

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Escuela Académico Profesional de Ciencias Biológicas



**IDENTIFICACIÓN DE FUENTES DE ALIMENTACIÓN DE
Panstrongylus herreri (Hemíptera, Triatominae) MEDIANTE UNA
PRUEBA DE PRECIPITACIÓN, EN EL DISTRITO DE CAJARURO,
PROVINCIA DE UTCUBAMBA, AMAZONAS - PERÚ**

TESIS

Para optar el Título Profesional de BIÓLOGO

Con Mención en Microbiología y Parasitología

Bachiller Jesús Antonio Pinto Caballero

Lima – Perú

2006

Asesora: Blga. Rosa Martínez Rojas
Profesora Asociada de la Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Coasesor: Blgo. Abraham Cáceres Lázaro
Laboratorio de Entomología
Instituto Nacional de Salud, Lima – Perú

A la memoria de mis padres
Eduardo e Hilda, a quienes llevo
siempre en mi corazón

A mis tíos Guillermo y Teófila, mis
primos Guillermo, Hugo, Amelia y Silvia
por su amor, esfuerzo y apoyo
fraterno e incondicional

A Sofía, quien me guía y apoya en
todo momento de mi vida

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos mi Alma Mater, y a la Facultad de Ciencias Biológicas, por su valiosa contribución en mi formación profesional.

Al Instituto Nacional de Salud, por brindarme todas las facilidades durante la ejecución del presente trabajo.

Quiero agradecer a mi asesora de tesis Blga. Rosa Martínez Rojas, por su apoyo permanente y demostración de amistad al igual que a mi coasesor Blgo. Abraham Cáceres Lázaro por brindarme su amistad, así como valiosos aportes y sugerencias.

A la Blga. Silvia Vega Chirinos quien siempre me incentivó y alentó en el campo de la investigación, así como de ofrecerme su amistad sincera.

Al Dr. César Náquira Velarde por sus aportes y sugerencias durante la revisión integral de la presente tesis.

Al personal del Instituto Nacional de Salud (Laboratorios de Leishmaniasis, Chagas y Entomología), a mis amigos y a todos los que me apoyaron permanentemente.

ÍNDICE

Resumen	1
Abstract	3
I. Introducción	5
II. Antecedentes	7
III. Material y Métodos	
3.1 Estandarización de la Prueba de Precipitación	13
3.2 Aplicación de la Prueba de Precipitación en <i>Panstrongylus herreri</i> procedentes del distrito de Cajaruro	16
IV. Resultados	
4.1 Estandarización de la Prueba de Precipitación	20
4.2 Aplicación de la Prueba de Precipitación en <i>Panstrongylus herreri</i> procedentes del distrito de Cajaruro, provincia de Utcubamba	22
V. Discusión	24
VI. Conclusiones	28
VII. Recomendaciones	29
VIII. Referencias Bibliográficas	30
IX. Tablas y Figuras	35
X. Anexos	62

RESÚMEN

El presente trabajo, tiene como finalidad identificar las fuentes de alimentación de *Panstrongylus herreri* procedentes de la localidad de Cajaruro (Utcubamba-Amazonas), donde se señala su presencia en ambientes domésticos y está considerado como vector principal de la Enfermedad de Chagas en el nororiente del Perú. Para ello, se planteó utilizar la prueba de precipitación en tubo capilar conocida como prueba de precipitina, desarrollado en fase líquida; esto nos brinda información acerca del tipo de sangre ingerida por el vector. Para la prueba de precipitación, se empleó como antígeno el contenido intestinal del triatomino y como anticuerpo el antisuero precipitante obtenido de conejos inmunizados con suero de humano, perro, gato, cobayo y pollo.

El trabajo consta de dos etapas: en la primera etapa se estandarizó la preparación de antisueros que contenían a los anticuerpos precipitantes, asimismo se utilizó ninfas de *Triatoma infestans* del IV y V estadio criadas en el laboratorio, las cuales fueron alimentadas con sangre de perro, cobayo y hombre, determinándose el rendimiento de la prueba en cuanto a su sensibilidad y especificidad, y en la segunda etapa se evaluaron ejemplares de *Panstrongylus herreri* procedentes de dos localidades (El Ron y Hebrón) del distrito de Cajaruro, departamento de Amazonas, a través de la prueba ya estandarizada.

Se obtuvo títulos apropiados de los antisueros para la ejecución de la prueba la cual resultó tener mejor especificidad que sensibilidad. Se capturaron 102 ejemplares de *P. herreri* siendo todos de ambientes intradomiciliarios, de los cuales 93 ejemplares fueron examinados por la prueba de precipitación. La principal fuente de alimentación de *P. herreri* de esa zona fue la sangre de cobayo, seguido de humano y de pollo. No se logró identificar la fuente de alimentación en 17 ejemplares de *P. herreri*. Asimismo se obtuvo un índice de infección tripano – triatomínico de 62,4 % siendo asociado como principal fuente alimentaria al cobayo, seguido de pollo y de humano.

La prueba de precipitación, mostró mejor especificidad que sensibilidad debido a la absorción de anticuerpos no específicos. El alto índice de infección a *Trypanosoma sp.* estuvo relacionado a la fuente de alimentación por cobayo, el cual estaría contribuyendo a la presencia del vector en estas viviendas y como posible reservorio del parásito. Asimismo, el alto índice de infección relacionado a la fuente de identificación humana, indica una alta antropofilia y una gran capacidad vectorial de la especie existiendo el peligro latente de transmisión de la Enfermedad de Chagas en esta zona.

ABSTRACT

The current work has the finality of identify the feeding sources of *Panstrongylus herreri* obtained from the location of Cajaruro (Utcubamba-Amazonas) where its presence distinguishes in domestic environments and is considered to be a principal vector of Chagas's disease in the nor east of Peru. For it, we propose to use the test of capillary tube precipitation known as precipitin test, developed in liquid phase; this give to us information over the type of blood consumed by the vector. For the precipitation test, there was used the intestinal content of the triatomine bugs as antigen and as antibody the precipitated antiserum obtained of rabbits immunized with human, dogs, cats, guinea-pigs and chickens serums.

The work consists of two stages: In the first stage there was standardized the preparation of antisera that contains the precipitated antibodies, likewise there was used nymphs of *Triatoma infestans* of IV and V stages maintained in the laboratory, which were fed with dog, guinea-pig and human blood, resolving the yield of the test as his sensibility and specificity, and in the second stage there were evaluated specimens of *Panstrongylus herreri* proceeding from two localities (El Ron and Hebrón) from Cajaruro's district, department of Amazonas, through the test already standardized.

Appropriate titles of antiserum were obtained for the execution of the test which proved to have better specificity than sensibility 102 specimens were captured of *P. herreri* being all of domestic environments, of which 93 specimens were examined by the precipitation test. The principal feeding source of *P. herreri* of this zone was guinea-pig blood, followed of human and chicken blood. It was not achieved to identify the feeding source in 17 specimens of *P. herreri*. Likewise the tripano-triatominico index infection obtained was 62,4 %, being associated principally as feed source the guinea-pig followed of chicken and of human.

The precipitation test, showed better specificity than sensibility due to the absorption of not specific antibodies. The high index of infection to *Trypanosomas* was related to the feeding source by guinea-pig, who would be contributing to the presence of the vector in these housings and as possible keeper of the parasite. Likewise, the high index of infection related to the source of human identification, indicates a high antropophylia and a great vectorial capacity of the species existing the latent danger of transmission of Chagas's disease in this zone.

I. INTRODUCCIÓN

En el Oriente del Perú existen áreas que presentan condiciones óptimas para la presencia, proliferación y difusión de los vectores del *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la Enfermedad de Chagas, tales como el clima, la temperatura, viviendas precarias, hacinamiento y escasa educación sanitaria de los habitantes (Guillén *et al.*, 1989). Se conoce de la presencia de varias especies de vectores de la subfamilia Triatominae que tienen comportamiento domiciliario, destacando entre ellos, *Panstrongylus herreri*. En muchos casos los pobladores de estas áreas cohabitan con animales domésticos (perros, gatos, aves de corral, cobayos, etc.), que sirven como fuente de alimentación de los triatominos y reservorios del agente etiológico, favoreciendo así la colonización del vector y por lo tanto, la aparición de casos humanos de la Enfermedad de Chagas, lo que constituye un problema de salud pública. Asimismo, el desconocimiento de estas fuentes y otros factores vinculados al hospedero, no permiten llevar a cabo un efectivo control del vector, debido a que en la actualidad las medidas de control empleadas están dadas por el uso de insecticidas y van dirigidas únicamente a la eliminación del vector.

El único trabajo que se conoce en el Perú sobre fuentes de alimentación es el de Solís *et al.* (2003) quienes estudiaron *Triatoma infestans* procedentes de la zona sur, resaltándose la importancia de llevar a cabo más estudios de este tipo para lo cuál, era necesaria la estandarización de una técnica que pueda ser aplicada en forma rutinaria en la búsqueda del tipo de sangre ingerida por el vector. Para tal propósito, existe una prueba de precipitación en tubo capilar conocida también como prueba de precipitina (Siqueira, 1960), que es sencilla, altamente específica y de bajo costo en comparación con otras, y que puede brindar datos de especial valor epidemiológico; como son el conocimiento de la selección de los hospederos, la antropofilia, la afinidad por los mamíferos, la correlación entre infección trypanosómica y la fuente hemática, etc., asimismo, esta información ayudará a diseñar y definir las estrategias de control del vector.

Por lo expuesto, se decidió investigar y conocer con exactitud las fuentes de alimentación de *P. herreri* presente en nuestra zona de estudio, para lo cual se propuso los siguientes objetivos:

- Identificar las fuentes de alimentación de *Panstrongylus herreri*, mediante la prueba de precipitación.
- Estandarizar una prueba de precipitación para la identificación del contenido intestinal de triatominos.
- Correlacionar la infección intestinal por *Trypanosoma* en *Panstrongylus herreri* procedente de la localidad de Cajaruro y la fuente hemática.

II. ANTECEDENTES

Desde finales del siglo pasado, se desarrollaron varios métodos para investigar los hábitos alimenticios de muchos insectos hematófagos. El examen de las características de las células sanguíneas contenidas en la sangre de los insectos, fue una técnica usada, sin embargo Weitz (1960) consideró a esta técnica no muy útil pues las células sanguíneas se deterioran muy rápido; es por ello que se prefieren las técnicas serológicas, pues las proteínas se conservan por más tiempo. Dentro de las técnicas serológicas, que incluyen reacciones antígeno-anticuerpo, se destaca la prueba de precipitación en tubo capilar en fase líquida conocida como prueba de precipitina (Siqueira, 1960).

La prueba de precipitación en tubo capilar (prueba de precipitina) ha sido utilizada durante varios años en la identificación de sangre para varios fines, siendo empleada en el reconocimiento de sangre ingerida por numerosos artrópodos. Siqueira (1960) mencionó que fue usada por Romaña en 1939 y más tarde por Correa y Aguilar (1952), quienes mostraron que es útil en la identificación de sangre ingerida por triatominos. Eliason (1971) mencionó que esta prueba en principio fue desarrollada por Kraus en 1879 y posteriormente por Nuttal en 1904, para la identificación de muestras desconocidas de sangre.

Washino y Tempelis (1983) mencionaron la adaptación de esta prueba por Bull y King en 1923 para la identificación alimentaria de mosquitos. A lo largo de este período, pocas modificaciones fueron hechas a esta prueba, con excepción de la preparación de los antisueros, para asegurar la más alta especificidad y sensibilidad posible.

Siqueira (1960) trabajando con esta prueba y adaptándola de acuerdo a sus objetivos, la señala como superior a otras técnicas usadas en la medida que se obtenga una relativa especificidad a través de los antisueros precipitantes previamente absorbidos, asimismo él consideró trabajar con volúmenes reducidos de reactivos. Usando tubos con diámetro interno menor a 2 mm obtuvo lecturas

apropiadas que fueron hechas luego de dos horas, pues se consiguió visualizar la aparición del precipitado blanco. Esta prueba se manifiesta por presentar una precipitación cuando el anticuerpo precipitante y el antígeno homólogo son mezclados en proporciones adecuadas en fase líquida. Cuando el antígeno es aplicado sobre el suero se forma una superficie nítida de separación, la reacción se torna más visible y se manifiesta una amplia zona de concentración de los componentes.

Para la identificación de hábitos alimenticios en triatominos, Ricciardi *et al.* (1969) emplearon la técnica de inmunodifusión en gel de agar en placas y en láminas, encontrando resultados iguales al de otras técnicas existentes en la literatura, con la ventaja de mayor rapidez y simplicidad en el procedimiento, así como de permitir un largo margen de intervalo entre la captura y el análisis del contenido intestinal de los triatominos y además de mostrar buena sensibilidad.

Andrade *et al.* (1975) realizaron un estudio comparativo de las pruebas de precipitación e inmunodifusión en gel de agar, utilizando 360 especies de *Triatoma infestans* y 270 de *Panstrongylus megistus* alimentados con sangre de ave, obteniendo mejores resultados con la prueba de precipitación, pues mostró una mayor sensibilidad, siendo recomendada como prueba de rutina en la identificación de fuentes alimentarias.

Mediante la reacción de doble difusión en gel, Knierim *et al.* (1976) realizaron un estudio preliminar sobre la fuente alimentaria en triatominos. En este trabajo mencionaron que el porcentaje de reacciones negativas puede tener como causa la falta de antisuero para algunos animales del área de estudio, o por el largo periodo sin alimentación antes de la captura de los triatominos evaluados. Además, ellos consideraron a esta técnica sensible a volúmenes pequeños.

A partir de 1980 la prueba de ELISA fue introducida como una alternativa para la identificación de fuentes alimenticias (Burkot *et al.*, 1981). Cada una de estas pruebas tiene ventajas y restricciones; sin embargo, la prueba de

precipitación es más específica y exacta pero menos sensible que ELISA (Gomes *et al.*, 2001).

Zarate *et al.* (1980) estudiando la biología y el comportamiento de *Triatoma barberi* en México, a través de observaciones de las fuentes de alimentación y sus respectivos diagnósticos mediante la prueba de precipitación, verificaron que la sangre ingerida por las ninfas y por los adultos presentaban patrones iguales de preferencia por determinada fuente.

García-Zapata *et al.* (1992) llevaron a cabo un proyecto piloto de control de la enfermedad conjuntamente con el Ministerio de Salud del Brasil, que consistió en capturar especies de triatomos antes y después del ataque con insecticidas y utilizando la prueba de precipitación encontraron vestigios de sangre humana en los triatomos capturados en fase pre-ataque, siendo un 64% para los intradomiciliarios y 52% peridomiciliarios y en cuanto al periodo post-ataque utilizando la misma prueba, este índice fue reducido hasta 11% y 16% respectivamente.

Forattini *et al.* (1981) investigaron los hábitos alimenticios, infección natural y distribución de triatomos domiciliados en la región noreste de Brasil. Fueron examinados empleando la prueba de precipitación, en el periodo de 1975 a 1980, cerca de 15 342 triatomos colectados en el intradomicilio. La presencia de sangre fue detectada en 42,2% del total de especímenes examinados, obteniéndose un 54,8% de preferencia alimentaria por aves y un 30% por humanos.

Utilizando la prueba de precipitación Forattini *et al.* (1982) estudiaron los hábitos alimenticios, infección natural y distribución de triatomos en la región central de Brasil. En el periodo de 1975 a 1980 fueron examinados 3 160 triatomos colectados en el intradomicilio. La presencia de sangre fue detectada en un 35,9% del total de especímenes examinados, obteniendo un 54% de preferencia alimentaria por ave y un 30% por humano.

Schenone *et al.* (1985), realizaron un estudio sobre la Enfermedad de Chagas en Chile y analizaron la relaciones entre las condiciones de vivienda, infestación domiciliaria por triatomíneos e infección por *T. cruzi* en humanos y animales domésticos, asimismo efectuaron la prueba de precipitación para identificar las fuentes de alimentación.

Fuentes *et al.* (1988), elaboraron un perfil alimenticio de 107 especies de *Triatoma brasiliensis* capturados en el Municipio de Sao Sebastiao de Umbuzeiro Paraíba, encontrando que la principal fuente de alimentación de esta especie correspondía a la sangre de marsupial (78,5%), seguida de roedor (45,8%) y caprino (44,9%).

Utilizando la prueba de precipitación para las respectivas identificaciones, Christensen *et al.* (1988), analizaron el perfil alimentario de *Triatoma dimidiata* en habitats peri domiciliarios en el oeste de Panamá.

Mediante la prueba de precipitación Marcondes *et al.* (1991), analizaron las fuentes de alimentación sanguínea de 94 triatomíneos, obteniendo positividad para marsupial, hombre y ave; asimismo, encontraron tres triatomíneos infectados con *T. cruzi*.

Rocha *et al.* (1999) realizaron un estudio en la ciudad de Serra de Ramalho, Brasil con 1 937 especímenes de *T. sordida*, en el cual identificaron fuentes de alimentación mediante la prueba de precipitación. Encontraron que la principal fuente de alimentación fue el ave (56,4%), seguido del caballo (7,2%), roedor (6,7%), humano (2,2%) y perro (1,7%) entre otros. En 114 ejemplares fueron identificados dos y tres fuentes de alimentación; asimismo no fue posible identificar la fuente de alimentación en el 29,2% de insectos.

Mediante la prueba de doble difusión (Ouchterlony) Calderón *et al.* (2001) estudiaron las preferencias alimentarias de *Triatoma dimidiata* procedentes de la meseta central de Costa Rica. De 267 especímenes el 67% mostró preferencia por

sangre humana, seguida de perro, rata y gallina. Asimismo el índice de infección natural por *T. cruzi* fue de 44% relacionado principalmente con la fuente humana.

En el estado de Mato Grosso, Brasil, Lorosa *et al.* (2003) determinaron fuentes de alimentación mediante la prueba de precipitación, en 164 especímenes de *Triatoma jurbergi* y 193 de *T. vanda*. Para *T. jurbergi* se identificó hasta cuatro fuentes de alimentación, siendo las principales preferencias por el roedor (29%) y el ave (13%), asimismo se encontró infección natural por *T. cruzi* en 27 *T. jurbergi*. Para *T. vanda* igualmente se identificó hasta cuatro fuentes de alimentación siendo las principales el roedor (20,5%), gambá (12%) y ave (9%), asimismo se encontró infección natural a *T. cruzi* en 31 especímenes de *T. vanda*.

Lorosa *et al.* (2003) llevaron a cabo un estudio en Arcádia, Estado do Río de Janeiro, Brasil con *T. vitticeps* (46) capturados en una casa. Mediante la prueba de precipitación, encontraron hasta tres fuentes de alimentación habiendo preferencia por la sangre de humano (31,4%), roedor (24,3%) y ave (20%). Asimismo el índice de infección natural por *T. cruzi* fue de 13% relacionado principalmente con la fuente humana.

En el estado de Ceará, Brasil, Freitas *et al.* (2005) realizaron un estudio con *T. pseudomaculata* (184) capturados en el peridomicilio, al identificar la fuente de alimentación de estos insectos mediante la prueba de precipitación, encontraron preferencia por sangre de ave (62,5%), roedor (33,7%), perro (20,1%) y humano (1,6%), entre otros. El índice de infección por *T. cruzi* fue de 1,6%.

La infección humana está relacionada a la presencia del vector y su capacidad vectorial. Se estima que en el Perú alrededor de 650 000 – 680 000 personas podrían encontrarse infectadas con *T. cruzi*, y 5 a 6,8 millones de personas que estarían con riesgo de adquirirla (Cuba *et al.*, 2002). Estos datos epidemiológicos se refieren al sur del Perú donde *Triatoma infestans* es el vector principal (Herrer *et al.*, 1955). Las actividades de control incorporan a las provincias del sur y no a las del norte y nororiente debido a que se carece de información epidemiológica,

sin embargo se tiene conocimiento que *P. herreri* es el principal vector de la Enfermedad de Chagas en el norte y gran parte del nororiente del Perú habiéndose registrado por primera vez en la localidad de Omia, departamento de Amazonas infectado naturalmente con *Trypanosoma sp.* (Guillén *et al.*, 1992), viviendo preferentemente en zonas húmedas, en ambiente doméstico y peridoméstico (Cuba *et al.*, 2002).

El único trabajo sobre fuentes de alimentación en triatominos fue el realizado por Solís *et al.* (2003) en tres localidades del departamento de Ica. En este estudio se identificaron varias fuentes de alimentación en 401 especímenes de *Triatoma infestans*, encontrando preferencia por sangre de ave (43,4%) roedor (6,2%), humano (3,9%) y perro (1,6%); asimismo se encontró una hembra de *T. infestans* infectada por *T. cruzi*.

Al ser el único estudio realizado sobre fuentes de alimentación en la zona sur del país, se realizó el presente trabajo para la zona nororiental (distrito de Cajaruro, departamento de Amazonas) con la finalidad de obtener información epidemiológica, que nos ayudará a definir las estrategias de control contra estos triatominos. Este es el primer trabajo en el que los antisueros (anti-humano, anti-perro, anti-gato, anti-cobayo y anti-pollo) fueron preparados en el Laboratorio (Laboratorio de Leishmaniasis y Chagas del Instituto Nacional de Salud) para realizar la prueba de precipitación.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. ESTANDARIZACIÓN DE LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN

Para la estandarización de esta prueba se siguió la metodología descrita por Siqueira (1960).

3.1.1. Preparación del Antisuero (anti-pollo) no absorbido (control positivo A)

a) **Antígenos.-** Se utilizó suero de pollo con la finalidad de comprobar la reacción (control positivo A). Se diluyó 5 mL de suero de pollo con 16 mL de agua destilada en un balón, adicionándole 18 mL de una solución al 10% de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato de Aluminio y Potasio Dodecahidratado) en agua destilada; se ajustó el pH a 6,5 con solución de NaOH 5N. Se centrifugó la mezcla (2 500 rpm x 30 min) y se lavó el precipitado dos veces con solución fisiológica mertiolatada (1:10 000). El precipitado final se resuspendió en 20 mL de solución mertiolatada.

b) **Método de Inmunización.-** El antisuero anti-pollo fue preparado en conejos (New Zelanda) con más de 2kg de peso y de aproximadamente dos meses de edad (Figura 1). Se inmunizó con tres inoculaciones, las dos primeras con espacio de una semana y la última después de tres semanas, siendo cada dosis de 1 mL de antígeno más 1 mL de adyuvante completo de freund. La obtención del antisuero se realizó después de 10 días de la última dosis de inoculación.

3.1.2. Prueba de Precipitación

Para la prueba de precipitación se utilizaron tubos de 2,1 mm de diámetro x 40 mm de alto (Figura 2). El antisuero precipitante se tomó por capilaridad, hasta alcanzar una altura de 6 mm de alto; luego fueron colocados sobre un soporte de madera, el que se fijó con plastilina en el extremo basal adicionándole un volumen de suero similar al volumen de

antisuero. Los tubos fueron incubados a temperatura ambiente por diferentes tiempos 1, 2 y 3 horas, así como a 37°C por 1, 2 y 3 horas, siendo positiva la prueba cuando se observó la formación de un anillo blanco en el medio del tubo (Figura 3).

3.1.3. Preparación de Antisueros (anti-humano, anti-perro, anti-gato, anti-cobayo y anti-pollo) absorbidos

a) **Antígenos.-** Se utilizó suero de humano, perro, gato, cobayo y pollo como antígeno. Se obtuvo el suero de estos mamíferos el cual fue procesado siguiendo el método ya descrito para la estandarización de la técnica (3.1.1a).

b) **Método de Inmunización.-** Las inmunizaciones fueron realizadas de la misma manera que para la estandarización de la técnica (3.1.1b), utilizándose dos conejos por cada suero.

c) **Titulación de los Antisueros no absorbidos.-** La titulación de los antisueros no absorbidos se realizó con la prueba de precipitación. Se hicieron diluciones de cada uno de los sueros correspondientes a cada antisuero. El título fue definido por la mayor dilución del suero que provocó una formación de precipitado posterior a una hora de incubación con el respectivo antisuero.

d) **Determinación de la Especificidad.-** La especificidad del antisuero para cada suero, se determinó cuando el antisuero no reaccionó con los sueros no correspondientes, en las diluciones 1:10 y 1:100 (Weitz, 1956).

e) **Absorción de los Antisueros.-** Se obtuvo una mezcla en proporciones iguales de todos los sueros no correspondiente a cada antisuero. Luego se adicionó una parte de la mezcla a 100 partes del antisuero a ser absorbido. Seguidamente se incubó por dos horas a 37°C para luego dejarlo 12 horas a 4°C. Finalmente se procedió a la centrifugación (2 500 rpm x 10 min) y el

sobrenadante fue probado con cada suero no correspondiente usado en la absorción, para evaluar la especificidad.

f) **Titulación de los Antisueros absorbidos.**- Luego de realizada la absorción de cada uno de los antisueros, estos fueron titulados nuevamente, siguiendo el método ya descrito en 3.1.3c.

g) **Conservación de los Antisueros absorbidos.**- Los antisueros absorbidos fueron conservados en congelación a -20° C, hasta el momento de su uso.

3.1.4. Prueba de Precipitación para la identificación del contenido intestinal en *Triatoma infestans* alimentados en laboratorio (control positivos B)

Para esta prueba se siguió la metodología de Siqueira (1960). Para ello se emplearon ninfas de *Triatoma infestans* de III, IV y V estadio criadas en laboratorio, cuyo ciclo biológico es de menor duración que *Panstrongylus herreri*, asimismo la elección de este Triatominos como parte de la estandarización no es trascendental en el presente estudio ya que lo que se quería analizar es el tipo de sangre presente en el tubo digestivo del vector. Estos triatominos fueron criados en el Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud. Asimismo se trabajó con antisueros para identificar la sangre de humano, perro y cobayo como parte de la estandarización de la prueba.

a) **Alimentación.**- Los 120 triatominos fueron divididos en tres grupos de prueba (n=40), cada grupo fue alimentado durante 30 minutos con la sangre de perro, cobayo (Figura 4) y hombre (Figura 5).

b) **Preparación de las muestras.**- Se sacrificaron 10 triatominos por cada grupo de prueba a los 7, 14, 21 y 28 días después de su alimentación. Posteriormente cada triatominos fue decapitado para obtener el contenido intestinal, el que fue triturado sobre papel filtro (papel watman N° 4) y luego

protegido en bolsa plástica de primer uso. Los contenidos intestinales se conservaron en recipientes herméticos a -20°C (Gomes *et al.*, 2001). Las manchas del contenido intestinal impregnadas en papel filtro fueron recortadas un día anterior a la ejecución de la prueba y puestas al fondo de tubos con 1,5 mL de solución salina al 0,85% (Figura 6). Estos tubos fueron centrifugados por 5 minutos a 2000 rpm. El sobrenadante se retiró cuidadosamente y se vertió en los tubos que contenían el respectivo antisuero para llevar a cabo la reacción (Siqueira, 1960).

3.2. APLICACIÓN DE LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN EN *Panstrongylus herreri* PROCEDENTES DEL DISTRITO DE CAJARURO

3.2.1. Captura e Identificación de los triatominos

La búsqueda se realizó durante el día en el peridomicilio (fincas, cuyeros, gallineros) (Figura 7) e intradomicilio: a) Dormitorios (sobre la cama, debajo de los colchones, grietas de las paredes, entre la ropa de cama, debajo de las mesas y detrás de los muebles); b) Cocina-cuyero (lugares donde duermen los cuyes, entre los alimentos, hendiduras, grietas de las paredes); c) Sala (debajo de las mesas bancas, detrás de los afiches o almanaques y grietas de las paredes. Se capturó a los triatominos utilizando una linterna de mano, pinzas y alambres removedores; estos fueron colocados en vasos de plástico con tapa cubierta con horganza para permitir el intercambio gaseoso. En el interior de los vasos se colocó papel bulki doblado en forma de pliegues para protegerlos de la luz, favoreciendo su supervivencia. Se siguió la metodología utilizada por Sulca (2003).

Los ejemplares capturados fueron trasladados al Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud, donde se identificaron de acuerdo al trabajo de Elliot *et al.* 1989. Para la identificación de estadios evolutivos se consideró el trabajo de Guillen *et al.*, 1991.

3.2.2. Preparación de las muestras a partir de los triatominos capturados

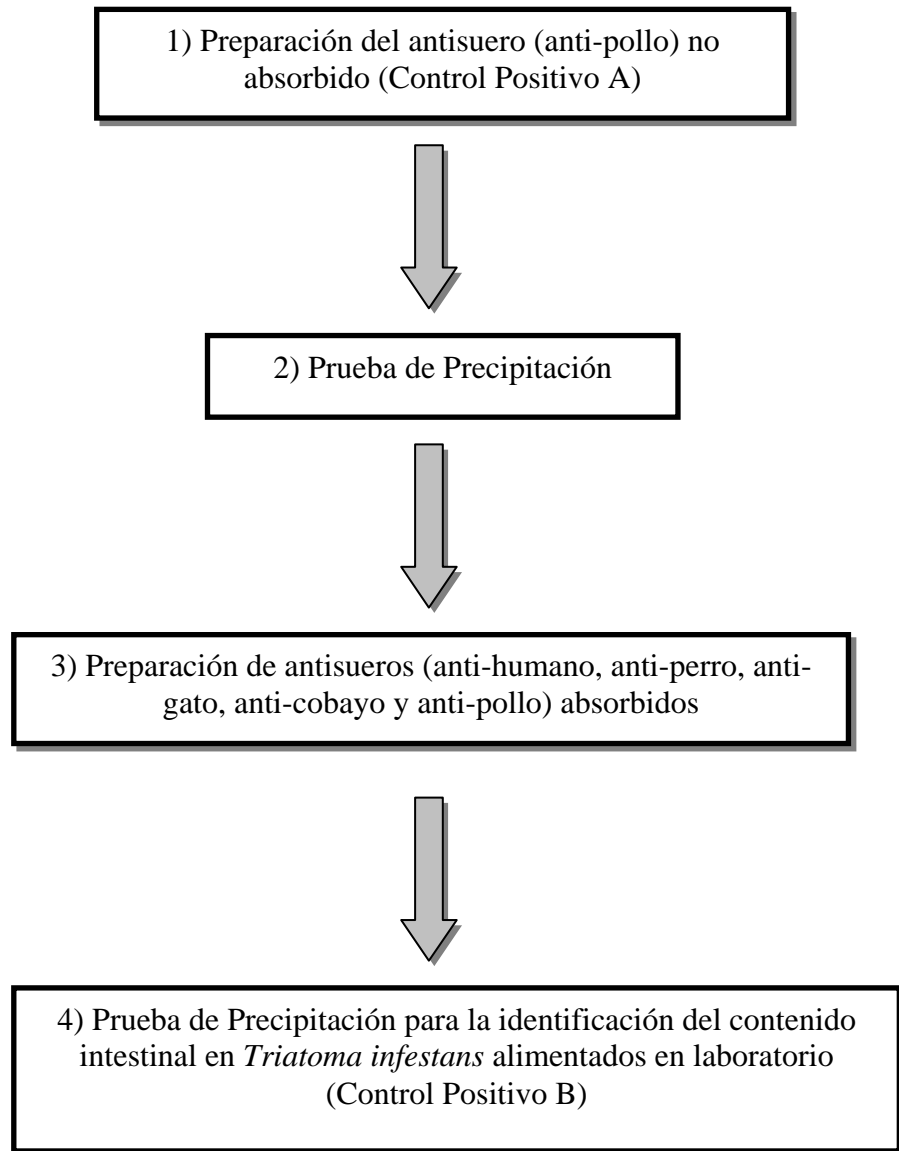
Siguiendo el procedimiento anterior (control positivo B) los *P. herreri* fueron sacrificados para obtener su contenido intestinal, que fueron impregnados en papel de filtro y guardados a -20°C hasta la ejecución de la prueba. El reconocimiento de la infección natural por *Trypanosoma* se realizó mediante la observación microscópica de las heces, y hemolinfa de los insectos.

3.2.3. Aplicación de la Prueba de Precipitación

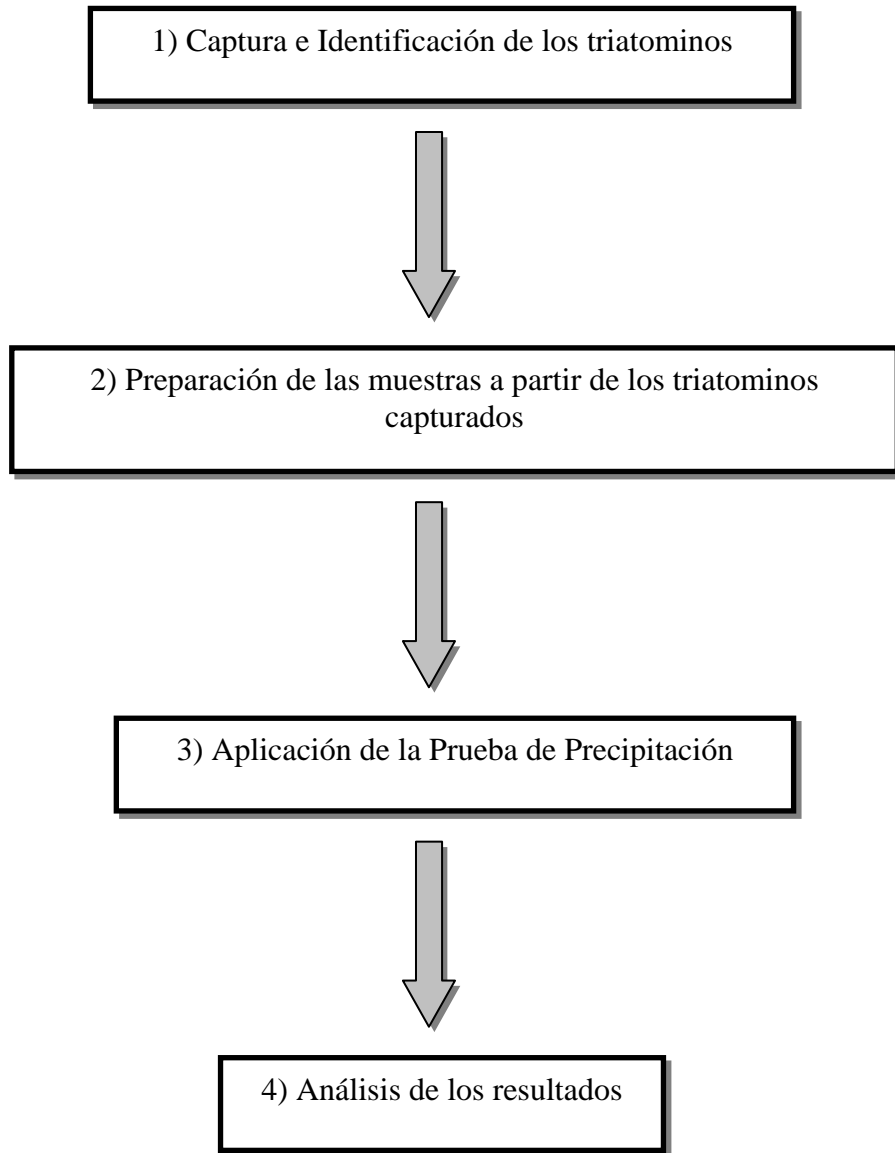
Los antisueros que se usaron para la identificación de la fuente alimenticia, fueron antisueros contra sangre de humano, perro, gato, cobayo y pollo, los que a su vez fueron enfrentados con el contenido intestinal del triatomino en la búsqueda del antígeno correspondiente.

3.2.4. Análisis de los resultados

Se estableció número y frecuencia de las fuentes de alimentación. Asimismo se obtuvo los índices de infección por *Trypanosoma sp.* que fueron relacionados con la fuente alimenticia.



Flujograma 1. Estandarización de la Prueba de Precipitación.



Flujograma 2. Aplicación de la Prueba de Precipitación en *Panstrongylus herreri* procedentes del Distrito de Cajaruro.

IV. RESULTADOS

4.1. ESTANDARIZACIÓN DE LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN

4.1.1. Prueba de Precipitación

El tiempo de incubación seleccionado fue de una hora a 37°C obteniéndose un precipitado en forma de anillo blanquecino en la interfase de ambos reactantes, lo que indicó la formación de los complejos antígeno-anticuerpo.

4.1.2. Titulación de los antisueros (anti-humano, anti-perro, anti-gato, anti-cobayo y anti-pollo) no absorbidos y absorbidos

Los antisueros no absorbidos presentaron los siguientes títulos: anti-humano 1:30 000; anti-perro 1:30 000; anti-gato 1:15 000; anti-cobayo 1:15 000 y anti-pollo 1:15 000 (Tabla 1).

Los antisueros no absorbidos anti-perro y anti-cobayo presentaron títulos de reacción cruzada hasta 1:10 000 mientras que los antisueros anti-humano y anti-gato presentaron títulos de reacción cruzada hasta 1:1 000 y 1:100 respectivamente, en cambio el antisuero anti-pollo no presentó reacción cruzada con ninguno de los sueros no correspondientes (Tabla 2). Luego de las absorciones con los sueros no correspondientes, no se presentó reacción cruzada con ninguno de los antisueros absorbidos, mejorándose su especificidad (Tabla 3).

Al final los antisueros absorbidos presentaron los siguientes títulos: anti-humano 1:25 000; anti-perro 1:15 000; anti-gato 1:10 000; anti-cobayo 1:10 000 y anti-pollo 1:15 000 (Tabla 4).

4.1.3. Prueba de Precipitación para la identificación del contenido intestinal en *Triatoma infestans* alimentados en laboratorio (control positivo B)

Para el grupo alimentado con sangre humana y revisado en intervalos de tiempo a los 7 y 14 días se obtuvieron 10 reacciones positivas al antisuero humano, mientras que a los 21 días se obtuvo 8/10 y a los 28 días 9/10 reacciones positivas (Tabla 5), en términos de sensibilidad estos resultados representan 100%, 100%, 80% y 90% respectivamente (Tabla 6, Figura 8). En cuanto a la especificidad se obtuvo un 100%, en todos los intervalos de tiempo evaluados (Tabla 7, Figura 9).

En el grupo alimentado con sangre de perro se obtuvo a los 7, 14 y 21 días 10 reacciones positivas al antisuero contra perro; solo a los 28 días se obtuvo 9/10 (Tabla 8), que en términos de sensibilidad estos resultados representan 100%, 100%, 100% y 90% respectivamente (Tabla 6, Figura 8). Asimismo, la especificidad fue de un 100% en todos los intervalos de tiempo evaluados (Tabla 7, Figura 9).

Para el grupo alimentado con sangre de cobayo y revisado en intervalos de tiempo, a los 7 días se obtuvo 10 reacciones positivas al antisuero contra cobayo, mientras que a los 14, 21 y 28 días se obtuvo 9/10, 10/10 y 7/10 (Tabla 9), que en términos de sensibilidad estos resultados representan 100%, 90%, 100% y 70% respectivamente (Tabla 6, Figura 8). En cuanto a la especificidad se obtuvo un 100%, en todos los intervalos de tiempo evaluados (Tabla 7, Figura 9).

4.2. APLICACIÓN DE LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN EN *Panstrongylus herreri* PROCEDENTES DE LA LOCALIDAD DE CAJARURO, PROVINCIA DE UTCUBAMBA.

Como se observa en la Tabla 10, de un total de 102 ejemplares de *P. herreri* (ninfas de II, III, IV y V estadio y adultos) solo se pudo examinar por la prueba de precipitación 93 (91%), los 9 (9%) restantes no presentaron contenido intestinal. De los examinados por esta prueba fueron positivos 77 (83%). Las identificaciones obtenidas permitieron reconocer que 60 (78%) ejemplares tuvieron alimentación única y 17 (22%) múltiple. No reaccionaron a la prueba los contenidos intestinales de 16 (17%) ejemplares.

Los 93 ejemplares de *P. herreri* analizados por la prueba de precipitación fueron reactivos a un total de 96 alimentaciones. La fuente de alimentación predominante fue la de cobayo con 44 (45,8%) alimentaciones, seguido de humano 21 (21,8%), pollo 18 (18,8%), perro 9 (9,4%) y de gato 4 (4,2%) (Tabla 11, Figura 10).

En los 60 ejemplares de *P. herreri* con ingesta confirmada sobre fuente única, fue posible identificar resultados positivos con mayor predominio para el cobayo 28 (46,7%), el humano 14 (23,3%) y el pollo 11 (18,3%) (Tabla 12).

La Tabla 13, muestra que de los 17 ejemplares de *P. herreri* identificados con alimentación múltiple presentaron mayor frecuencia para dos fuentes 15 (88%) repartiéndose entre los estadios III, IV, V y adultos. Solo en 2 (12%) ejemplares de *P. herreri* (ninfa V y hembra) se llegó a identificar hasta tres fuentes de alimentación.

Con respecto a las 77 (100%) fuentes de alimentación identificadas, se obtuvo mayor predominio de una sola fuente de alimentación que correspondió a la de cobayo 28 (36,3%), humano 14 (18,2%) y pollo 11 (14,3%), mientras con alimentación múltiple se encontró mayor predominio por cobayo/pollo 5 (6,5%) seguido por humano/cobayo 4 (5,2%). Un ejemplar en cada caso 1 (1,3%),

presentó alimentación con tres fuentes que correspondió a humano/cobayo/pollo y humano/perro/cobayo (Tabla 14).

De los 93 (100%) ejemplares de *P. herreri* analizados mediante la prueba de precipitación, se encontró una tasa de infección por *Trypanosoma sp.* de 58 (62,4%) (Tabla 15). De estos ejemplares positivos para *Trypanosoma sp.* se encontró mayor preferencia alimentaria por cobayo 22 (23,6%), seguido de pollo 6 (6,4%), cobayo/pollo 5 (5,4%) y de humano 4 (4,3%). Asimismo es importante señalar que uno (1,1%) de los especímenes positivos tuvo preferencia alimentaria hasta por tres fuentes humano/perro/cobayo y 9 (9,7%) por otras fuentes no identificadas.

V. DISCUSIÓN

En la ejecución de la prueba de precipitación un aspecto importante es el volumen de antisuero empleado, que permita visualizar el característico anillo blanquecino de la reacción de precipitación, para lo cual no es necesario utilizar tubos de mayor diámetro, por ello se utilizaron tubos de vidrio de 2,1 mm de diámetro por 40 mm de alto, los cuales fueron apropiados para la prueba, asimismo el volumen de antisuero que ingresó por capilaridad fue de 40 mm^3 lo que equivale a una altura de 6 mm en el tubo al igual que Siqueira (1960) quien utilizó tubos de vidrio de pequeño calibre (2 mm por 40 mm de alto) para un volumen de antisuero de 25 mm^3 que equivale a una altura de 8 mm en el tubo. En ambos casos se resalta que el uso de estos tipos de tubos de pequeño diámetro, permite gastar poco volumen de antisuero y realizar más pruebas.

La formación del anillo blanquecino entre las dos fases (en el medio del tubo) fue visible a partir a los 5 minutos de mezclar los reactivos, sin embargo, este tiempo no es considerado para dar un resultado (positivo o negativo), porque hubo algunos tubos controles que no presentaron el anillo blanquecino a esa hora pero si luego de ser incubados. Como se evaluó a diferentes tiempos y temperaturas (ambiente y 37°C) se eligió el de 37°C por una hora, ya que se observó un buen precipitado blanquecino en la interfase de los tubos controles positivos en menos tiempo que los otros. Siqueira (1960) eligió la incubación a temperatura ambiente por 120 minutos, pero también encontró reacciones positivas a los pocos minutos de mezclar los reactivos; asimismo al realizar lecturas después de 2 horas encontró precipitados blanquecinos en el fondo del tubo lo cual concuerda con nuestras observaciones luego de dejar los tubos por varias horas.

Según Lorosa (2003) es importante tener en cuenta el título adecuado del antisuero precipitante para la realización de la prueba. En este trabajo elegimos el título de 1:10 000 y más, debido a que un alto título del antisuero aseguró una alta sensibilidad de la prueba; sin embargo es importante también la especificidad del antisuero para no tener reacciones cruzadas (falsos positivos). La especificidad

estuvo dada cuando los antisueros no reaccionaron con todos los sueros no correspondientes, empleados en la proporción 1:10 y 1:100 Casanova (2004, comunicación personal). Una vez realizada la absorción de cada antisuero, estos se titularon nuevamente, obteniendo títulos óptimos por encima de 1:10 000.

Un aspecto importante de esta prueba es la cantidad de muestra impregnada (manchas oscuras en los papeles), ya que de esto también dependerá la sensibilidad. Casanova (2004, comunicación personal) utiliza papeles watman N° 4 en el que impregna el contenido intestinal y luego los recorta teniendo en cuenta un diámetro de 1 cm^2 para asegurar la presencia de los antígenos que se quiere identificar. En el presente trabajo no se pudo identificar la fuente de alimentación en 9 ejemplares de *P. herreri* ya que las manchas en los papeles watman no fueron oscuras y estas no alcanzaron 1 cm^2 de diámetro para ser recortadas, lo que estaría indicando que estos triatominos estuvieron sometidos a ayunos prolongados, que también concuerda con las observaciones que mencionó Siqueira (1960).

La sensibilidad y especificidad de la prueba fue evaluada en triatominos alimentados con sangre de humano, perro y cobayo a los 7, 14, 21 y 28 días obteniéndose una especificidad del 100% en todos los intervalos de tiempo evaluados, mientras que la sensibilidad no es constante en los intervalos de tiempo evaluados, lo cual concuerda con Gomes *et al.* (2001) quienes señalaron la variación de la sensibilidad según el tiempo en que se realiza la prueba.

Siqueira (1960) mencionó restricciones en el uso de la prueba de precipitación para la identificación de sangre ingerida por vectores, relacionadas con la calidad de los antisueros precipitantes, cantidad de antígeno a ser examinado y el grado de digestión de la sangre, que varía considerablemente según el tiempo de ingesta y el de captura. Esto estaría relacionado con la variación en cuanto a la sensibilidad de la prueba que fue evaluada en triatominos alimentados y conservados en laboratorio a los 7, 14, 21 y 28 días, principalmente en la identificación de sangre de cobayo.

Del total de insectos examinados (93 ejemplares) el 17% resulto negativo (no se identificó la fuente de alimentación) con la prueba de precipitación, lo cual ilustra las probables condiciones de ayuno en que pudieron estar sometidos estos triatominos y que fue avalado por la observación del abdomen comprimido y contenido intestinal escaso e incoloro. Solís (2003) encontró que de 401 muestras analizadas por la prueba de precipitación el 30,9% no reaccionó a ninguno de los antisueros empleados. Rocha (1999) al realizar un estudio con 1 937 ejemplares de *Triatoma sordida* in el Serra do Ramalho, Bahía, Brasil, también encontró un alto porcentaje (29.2%) de muestras que no reaccionaron a ningún antisuero empleado.

De los 93 ejemplares de *P. herreri*, 77 se alimentaron sobre una sola fuente, predominando la alimentación sobre cobayo (46,7%), seguida de humano (23,3%) y pollo (18.3%). Este resultado era de esperarse ya que en casi todas las viviendas escogidas para la captura de triatominos, hubo presencia de cobayos tanto en la cocina como en el dormitorio, lo que también explicaría el poco numero de *P. herreri* alimentados con sangre de perro y gato, ya que ellos pueden desplazarse libremente, mientras que los cobayos y pollos están ubicados en ambiente cerrados. Solís (2003) encontró como principal fuente de alimentación única de *T. infestans* sangre de ave seguida de roedor y humano. Estudios realizados en Brasil y Uruguay en diversos tipos de triatominos, encuentran una gran variedad de fuentes de alimentación como sangre de roedor, ave, perro, gato (animales domésticos) y humano; caballos, cabras, cerdos, etc., animales silvestres como algunos marsupiales, roedores, inclusive reptiles como lagartijas (Carneiro *et al.*, 2005) y hasta la hemolinfa de algunos blátidos como cucarachas (Salvatella *et al.*, 1994). Es decir la elección de los antisueros a emplear dependerá de los animales presentes en el lugar de captura de los triatominos.

Salvatella (1994) identificó en una ninfa de V estadio hasta 8 tipos de fuente de alimentación empleando la prueba de doble difusión en agar. En el presente trabajo se identificó hasta tres tipos de fuente de alimentación (Humano/Cobayo/Pollo y Humano/Perro/Cobayo). El hecho de obtener 17 triatominos con alimentación múltiple estaría indicando la movilidad que tienen

estos insectos y el aprovechamiento de varias fuentes de alimentación disponibles en las viviendas, ya que muchas de estas tienen más de cuatro tipos de animales domésticos diferentes.

En cuanto a las preferencias alimentarias Calderón (2001) al estudiar 267 especímenes de *Triatoma dimidiata* procedentes de la meseta central de Costa Rica encontró que el índice de infección natural por *T. cruzi* fue de 44% relacionado principalmente con la fuente humana. Lorosa (2003), encontró un índice de infección de 13% y que también estuvo relacionado principalmente con la fuente humana. En el presente estudio en 93 especímenes de *P. herreri* se obtuvo un índice de infección natural por *Trypanosoma sp.* de 62,4% muy superior a los trabajos anteriores.

Cuando se analizó la positividad por *Trypanosoma sp.* en función al tipo de sangre presente, se vio que los porcentajes de infección más altos estuvieron en los triatomíneos que contenían sangre de cobayo seguidos de los que contenían la de humano y pollo, lo cual sugiere que los cobayos estarían actuando como posibles reservorios de *Trypanosoma sp.* Hidalgo (1957) mencionó a los humanos y cobayos como la principal fuente de alimentación de *T. dimidiata* y *Panstrongylus chinai* de Tumbes, pero a diferencia del presente trabajo, no encontró infección por *Trypanosomas*.

Ayulo y Herrer, en 1944, verificaron que los triatomíneos procedentes de los cuyeros presentaban mayor infección a *T. cruzi* que aquellos que son capturados en habitaciones humanas o sitios donde se encuentran otros animales domésticos. Si bien es cierto este estudio fue desarrollado en el departamento de Arequipa, nuestros resultados concuerdan con lo antes mencionado para el departamento de Amazonas (distrito de Cajaruro), ya que en casi todas las casas examinadas se encontró presencia de cobayos tanto en cocinas, dormitorios u otro ambiente, muy raras veces habían cuyeros a los alrededores.

VI. CONCLUSIONES

1. La medida de los tubos de vidrio (2,1 mm x 40 mm) empleados para ejecutar el ensayo y el tiempo de incubación de 1 hora a 37°C fueron apropiados para realizar la prueba.
2. La prueba de precipitación presentó mejor especificidad (100%), más no sensibilidad ya que fue variable (70 a 100%).
3. Los títulos de los antisueros absorbidos obtenidos (anti-humano, anti-perro, anti-gato, anti-cobayo y anti-pollo) con el esquema de inmunización empleado resultaron óptimos para realizar esta prueba, resaltándose la importancia de realizar las absorciones de los anticuerpos responsables de las reacciones cruzadas, para mejorar la especificidad de los antisueros.
4. La principal fuente de alimentación de los *Panstrongylus herreri* capturados en la zona de estudio, fue la sangre de cobayo, seguida de humano y pollo.
5. Se detectó en las ninfas de IV y V estadio y en los adultos la presencia de hemoproteínas humanas, no así en los estadios evolutivos más tempranos.
6. El alto índice de infección por *Trypanosoma sp.* (62,4%) en los *Panstrongylus herreri*, estuvo relacionado a la fuente de alimentación por cobayo.
7. El alto índice de infección relacionado con la fuente de alimentación humana indica una alta antropofilia y gran capacidad vectorial de *Panstrongylus herreri* convirtiéndose en peligro latente de transmisión del *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la Enfermedad de Chagas.

VII. RECOMENDACIONES

1. Complementar los trabajos entomológicos con este tipo de estudio realizado sobre la Enfermedad de Chagas en las zonas que presenten un alto índice de infestación.
2. Tener en cuenta que los antisueros a utilizar estén en relación con la variedad de animales presentes en la zona de estudio, así como el lugar de captura de los triatomíneos.
3. Incorporar al estudio de fuentes de alimentación para triatomíneos de estas zonas, a los animales silvestres que se puedan encontrar en los alrededores de las viviendas o en ambientes extradomiciliarios.
4. En las localidades estudiadas se deben realizar campañas de difusión informando a la población del riesgo que representa la convivencia con animales domésticos como los cobayos, pollos, etc., con relación a la Enfermedad de Chagas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, J.; ROCHA E SILVA E y SOUZA, J. 1975. Comparacao entre duas técnicas serologicas aplicadas ao estudo do sangue ingerido por triatominos. Rev Saúde Publ Sao Paulo, 9: 534-545.

AYULO, V y HERRER, A. 1944. Estudios sobre Trypanosomiasis en el Perú. Observaciones en el departamento de Arequipa. Rev Med Exp Lima, 3: 96 – 117.

BURKOT, T.; GOODMAN W y FOLIART, G. 1981. Identification of mosquito blood meals by enzyme-linked immunosorbent assay. Am J Trop Med Hyg., 30: 1336 - 1441.

CALDERÓN-ARGUEDAS, O.; CHINCHILLA, M.; GARCÍA, F y VARGAS, M. 2001 Preferencias alimentarias de *Triatoma dimidiata* (Hemíptera: Reduviidae) procedentes de la meseta central de Costa Rica a finales del siglo XX. Parasitol día, 25: 3-4.

CORREA, R y AGUILAR, A. 1952. O teste de precipitina na identificao da fonte alimentar do *Triatoma infestans*. (Hemíptera Reduviidae). Arq Hyg Saúde pub., 17: 3-7.

CUBA CUBA, A.; ABAD-FRANCH, F.; ROLDÁN, J.; VARGAS, F.; POLLACK, L y MILES, M. 2002. The triatomines of northern Peru, with emphasis on the ecology and infection by trypanosomes of *Rhodnius ecuadoriensis* (Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz, 97: 175 -183.

CARNEIRO, S.; LOROSA, E.; SILVA, D.; CARNEIRO A y MONTES, T. 2005. Fontes alimentares de *Triatoma pseudomaculata* no Estado do Ceará, Brasil. Rev Saude Pública, 39: 27-32.

CHRISTENSEN, H.; SOUZA, O y VÁSQUEZ, A. 1988. Host feeding profiles of *Triatoma dimidiata* in peridomestic habitats of western Panama. Am J trop. Med Hyg., 38: 477-479.

ELIASON, D. 1971. Identification of mosquito blood meals; a comparasion of selected procedures Chapel Hill, (Phd theses-Univ. Norte de Carolina).

ELLIOT, A.; CÁCERES, I.; GUILLÉN, Z y NAKASHIMA, I. 1989. Identificación de los chinches triatominos (Hemíptera, Reduviidae) conocidos el Perú. Rev Per Entomol., 31: 18-20

FUENTES, A.; MARZOCHI, M.; SABROZA, C.; SILVA, V y BATISTA, M. 1988. Perfil de alimentacao do *Triatoma brasiliensis* capturados em abrigo de cabras no municipio de Saco Sebastiao do Umbuzeiro Paraíba. Mem Inst Oswaldo Cruz, 83 (Suppl I): 197.

FORATTINI, O.; BARATA, J.; SANTOS, J y SILVEIRA, A. 1981. Hábitos alimentares, infecção natural e distribucao de triatomineos domiciliados na região nordeste do Brasil. Rev Saúde públ., 15: 113-164.

FORATTINI, O.; BARATA, J.; SANTOS, J y SILVEIRA, A. 1982. Hábitos alimentares, infecção natural e distribucao de triatomineos domiciliados na região central do Brasil. Rev Saúde públ., 16: 171-204.

FREITAS, S.; LOROSA, E.; SILVA, D.; CARNEIRO, A y MONTE, T. 2005. Fontes alimentares de *Triatoma pseudomaculata* no estado de ceará, Brasil. Ver Saúde Pública, 39: 27-32.

GARCÍA-ZAPATA, M.; SOARES, V y MARSDEN, P. 1992. Aspectos evolutivos da fonte alimentar dos triatominos capturados en area sob controle da doenca de chagas, Manabí-Go. Mem Inst Oswaldo Cruz, 87 (suppl. II): 220.

GUILLÉN, Z.; CÁCERES, I.; ELLIOT, A y RAMÍREZ, J. 1989. Triatominos del norte peruano y su importancia como vectores de *Trypanosoma spp.* Rev Per Entomol., 1 31: 25-30.

GUILLÉN, Z.; CÁCERES, I.; ELLIOT, A y ARANA, N. 1991. Evolución de *Panstrongylus chinai* del Ponte, 1929 (Hemíptera, Reduviidae) en el laboratorio. Rev Per Med Trop UNMSM, 5: 85-93.

GUILLÉN, Z.; CÁCERES, I.; ELLIOT, A y RAMÍREZ, J. 1992. Distribución geográfica de los Triatominos en el oriente del Perú. Rev Per Med Trop UNMSM, 6: 93-97.

GOMES, A.; DUARTE, R.; LIMA, D.; SANSÓN, D.; SERRAO, M y LABARTHE, N. 2001. Comparison between precipitin and ELISA tests in the bloodmeal detection of *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Aedes fluviatilis* (Lutz) mosquitoes experimentally fed on feline, canine and human host. Mem Inst Oswaldo Cruz, 96: 693-695.

HERRER, A. 1955. Trypanosomiasis Americana en el Perú V. Triatominos del Valle interandino del Marañón. Rev Med Exp Lima, 9: 69-81.

HIDALGO, R. 1957. Trypanosomiasis Americana en el Perú. Observaciones entomológicas en el departamento de Tumbes. Rev Med Exp Lima, 11:71 – 85.

KNIERIM, F.; CASTRO, M.; VILLARROEL, F y SCHENONE, H. 1976. Estudio preliminar sobre la fuente de alimentación de *Triatoma infestans* y *Triatoma spinolai* mediante la reacción de doble difusión en gel. Bol Chile Parasitol., 31: 34-36.

LOROSA, E.; PINTO, M.; CUNHA, V.; LENT, H y JURBER, J. 2003. Foco de Doença de Chagas em Arcádia, Estado do Río de Janeiro, Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz, 98: 885-887.

LOROSA, E.; ANDRADE, R.; PUJOL, J.; JURBERG, J y CARCAVALLO, R. 2003. Determinação das fontes alimentares e da infecção natural do *Triatoma jurbergi* (Carcavallo, Galvao & Lent, 1998) *Triatoma vanda*e Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvao, Noireau & Lent, 2001 capturados no estado do Mato Grosso, Brasil. Rev Bras Zootecias, 5: 253-265.

MARCONDES, C.; DIAS, J.; GUEDES, L.; FERRAZ, A.; RODRIGUES, V y MENDONÇA, D. 1991. Estudo epidemiológico de fontes de alimentação dos triatomídeos de fazenda Aroeira (catolé de Rocha, Paraíba) e circunvizinhanças. Rev Soc Bras Med Trop., 24: 137-140.

RICCIARDI, I y MELLO, M. 1969. Identificação de hábitos alimentares de artrópodos hematofagos principalmente barbeiros, por meio de provas de imunodifusão em gel de agar (Ouchterlony). Rev Bras Malariol Doenças trop., 21: 597-602.

ROCHA, H.; BORGES, E.; ESTEVES DE ANDRADE, R.; LOROSA, E y DIOTAIUTI, L. 1999. Peridomicílio infestação com *Triatoma sordida* Stal, 1859 in the county of Serra do Ramalho, Bahia, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, 94: 147-149.

SALVATELLA, R.; CALEGARI, L.; PUIME, A.; BASMADJIAN, Y.; ROSA, R.; GUERRERO, J.; MARTÍNEZ, M.; MENDARO, G.; BRIAZO, D.; MONTERO, C y WISNIVESKY, C. 1994. Perfil alimentar de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1834) (Hemiptera, Triatominae) em ambientes peridomiciliários, de una localidade rural de Uruguay. Rev Inst Med trop Sao Paulo, 36: 311-320.

SOLÍS, H.; CARVALHO, E.; FERRERIA, C.; CASANOVA, C.; HUAMÁN, A y MENDOZA, V. 2003. Contribución al estudio de la epidemiología de la Enfermedad de Chagas en tres localidades de la zona sur del Perú. Anales de la Facultad de Medicina UNMSM, 64: 223-227.

SCHENONE, H.; CONTRERAS, M.; BORGOÑO, J.; ROJAS, A.; VILLARROEL, F y VLADES, J. 1985. Enfermedad de Chagas en Chile. Sectores rurales y periurbanos del área de endemozootia. Relaciones entre condiciones de la vivienda, infestación triatomídea domiciliaria e infección por *Trypanosoma cruzi* del vector, del humano y de mamíferos domésticos. Bol Chile Parasitol., 40: 58-67.

SIQUEIRA, A. 1960. Estudos sobre a reacao de precipitina aplicada a identificao do sangue ingerido por triatomíneos. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 2: 41-53.

SULCA, L. 2004. *Trypanosoma cruzi* en Triatomíneos del Distrito de Cajaruro, Utcubamba – Amazonas, Peru 2001. Tesis para optar el Título de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. UNMSM, 95 pp.

WASHINO, R y TEMPELIS, C. 1983. Mosquito host bloodmeal identification: methodology and data analysis. Ann Rev Entomology., 28: 179-201.

WEITZ, B. 1956. Identification of blood meals of blood – sucking arthropods. Bull WHO, 15: 473-490.

ZÁRATE, L.; ZÁRATE, R.; TEMPELIS, C y GOLDSMITH, R. 1980. The biology and behaviour of *Triatoma barberi* (Hemiptera: Reduviidae) in Mexico I. Blood meal sources and infection with *Trypanosoma cruzi*. Journal medical Entomolgy., 17:103.

IX. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. TÍTULO DE LOS ANTISUEROS NO ABSORBIDOS

ANTISUEROS	TITULO
Anti- humano	1: 30 000
Anti- perro	1: 30 000
Anti- gato	1:15 000
Anti- cobayo	1:15 000
Anti- pollo	1: 15 000

TABLA 2. TÍTULO DE LOS ANTISUEROS NO ABSORBIDOS, QUE PRESENTAN REACCIONES CRUZADAS CON LOS SUEROS NO CORRESPONDIENTES

Anti- humano vs.	DILUCIÓN DE LOS SUEROS NO CORRESPONDIENTES									
	1:1	1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:500	1:1 000	1:5 000	1:10 000
Perro	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Gato	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Cobayo	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Pollo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-perro vs.										
Humano	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gato	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cobayo	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Pollo	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

(continuación)

Anti-gato vs.	1:1	1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:500	1:1 000	1:5 000	1:10 000
Humano	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Perro	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Cobayo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pollo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-cobayo vs.										
Humano	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Perro	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gato	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Pollo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti- pollo vs.										
Humano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Perro	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cobayo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+: Reacción cruzada

- : No hay reacción cruzada

TABLA 3. ANTISUEROS ABSORBIDOS OBTENIDOS LUEGO DE REALIZAR LA ABSORCIÓN CON SUEROS NO CORRESPONDIENTES

	DILUCIÓN DE LOS SUEROS NO CORRESPONDIENTES									
Anti-humano vs.	1:1	1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:500	1:1 000	1:5 000	1:10 000
Perro	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cobayo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pollo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-perro vs.										
Humano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cobayo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pollo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(continuación)

Anti-gato vs.	1:1	1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:500	1:1 000	1:5 000	1:10 000
Humano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Perro	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cobayo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pollo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-cobayo vs.										
Humano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Perro	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pollo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti- pollo vs.										
Humano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Perro	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cobayo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : No hay reacción cruzada

TABLA 4. TÍTULO DE LOS ANTISUEROS ABSORBIDOS

ANTISUEROS	TITULO
Anti- humano	1: 25 000
Anti- perro	1: 15 000
Anti- gato	1:10 000
Anti- cobayo	1:10 000
Anti- pollo	1: 15 000

TABLA 5. EVALUACIÓN DE LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN CON ANTISUERO HUMANO, EN NINFAS III, IV Y V DE *T. infestans*, SEGÚN INTERVALOS DE TIEMPO

		Tiempo de ejecución de la prueba después de la alimentación							
		7 d		14 d		21 d		28 d	
Prueba de Precipitación con Antisuero para humano	Resultado	Sangre humana	Otro	Sangre humana	Otro	Sangre humana	Otro	Sangre humana	Otro
	Positivo	10	0	10	0	8	0	9	0
	Negativo	0	20	0	20	2	20	1	20

Otro: sangre de perro o cobayo

TABLA 6. SENSIBILIDAD DE LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN, EN NINFAS III, IV Y V DE *T. infestans* ALIMENTADAS EN EL LABORATORIO CON SANGRE DE HUMANO, PERRO Y COBAYO

SENSIBILIDAD DE LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN (%)				
Antisuero	Tiempo después de la alimentación (días)			
	7 d	14 d	21 d	28 d
Humano	100%	100%	80%	90%
Perro	100%	100%	100%	90%
Cobayo	100%	90%	100%	70%

TABLA 7. ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN, EN NINFAS III, IV Y V DE *T. infestans* ALIMENTADAS EN EL LABORATORIO CON SANGRE DE HUMANO, PERRO Y COBAYO

ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN (%)				
Antisuero	Tiempo después de la alimentación (días)			
	7 d	14 d	21 d	28 d
Humano	100%	100%	100%	100%
Perro	100%	100%	100%	100%
Cobayo	100%	100%	100%	100%

TABLA 8. EVALUACIÓN DE LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN CON ANTISUERO PARA PERRO, EN NINFAS III, IV Y V DE *T. infestans*, SEGÚN INTERVALOS DE TIEMPO

		Tiempo de ejecución de la prueba después de la alimentación							
Prueba de Precipitación con Antisuero para perro	Resultado	7 d		14 d		21 d		28 d	
		Sangre de perro	Otro	Sangre de perro	Otro	Sangre de perro	Otro	Sangre de perro	Otro
	Positivo	10	0	10	0	10	0	9	0
Negativo	0	20	0	20	0	20	1	20	

Otro: sangre de humano o cobayo

TABLA 9. EVALUACIÓN DE LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN CON ANTISUERO PARA COBAYO, EN NINFAS III, IV Y V DE *T. infestans*, SEGÚN INTERVALOS DE TIEMPO

		Tiempo de ejecución de la prueba después de la alimentación							
Prueba de Precipitación con Antisuero para cobayo	Resultado	7 d		14 d		21 d		28 d	
		Sangre de cobayo	Otro	Sangre de cobayo	Otro	Sangre de cobayo	Otro	Sangre de cobayo	Otro
	Positivo	10	0	9	0	10	0	7	0
Negativo	0	20	1	20	0	20	3	20	

Otro: sangre de humano o perro

TABLA 10. NÚMERO DE EJEMPLARES DE *P. herreri* POR ESTADIO EVOLUTIVO, EXAMINADOS POR LA PRUEBA DE PRECIPITACIÓN, SEGÚN EL NÚMERO DE FUENTES ALIMENTARIAS, 2004

	I	II	III	IV	V	M	H	TOTAL	
								n	%
Ejemplares capturados	-	4	14	13	3	36	32	102	100
Ejemplares examinados	-	4	11	10	2	35	31	93	91
Ejemplares con fuente identificada	-	4	9	10	2	30	22	77	83
Ejemplares con una sola fuente identificada	-	4	7	6	-	25	18	60	78
Ejemplares con varias fuentes identificadas	-	-	2	4	2	5	4	17	22
Ejemplares con fuente no identificada	-	9	5	2	-	-	-	16	17

N: Ninfa (I, II, III, IV, V)

M: Macho

H: Hembra

TABLA 11. NÚMERO DE ALIMENTACIONES SEGÚN LA FUENTE ALIMENTARIA DE *P. herreri* CAPTURADAS EN CAJARURO, UTCUBAMBA; AMAZONAS, 2004

Fuentes alimentarias	Nº de alimentaciones	%
Humano	21	21,8
Perro	9	9,4
Gato	4	4,2
Cobayo	44	45,8
Pollo	18	18,8
TOTAL	96	100

TABLA 12. EJEMPLARES DE *P. herreri* CON ALIMENTACIÓN ÚNICA, 2004

Fuentes alimentarias	Nº de ejemplares	%
Humano	14	23,3
Perro	6	10
Gato	1	1,7
Cobayo	28	46,7
Pollo	11	18,3
TOTAL	60	100

TABLA 13. EJEMPLARES DE *P. herreri* CON ALIMENTACIONES MÚLTIPLES, POR ESTADIO EVOLUTIVO Y SEGÚN EL NÚMERO DE FUENTES ALIMENTARIAS IDENTIFICADAS, 2004

	I	II	III	IV	V	M	H	TOTAL	
								n	%
2 fuentes	-	-	2	3	2	5	3	15	88
3 fuentes	-	-	-	1	-	-	1	2	12
TOTAL (%)	-	-	2(12)	4 (24)	2 (12)	5 (28)	4 (24)	17	100

N: Ninfa (I, II, III, IV, V)

M: Macho

H: Hembra

TABLA 14. ÍNDICE DE FUENTES ALIMENTARIAS DE *P. herreri*
 CAPTURADOS EN EL INTRADOMICILIO EN CAJARURO,
 UTCUBAMBA, AMAZONAS, 2004

Fuentes alimentarias	Nº de ejemplares	(%)
Humano	14	18,2
Perro	6	7,8
Gato	1	1,3
Cobayo	28	36,3
Pollo	11	14,3
Humano/Cobayo	4	5,2
Humano/Pollo	1	1,3
Perro/Cobayo	2	2,6
Gato/Cobayo	3	3,9
Cobayo/Pollo	5	6,5
Humano/Cobayo/Pollo	1	1,3
Humano/Perro/Cobayo	1	1,3
TOTAL	77	100

TABLA 15. ÍNDICE DE INFECCIÓN POR *Trypanosoma sp.* EN *Panstrongylus herreri* SEGÚN LA FUENTE ALIMENTARIA, CAPTURADOS EN AMBIENTES DOMICILIARIOS EN CAJARURO, UTCUBAMBA, AMAZONAS, 2004

Fuentes alimentarias	Nº de ejemplares	% Positivos para <i>Trypanosoma sp.</i>
Humano	4	4,3
Perro	3	3,2
Gato	1	1,1
Cobayo	22	23,6
Pollo	6	6,4
Humano/Cobayo	2	2,2
Perro/Cobayo	2	2,2
Cobayo/Pollo	5	5,4
Gato/Cobayo	3	3,2
Humano/Perro/Cobayo	1	1,1
Otros	9	9,7
TOTAL	58/93	62,4



Figura 1. Inoculación del Antígeno (suero de pollo) en conejos New Zelanda

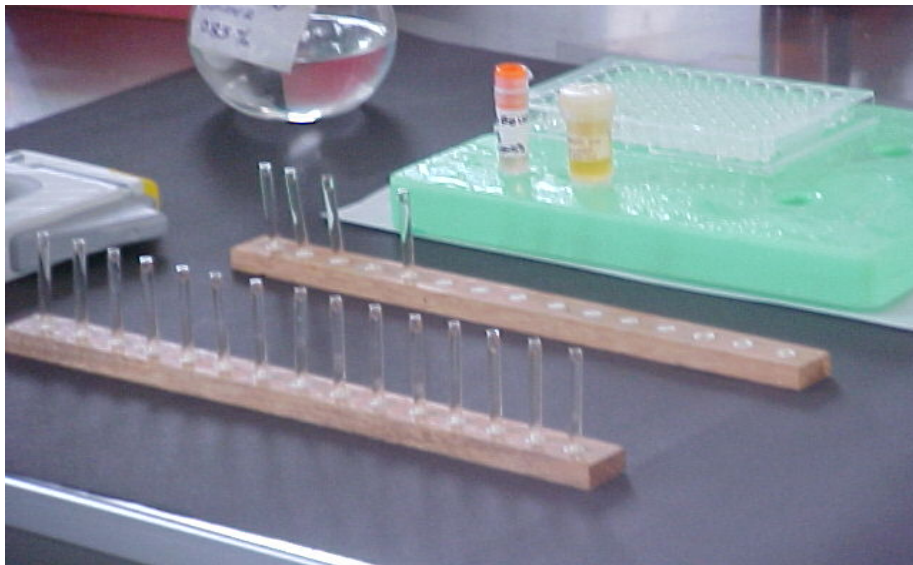


Figura 2. Tubos de vidrio de 2,1 mm de diámetro por 40 mm de alto empleados en la Prueba de Precipitación

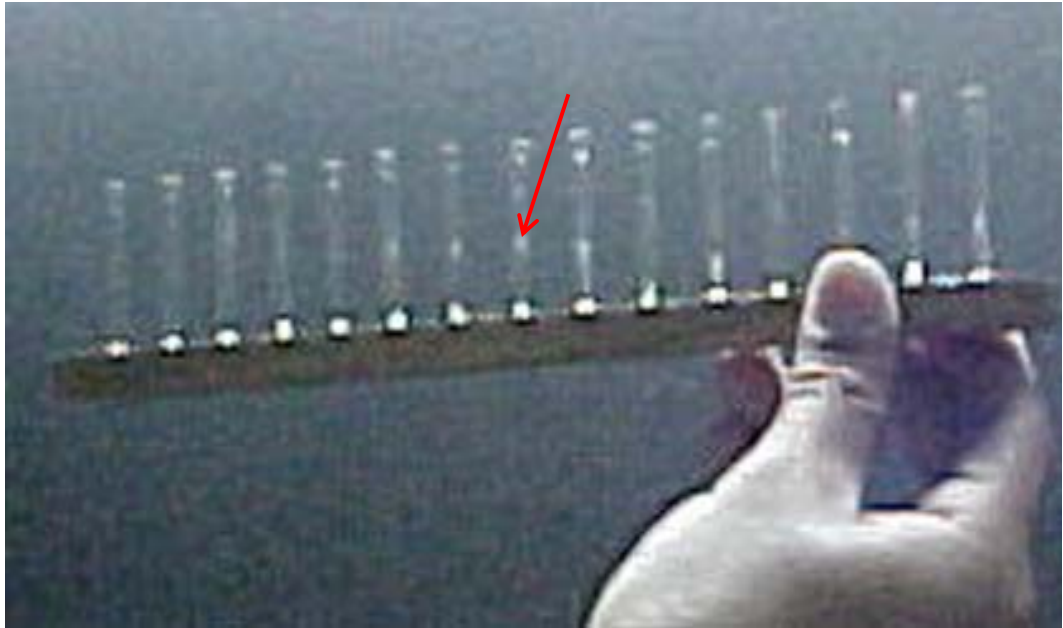


Figura 3. Lectura de la Prueba de Precipitación



Figura 4. Ninfas de *T. infestans* alimentándose con sangre de cobayo.



Figura 5. Ninfas de *T. infestans* alimentándose con sangre de humano



Figura 6. Set de tubos conteniendo solución salina 0,85% más el contenido intestinal de los triatominos impregnados en papeles filtro, que servirá como antígeno para la Prueba de Precipitación.



Figura 7. Presencia de cobayos alrededor de la vivienda y en constante ingreso hacia el interior de la misma (cocina)

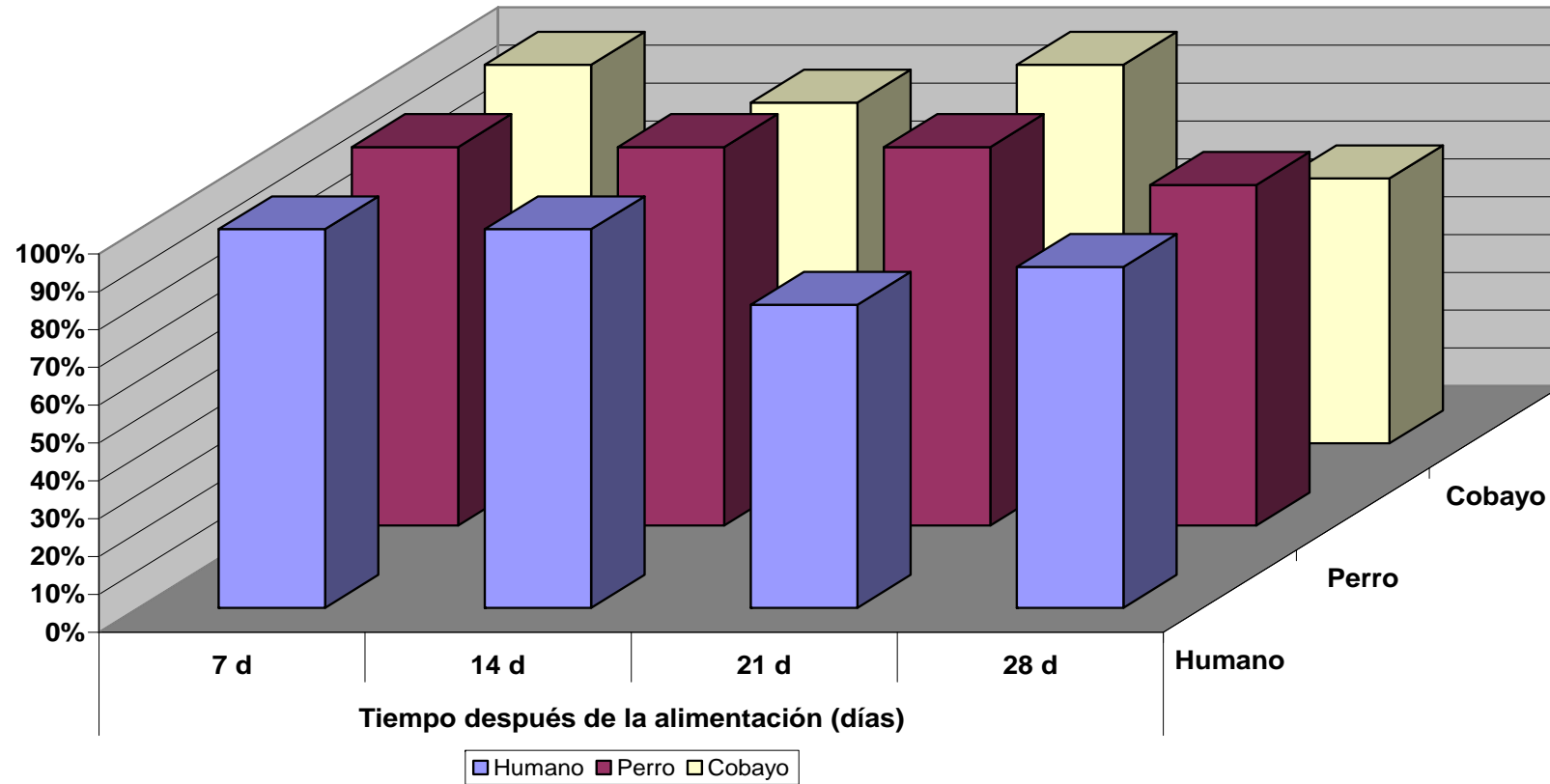


Figura 8. Sensibilidad de la Prueba de Precipitación en ninfas III, IV y V de *Triatoma infestans* alimentadas en laboratorio con sangre de humano, perro y cobayo.

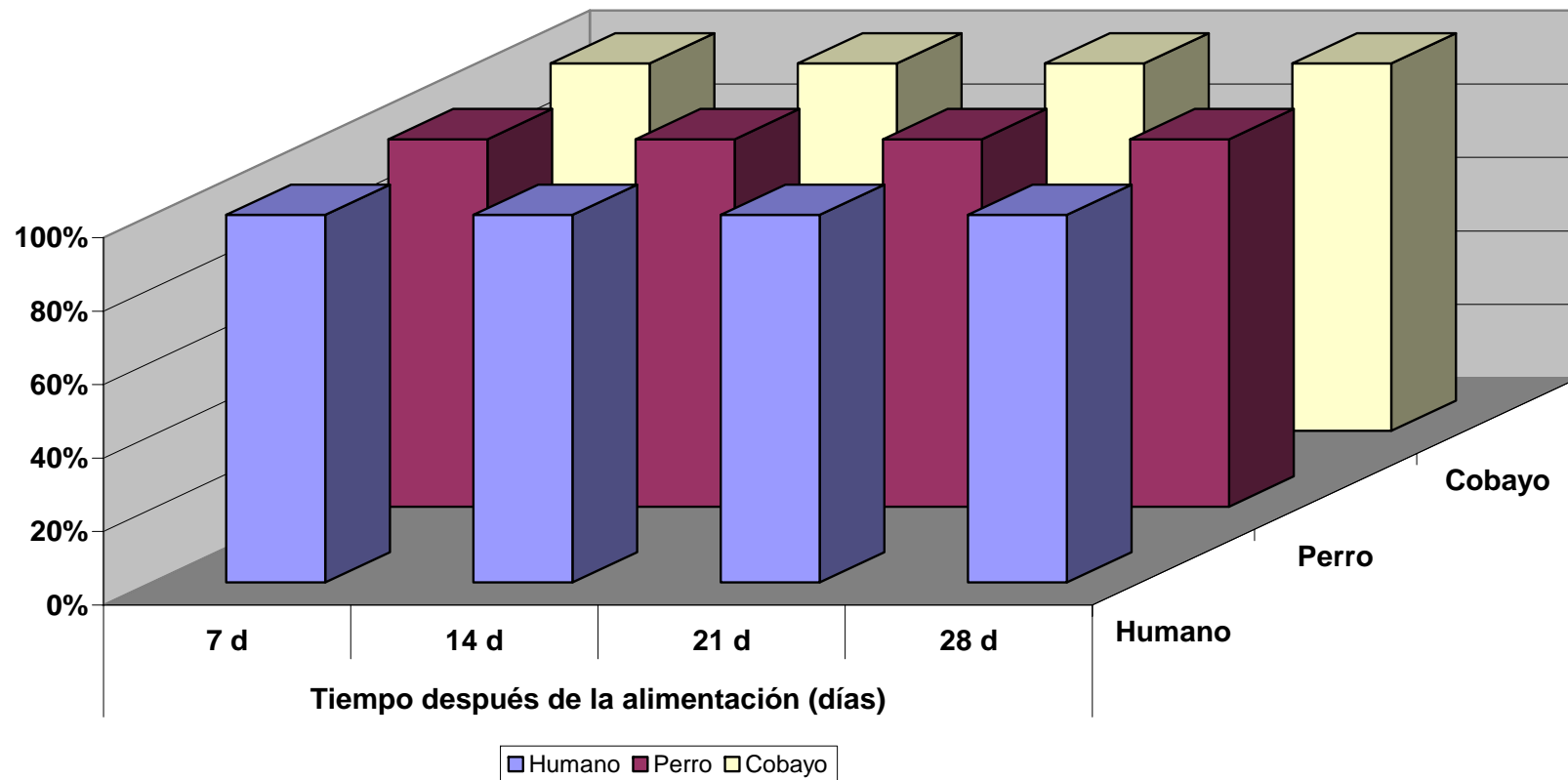


Figura 9. Especificidad de la Prueba de Precipitación en ninfas III, IV y V de *Triatoma infestans* alimentadas en laboratorio con sangre de humano, perro y cobayo.

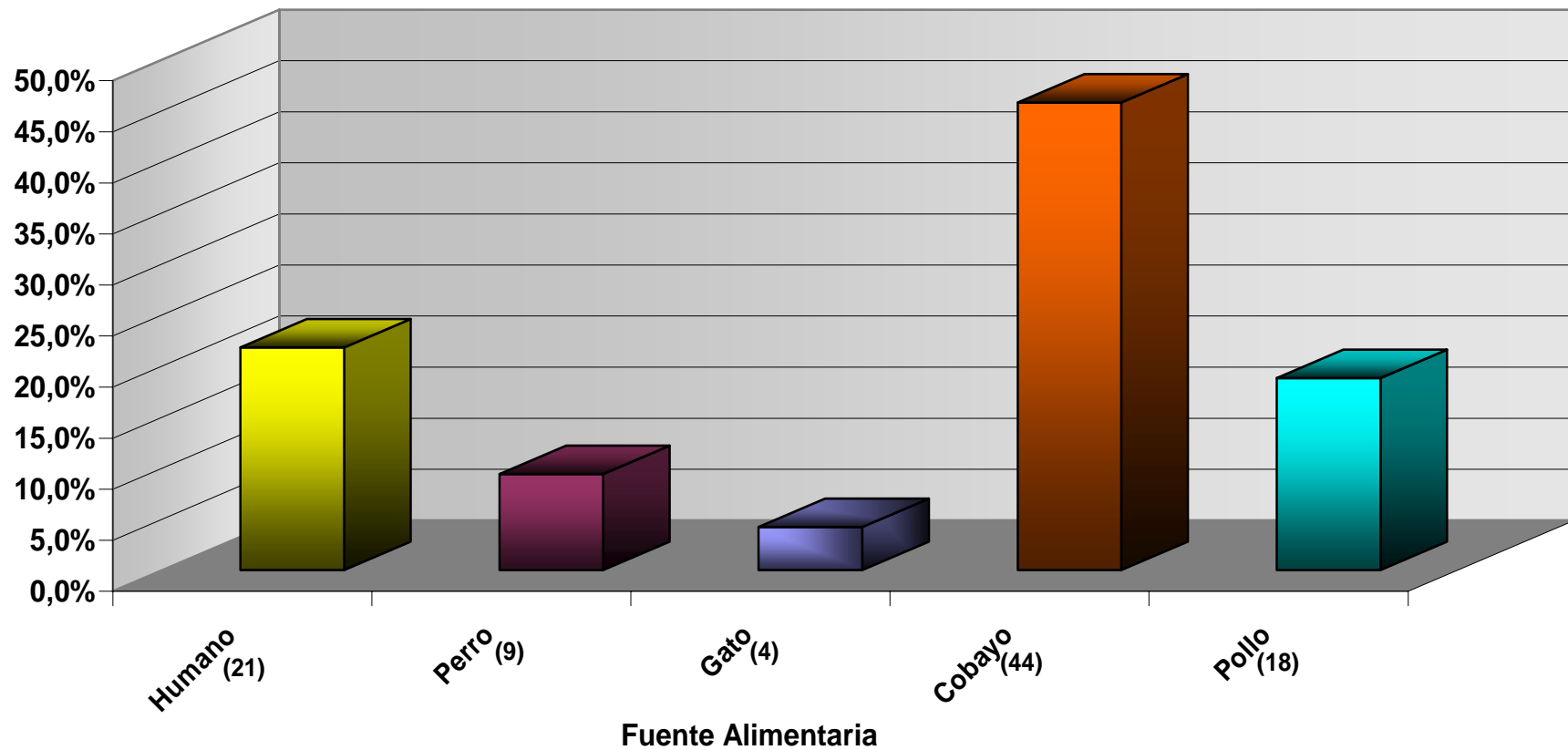


Figura 10. Número de alimentaciones según la fuente alimentaria de *Panstrongylus herreri* capturadas en Cajaruro, Utcubamba, Amazonas, 2004



Figura 11. Localidad del Hebrón, distrito de Cajaruro, Departamento de Amazonas. Perú



Figura 12. Localidad El Ron, distrito de Cajaruro, Departamento de Amazonas. Perú



Figura 13. Vivienda típica de la zona de estudio (Hebrón)

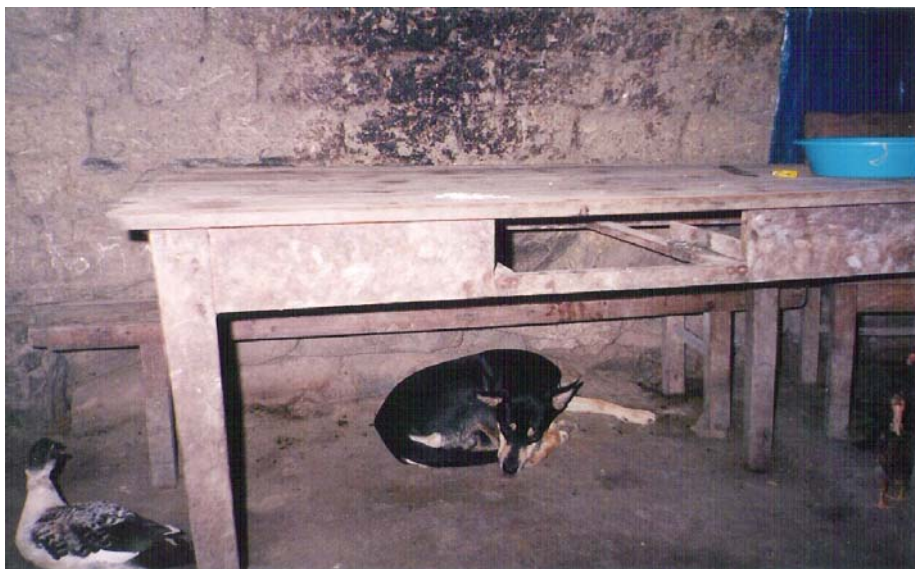


Figura 14. Presencia de animales domésticos en el interior de la vivienda

X. ANEXOS

ANEXO 1

Descripción del Área de Estudio

Las capturas de *P. herreri* se realizaron en las localidades del Hebrón (Figura 11) y El Ron (Figura 12), distrito de Cajaruro, provincia de Utcubamba, departamento de Amazonas. La provincia de Utcubamba con su capital Bagua Grande pertenece al departamento de Amazonas, creada por Ley N° 23893 del 30 de mayo de 1984, conformada por 7 distritos: Jamalca, Bagua Grande, Yamón, Lonya Grande, El Milagro, Cumba y Cajaruro (Sulca, 2003).

Ubicación y Clima: El distrito de Cajaruro se encuentra ubicado a la margen derecha del Río Utcubamba, con una extensión territorial de 1 763 230 Km² y a una altura que va de los 400 a 2600 msnm. Es un distrito con clima caluroso, variado según la zona, desde 10°C hasta 40°C. Las precipitaciones van de 200 a 7000 m³ anuales, con mayores lluvias en marzo y una estación seca de junio a septiembre.

Medios de comunicación: De la marginal de la selva derivan carreteras secundarias al distrito de Cajaruro, trochas, carrozales y caminos a sus centros poblados y caseríos. Cuentan con teléfono así como antenas repetidoras de canales y servicios de cable TV.

Educación: La Actividad Educativa abarca modalidades de Educación Inicial, Primaria y Secundaria, cuenta con 140 centros de estudio, sin embargo existe un alto grado de analfabetismo.

Producción: Existe una gran producción especialmente cultivos de arroz, maíz, café, cacao, cítricos y plátanos; cuenta con grandes superficies de pastos naturales, gran actividad ganadera especialmente de ganado vacuno constituyendo una fuente de abastecimiento de carne a nivel local y a otras ciudades.

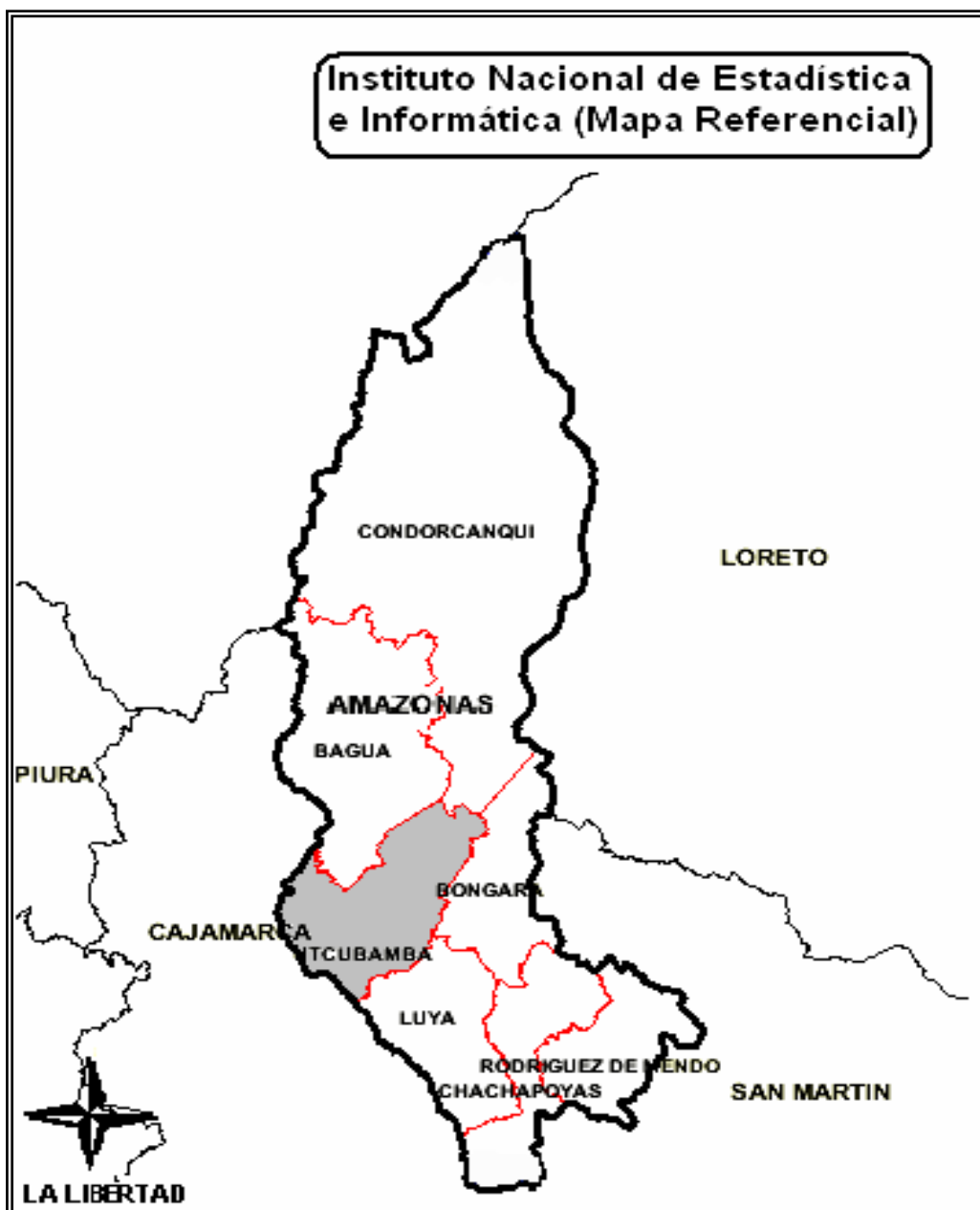
Viviendas: Las viviendas de la localidad del Hebrón y El Ron están construidas con paredes de adobe y techo de madera (Figura 13), aunque algunas presentan techos de calamina, presentan grietas tanto interna como externamente las que sirven de refugio para la proliferación y reproducción de los triatominos, a esto se suman factores como: luz escasa, debido a que los dormitorios tiene ventanas pequeñas.

La utilización de mosqueteros en los dormitorios es común, pero esto no evitó encontrar triatominos sobre la cama, debajo del colchón. En el interior de las viviendas se suele encontrar animales domésticos como aves de corral, cobayos, perros y gatos (Figura 14).

Abastecimiento de agua: En ambas localidades las viviendas poseen agua entubada desde su captación hasta una pileta pública.

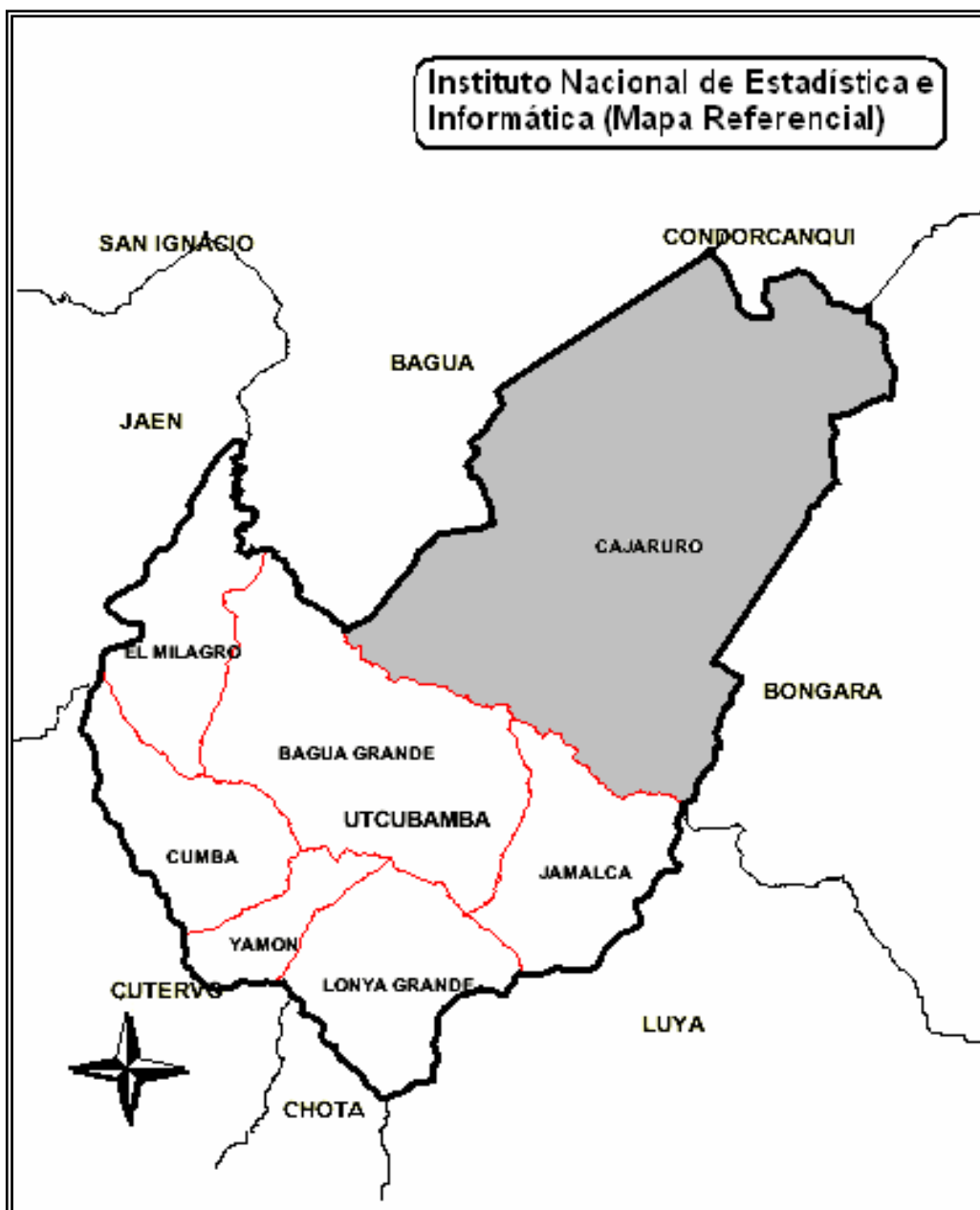
ANEXO 2

DEPARTAMENTO DE AMAZONAS



ANEXO 3

PROVINCIA DE UTCUBAMBA



ANEXO 4

LOCALIDADES DE MUESTREO (HEBRÓN Y EL RON), DISTRITO DE CAJARURO

