensis</i>)	Deane 1961; Lainson <i>et al</i> 1979
<i>Carollia perspicilata</i> <i>Phyllostomus elongatus</i>	Brasil	Días <i>et al</i> 1942

Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 02

Figura N° 01. Centros Poblados El Ron y Tres Marías en la provincia de Utcubamba, departamento de Amazonas, 2012.

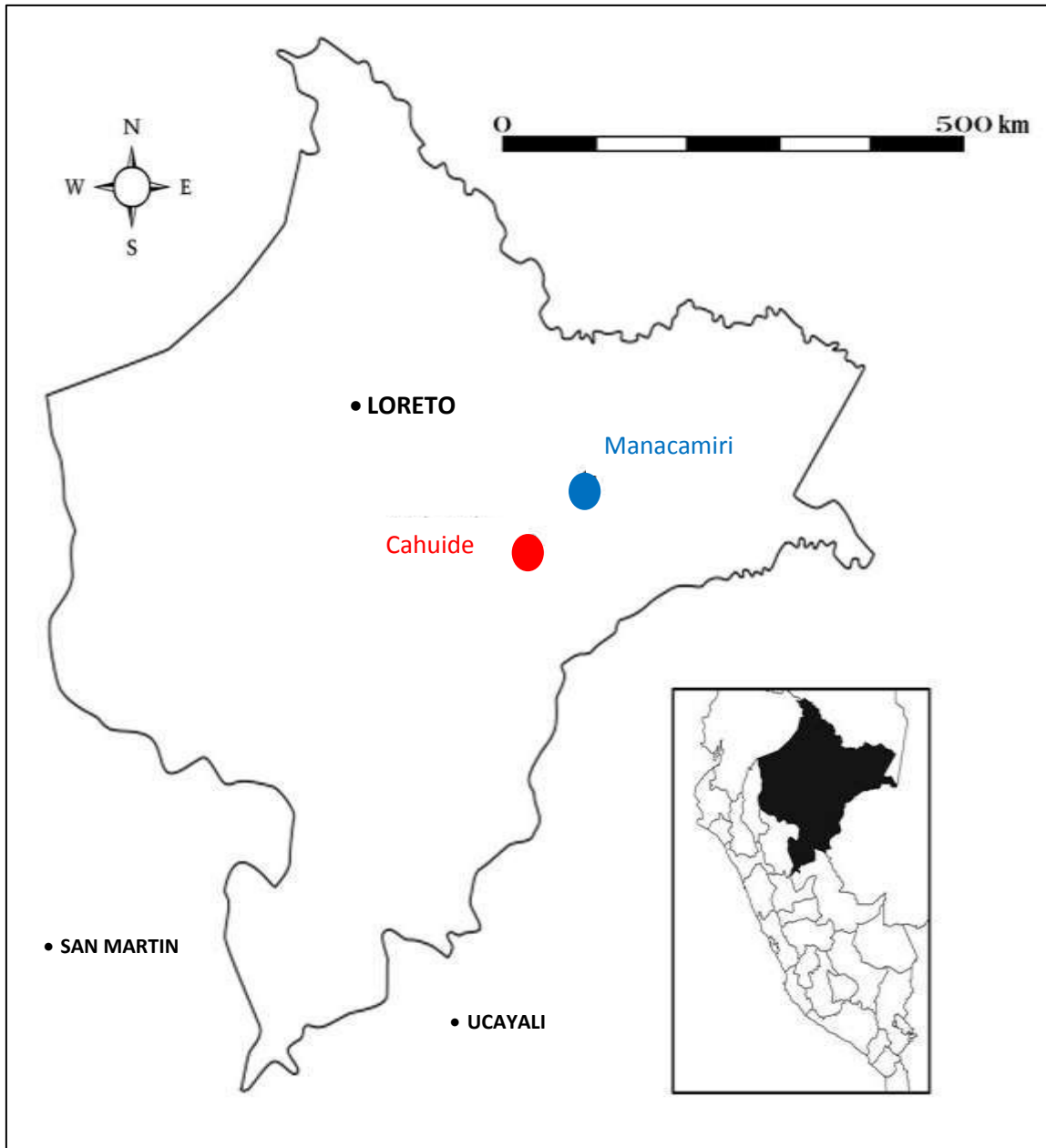


Leyenda= Centros poblados el Ron (azul) y Tres Marías (rojo), provincia de Utcubamba, departamento de Amazonas.

Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 03

Figura N° 02. Caserío Manacamiri y Cahuide, provincia de Maynas, departamento de Loreto, 2013.



Leyenda= los caseríos Cahuide (rojo) y Manacamiri (azul) en la provincia de Maynas, departamento de Loreto.

Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 04

Figura 3. Trampas para roedores colocadas en el departamento de Amazonas y Loreto, 2013.



A= Departamento de Amazonas (arriba).

B= Departamento de Loreto (abajo).

Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 05

Figura 4. Murciélago capturado en una red de neblina en el departamento de Loreto, 2013.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 06

Figura 5. Marsupial capturado y anestesiado en el departamento de Amazonas, 2012.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 7

Figura 6. Murciélago capturado y anestesiado en el departamento de Loreto, 2013.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 8

Figura 7. Roedor (*Proechimys* sp.) capturado y anestesiado en el departamento de Loreto, 2013.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 9

Figura 8. Toma de xenodiagnóstico en un roedor (*Mus musculus*) capturado en el departamento de Amazonas, 2012.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 10

Figura 9. Toma de xenodiagnóstico en un marsupial (*Philander opossum*) capturado en el departamento de Loreto, 2013.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 11

Figura 10. Toma de xenodiagnóstico en un quiróptero capturado en el departamento de Loreto, 2013.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 12

Figura 11. Obtención de las heces de triatominos utilizados en a técnica de xenodiagnóstico, 2013.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 13

Figura 12. Observación al microscopio de las heces de triatomino utilizados en a técnica de xenodiagnóstico, 2013.



Fuente: Elaboración propia

Anexo N° 14

Figura 13. Trypomastigote de *Trypanosoma* sp., utilizando la tinción Giemsa a 100x, 2013.

Fuente: Elaboración propia

Anexo N° 15

Tabla N° 02. Especies de potenciales hospederos de *Trypanosoma* sp. capturadas en los departamentos de Amazonas y Loreto, 2012-2013.

Orden	Especie	Amazonas			Loreto			Total	
		El Ron	Tres Marías	Total	Manancamiri	Cahuide	Total	N° de individuos	Porcentaje del total de capturados
Didelphimorphia	<i>Didelphis marsupialis</i>	2	1	3	-	-	-	3	2.40%
	<i>Philander opossum</i>	-	-	-	-	1	1	1	
	Sub total Didelphimorphia	2	1	3	-	1	1	4	
Rodentia	<i>Mus musculus</i>	2	1	4	4	-	4	7	8.40%
	<i>Proechimys sp</i>	-	-	-	1	-	1	1	
	Sub total Rodentia	2	1	4	5	-	5	8	
Chiroptera	<i>Artibeus fraterculus</i>	1	1	2	-	-	-	2	87.40%
	<i>Artibeus lituratus</i>	-	-	-	1	2	3	3	
	<i>Artibeus planirostris</i>	1	2	3	5	7	12	15	
	<i>Artibeus obscurus</i>	-	-	-	1	-	1	1	
	<i>Artibeus cinereus</i>	-	-	-	3	-	3	3	
	<i>Carollia castanea</i>	-	-	-	1	1	2	2	
	<i>Carollia brevicauda</i>	-	-	-	-	1	1	1	
	<i>Carollia perspicillata</i>	13	9	22	1	9	10	32	
	<i>Phyllostomus elongatus</i>	2	0	2	5	1	6	8	
	<i>Sturnira tildae</i>	-	-	-	0	1	1	1	
	<i>Sturnira oporaphilum</i>	3	0	2	5	2	7	10	
	<i>Urodema bilobatum</i>	-	-	-	4	1	5	5	
	Sub total Chiroptera	20	12	31	26	25	51	83	
TOTAL		24	14	38	31	26	57	95	100%

Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 16

Tabla N° 03. Indicadores de biodiversidad según la localidad muestreada en los departamentos de Amazonas y Loreto, 2012-2013.

Índice	LOCALIDAD			
	El Ron	Tres Marías	Cahuide	Manacamiri
Riqueza (S)	7	5	12	9
Índice de Simpson (D)	0,6667	0,551	0,8325	0,8462
Índice Shannon Winner (H)	1,478	1,128	2,088	1,99
Índice de Margalef (D_{Mg})	1,888	1,516	3,203	2,455
Equidad de Pielou (J)	0,7596	0,7006	0,8404	0,9055
Fisher-alpha	3,322	2,782	7,182	4,877
Índice de Rarefacción	4,66	4,08	5,55	6,58

Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 17

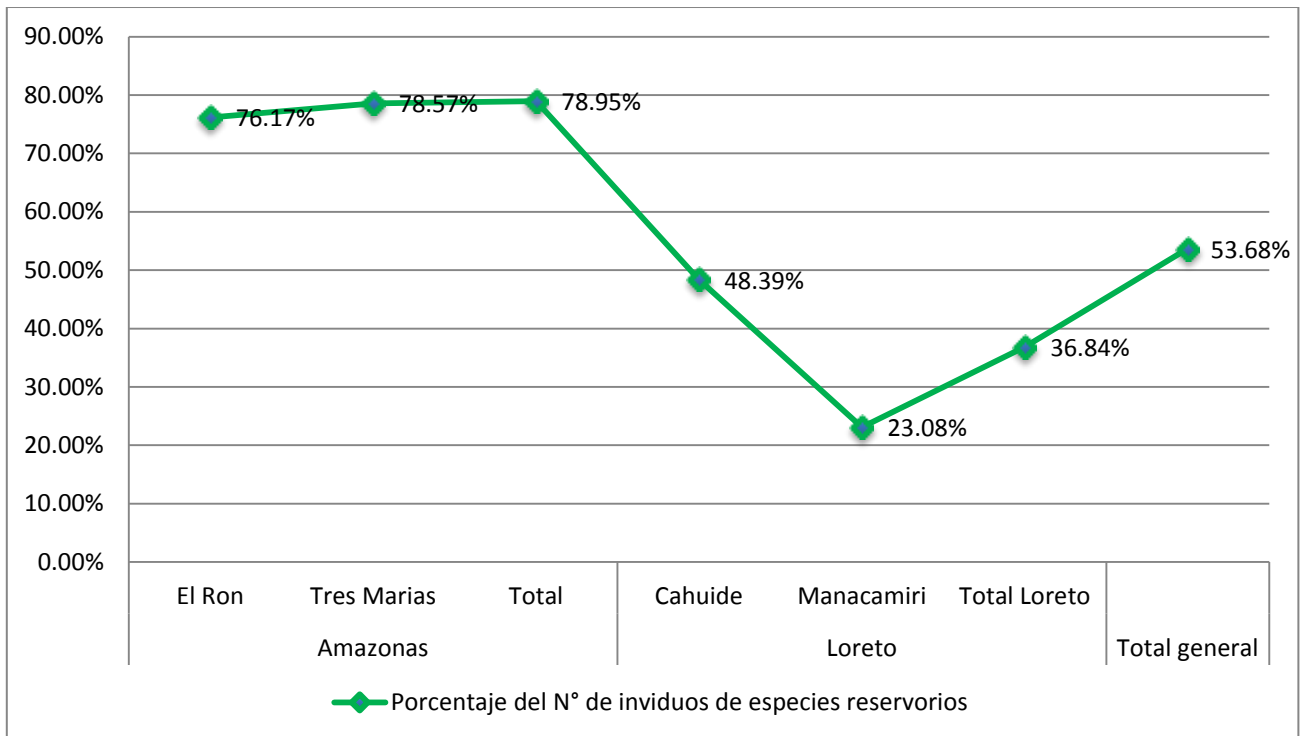
Tabla N° 4. Presencia de especies capturadas y conocidas como reservorios de *Trypanosoma sp.* por departamento y localidad, 2012-2013.

Nombre científico	Amazonas			Loreto			Total general
	El Ron	Tres Marías	Total	Cahuide	Manacamiri	Total	
<i>Didelphis marsupialis</i>	2	1	3	0	0	-	3
<i>Philander opossum</i>	0	0	0	1	0	1	1
<i>Carollia perspicillata</i>	13	9	22	9	1	10	32
<i>Phyllostomus elongatus</i>	2		2	1	5	6	8
<i>Mus musculus</i>	2	1	3	4		4	7
Total	19	11	30	15	6	21	51

Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 18

Grafico 01. Porcentaje de la presencia de especies capturadas y reservorios de *Trypanosoma* sp. conocidas, por localidad y departamento, 2012-2013.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 19

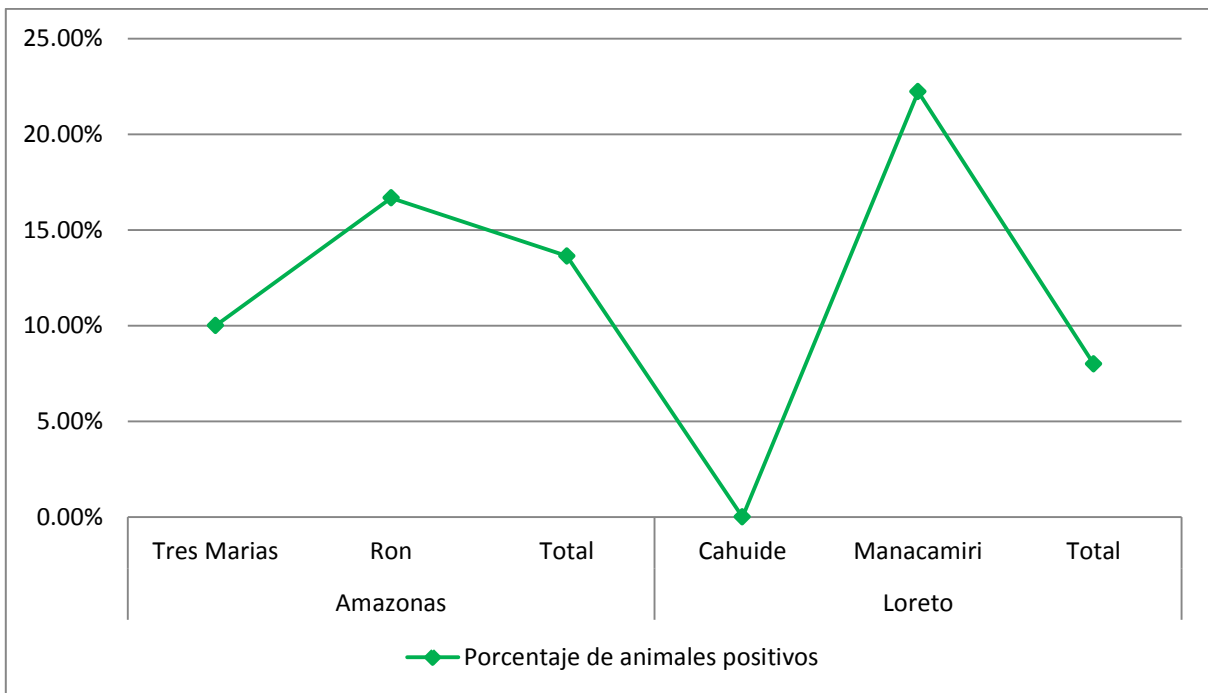
Tabla N° 5. Frecuencia de animales positivos a *Trypanosoma* sp. utilizando la técnica de xenodiagnóstico en cuatro localidades de los departamentos de Amazonas y Loreto, 2012-2013.

Orden	Especie	Xenodiagnóstico realizados	Número de Xenodiagnóstico positivos	Frecuencia de positivos (%)	
Didelphimorphia	<i>Didelphis marsupialis</i>	3	2	66.67	
	<i>Philander opossum</i>	1	0	0.00	
	<i>Sub total</i>	4	2	50.00	
Rodentia	<i>Mus musculus</i>	7	1	14.29	
	<i>Proechimys</i> sp.	1	0	0.00	
	<i>Sub total</i>	8	1	12.50	
Chiroptera	<i>Artibeus fraterculus</i>	2	0	0.00	
	<i>Artibeus lituratus</i>	2	0	0.00	
	<i>Artibeus planirostris</i>	7	0	0.00	
	<i>Artibeus obscurus</i>	1	0	0.00	
	<i>Artibeus cinereus</i>	1	0	0.00	
	<i>Carollia castanea</i>	1	0	0.00	
	<i>Carollia brevicauda</i>	1	0	0.00	
	<i>Carollia perspicillata</i>	8	0	0.00	
	<i>Phyllostomus elongatus</i>	4	2	50.00	
	<i>Sturnira tildae</i>	1	0	0.00	
	<i>Sturnira oporophilum</i>	5	0	0.00	
	<i>Urodema bilobatum</i>	2	0	0.00	
	<i>Sub total</i>	35	2	5.71	
	TOTAL		47	5	10.64

Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 20

Grafico 02. Porcentaje de potenciales reservorios positivos a *Trypanosoma* sp. utilizando la técnica de xenodiagnóstico por localidad y departamento, 2012-2013.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo N° 21

Tabla N°6. Presencia de animales positivos a *Trypanosoma sp.* utilizando la técnica de xenodiagnóstico en los departamentos de Amazonas y Loreto, 2012-2013.

Orden	Especie	Amazonas			Loreto		
		N° animales analizados	N° animales positivos	Frecuencia de positivos (%)	N° animales analizados	N° animales positivos	Frecuencia de positivos (%)
Didelphimorphia	<i>Didelphis marsupialis</i>	3	2	66.67	-	-	-
	<i>Philander opossum</i>	0	-	-	1	0	0
	Sub total	3	2	66.7	1	0	0
Rodentia	<i>Mus musculus</i>	3	1	33.3	4	0	0
	<i>Proechimys sp.</i>	-	-	-	1	0	0
	Sub total	3	1	33.3	5	0	0
Chiroptera	<i>Artibeus fraterculus</i>	2	-	0	-	-	0
	<i>Artibeus lituratus</i>	-	-	-	2	0	0
	<i>Artibeus planirostris</i>	2	0	0	-	-	0
	<i>Artibeus obscurus</i>	-	-	-	1	0	0
	<i>Artibeus cinereus</i>	-	-	-	1	0	0
	<i>Carollia castanea</i>	-	-	-	1	0	0
	<i>Carollia brevicauda</i>	-	-	-	1	0	0
	<i>Carollia perspicillata</i>	6	0	0	2	0	0
	<i>Phyllostomus elongatus</i>	2	0	0	2	2	100
	<i>Sturnira tildae</i>	-	-	-	1	1	0
	<i>Sturnira oporophilum</i>	3	-	0	2	0	0
	<i>Urodema bilobatum</i>	-	-	-	2	0	0
	Sub total	16	0	-	19	2	10.5
TOTAL	22	3	13.6	25	2	8	

Fuente: Elaboración propia