

Artículo Original/ Original Article

<http://dx.doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2022.020.02.77>

Enfermedad de Chagas: Riesgo de transmisión por especies secundarias de triatomíneos capturados en etapa de vigilancia entomológica en las dos regiones del Paraguay

Daysi Pineda¹ , Berta Paredes² , Graciela Russomando¹ , *Zunilda Sánchez¹ 

¹Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Departamento de Biología Molecular y Biotecnología. San Lorenzo, Paraguay.

²Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Servicio Nacional de Erradicación del Paludismo. (SENEPA), Departamento de Entomología. Asunción, Paraguay.

Cómo referenciar este artículo/
How to reference this article:

Pineda D, Paredes B, Russomando G, Sánchez Z. Enfermedad de Chagas: Riesgo de transmisión por especies secundarias de triatomíneos capturados en etapa de vigilancia entomológica en las dos regiones del Paraguay. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud.* 2022; 20(2): 77-84.

RESUMEN

El principal vector intradomiciliario del *Trypanosoma cruzi* en el Cono Sur de América Latina ha sido el *Triatoma infestans*. En la última década se ha declarado la interrupción de transmisión de la enfermedad por esta especie en varias áreas endémicas. El *T. cruzi* interactúa con triatomíneos silvestres y reservorios mamíferos, por ello hay un riesgo permanente de la invasión de viviendas por especies secundarias como *T. sordida* y nativas de focos selváticos como: *T. guasayana*, *T. guasu*, *Panstrongylus geniculatus*, *P. megistus* que deben ser vigiladas para evitar el proceso de colonización de las viviendas. El objetivo fue evaluar el potencial riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas por especies secundarias de triatomíneos capturados en etapa de vigilancia entomológica en áreas endémicas de las regiones Oriental y Occidental del país. Se aplicaron técnicas moleculares asociadas a indicadores entomológicos a un total de 759 ejemplares de 4 especies de triatomíneos capturados en las dos regiones. Se detectó colonización del 19% por la especie *T. sordida* en viviendas del Departamento de Concepción. De las especies *T. guasayana*, *T. guasu*, *P. geniculatus* consideradas especies del ambiente selvático, se capturó al menos 1 ejemplar en cada departamento en el intradomicilio. De 759 ejemplares analizados, se detectaron 17 con infección natural con *T. cruzi* (2,2%), de los cuales 2 eran de *P. geniculatus* y 1 de *T. guasayana*, ambos del intradomicilio. Estos hallazgos ponen en evidencia que existe un potencial riesgo de transmisión de *T. cruzi* por estas especies de triatomíneos.

Palabras clave: triatomíneos, especies secundarias, infección natural, *T. cruzi*.

Chagas disease: Risk of transmission by secondary species of triatomines captured in the entomological surveillance stage in the two regions of Paraguay

ABSTRACT

The main intradomiciliary vector of *Trypanosoma cruzi* in the Southern Cone of Latin America has been *Triatoma infestans*. In the last decade, the decrease in transmission

Fecha de recepción: abril 2022. Fecha de aceptación: julio 2022

*Autor correspondiente: Zunilda Sánchez. Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Departamento de Biología Molecular y Biotecnología. San Lorenzo, Paraguay.

Email: zunysanchez@hotmail.com



of the disease by this species has been declared in endemic areas. *T. cruzi* interacts with wild triatomines and mammalian reservoirs, therefore there is a permanent risk of invasion of dwellings by secondary species such as *T. sordida* and native to jungle foci such as: *T. guasayana*, *T. guasu*, *Panstrongilus geniculatus*, *P. megistus* that should be monitored to avoid the process of colonization of dwellings. The objective of the study was to evaluate the potential risk of transmission of Chagas disease by secondary triatomine species captured in the entomological surveillance stage in endemic areas of the Eastern and Western regions of the country. Molecular techniques associated with entomological indicators were applied to a total of 759 specimens of 4 species of triatomines captured in the two regions. Colonization of 19% by the species *T. sordida* was detected in dwellings of the department of Concepción. At least one specimen of the species *T. guasayana*, *T. guasu*, *P. geniculatus* considered species of the jungle environment was captured in each department in the intradomiciliary environment. Of the total number of specimens analyzed (759), 17 were detected with natural infection with *T. cruzi* (2.2%), of which 2 were of *P. geniculatus* and 1 of *T. guasayana* both from intradomiciliary environment. These findings show that there is a potential risk of transmission of *T. cruzi* by these triatomine species.

Keywords: triatomines, secondary species, natural infection, *T. cruzi*.

INTRODUCCIÓN

El principal vector transmisor en la Enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* en la Región del Cono Sur de América Latina, es el *Triatoma infestans*. El fenómeno básico de la transmisión vectorial del *T. cruzi* al hombre y la adaptación de los triatominos al ecotopo doméstico, más precisamente su domiciliación, dependen de factores tales como su grado de antropofilia, disponibilidad de alimento y condiciones de la vivienda. La transmisión vectorial se lleva a cabo principalmente a través de vectores estrictamente domiciliados⁽¹⁻²⁾. Esta vía de transmisión ha disminuido en la última década, gracias a las decisiones políticas de los países que con actividades sostenidas de control vectorial han logrado el corte de la transmisión intradomiciliar de *T. cruzi* por esta especie⁽³⁾. En Paraguay, se ha logrado la interrupción de la transmisión vectorial intradomiciliar por *T. infestans* en el año 2018 en las regiones Oriental y Occidental del país y se encuentran desde esa fecha bajo vigilancia entomológica⁽⁴⁾. A partir de los avances obtenidos en la eliminación y control de la transmisión vectorial domiciliar de *T. cruzi*, se observan cambios en la dinámica de transmisión que propician la emergencia de otros escenarios entomológicos, tales como la ocurrencia de ciclos peridomésticos o silvestres que involucran a especies autóctonas⁽³⁾. Muchas especies nativas adquieren importancia epidemiológica debido a la capacidad de intercambio entre hábitats selváticos y domésticos, así como para reemplazar el nicho ecológico de triatominos domiciliarios⁽²⁾. Por esta razón es importante considerar la presencia de especies nativas de focos selváticos como: *T. sordida*, *T. guasayana*, *P. megistus* y otros en el proceso de colonización de las viviendas humanas y que son clasificadas como potenciales vectores de la enfermedad. Existen reportes de nuestro grupo de trabajo sobre la capacidad vectorial de la especie secundaria *T. sordida* provenientes de áreas endémicas de las dos regiones del Paraguay donde se describió una elevada colonización e infección natural en esta especie secundaria. En un estudio con ejemplares de *T. sordida* capturados entre el 2005 y el 2007 en el departamento de Concepción (Región Oriental), la colonización intradomiciliar detectada fue del 44% con una infección natural del 11%⁽⁵⁾; mientras que en el Chaco Paraguayo (Región Occidental) en un estudio con ejemplares de *T. sordida* capturados entre el 2013 y el 2015, se ha estimado un 87% de riesgo de transmisión de *T. cruzi* intradomiciliar⁽⁶⁾. En otro estudio con *T. sordida* de la misma región publicado en el 2018, donde se analizaron 220 ejemplares, se detectó infección natural con *T. cruzi* en un 17,3%⁽⁷⁾. Estos resultados evidencian la capacidad adaptativa de esta especie al domicilio, y un incremento de su potencial vectorial para transmitir la enfermedad de Chagas en áreas del país. Este estudio se realizó con el fin de evaluar el potencial riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas por especies secundarias de triatominos

capturados en etapa de vigilancia entomológica en áreas endémicas de las dos regiones del país.

MATERIALES y METODOS

Área de estudio y población: Se analizaron un total de 759 ejemplares de triatomino de especies secundarias (*T. sordida*, *T. gusayana*, *T. guasu* y *P. geniculatus*), de los departamentos de Concepción, Paraguari, Cordillera y San Pedro de la Región Oriental y los departamentos de Boquerón, Pte. Hayes y Alto Paraguay de la región Occidental. En la Tabla 1 se puede observar el número de triatomino por vivienda y por departamento como así también la especie. Los ejemplares fueron capturados en etapa de vigilancia entomológica por funcionarios del SENEPA entre el 2010 y el 2016, fueron clasificados taxonómicamente según Lent y Wygodzinsky⁽⁸⁾ y analizados por microscopía óptica (MO) para la detección de *T. cruzi* en heces en el laboratorio de Entomología del SENEPA (MSP y BS). Todos fueron negativos para *T. cruzi* por MO.

Tabla 1. Población de estudio. Número de triatomino capturados, especies, número de viviendas infestadas, procedencia por dpto.

Departamento	Especie de triatomino				Viviendas infestadas	Ejemplares
	<i>T. sordida</i>	<i>P. geniculatus</i>	<i>T. guasu</i>	<i>T. gusayana</i>		
Concepción	638				240	638
Paraguari		2	1	1	2	4
Cordillera		1	2		3	3
San Pedro				1	1	1
Boquerón		1		13	14	14
Pte. Hayes	89			5	26	94
Alto Paraguay	3			2	5	5
Total	730	4	3	22	291	759

Elaboración de base de datos, obtención de información epidemiológica: Los ejemplares estaban agrupados en bolsas individuales, de acuerdo con las viviendas de donde fueron capturados, cada bolsa contenía una ficha con datos registrados por funcionarios del SENEPA, donde se anotaron los datos entomológicos como: lugar de captura (intra/peri), departamento, localidad, estadio (ninfa/adulto) y especie, como así también el resultado de infección natural con *T. cruzi* por MO. Con estos registros se elaboró una base de datos en formato Excel para la obtención de información epidemiológica.

Disección de Triatomino: Se realizó la disección de cada ejemplar para obtener las heces del triatomino, colocándose cada muestra en microtubos de 1.5 ml, con 500 ul de solución tampón (10mM Tris, pH 7.4, 1mM EDTA, 150 mM NaCl y 1% SDS). Las muestras se llevaron a ebullición por 15 minutos y posterior a eso se realizó una centrifugación a 8000 rpm por 5 minutos, luego se guardaron a -20°C hasta el momento de la extracción.

Extracción de ADN: En casos de viviendas donde se capturó un solo ejemplar, se tomsron 300 ul del sobrenadante resultante del proceso de disección y se colocaron en un nuevo tubo de 1,5 ml para empezar la extracción. En el caso de las viviendas donde se capturaron más de un insecto adulto, para la extracción se prepararon pooles, tomando un volumen del sobrenadante de cada tubo preparado inicialmente con cada ejemplar hasta completar un volumen final de 300 ul. Este mismo procedimiento se realizó con las ninfas provenientes de una misma vivienda. Cada tubo fue incubado con 10 ul de proteinasa K (20ug/MI) a 60°C por 1 hora. Luego se inactivó la enzima por calentamiento a 95°C por 10 minutos (9-10). El ADN fue

extraído aplicando el método Fenol-Cloroformo, para precipitar el ADN se colocaron 500ul de etanol puro, glucógeno (20ug) y acetato de sodio 3M pH 5,4 en un 10% del volumen recuperado. El ADN obtenido se resuspendió en 100ul de H₂O bidestilada estéril⁽⁹⁾.

Cuantificación de ADN: Se prepararon diluciones 1/20 del ADN resuspendido para la cuantificación de ADN en el espectrofotómetro Bioware DNA (WPA, UK) obteniéndose la concentración de ADN en ng/ul y la pureza según la relación de absorbancia a 260/280. Las muestras que no tenían una relación 260/280 igual o superior a 1, fueron re-precipitadas y si aun así no alcanzaban una pureza aceptable, se sometieron a una re-extracción con PCI (Fenol: Cloroformo: Alcohol Isoamílico) y Fenol, posterior precipitación y resuspensión del ADN. En caso de no obtener la lectura esperada después de estos procedimientos, se repetía la extracción con una nueva alícuota del resuspendido inicial conservado a -20°C.

Infección natural con *T. cruzi*: La identificación especie específica de *T. cruzi* se realizó por el método PCR empleando como blanco las secuencias repetitivas de ADN nuclear (microsatélites) de *T. cruzi*, con los cebadores TCZ1 y TCZ2 descrito por Moser et al.⁽¹¹⁾ y ADN kinetoplastídico con cebadores 121 y 122 descrito por Degraeve et al. y Russomando et al. Los productos amplificados fueron analizados en geles de agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio y visualizados bajo un transiluminador UV.

RESULTADOS

Elaboración de la base de datos: Se elaboró una base de datos con los registros proveídos por el Departamento de Entomología del SENEPA, correspondiente a cada vivienda donde fueron capturados los triatominos en etapa de vigilancia entomológica. Del análisis de la base de datos se obtuvo información epidemiológica sobre la especie de triatomo capturado, el estadio (ninfa/adulto), el sitio de captura (intradomiciliar o peridomiciliar), la procedencia y el número de viviendas infestadas por departamento. Se analizó un total de 759 ejemplares procedentes de los departamentos Concepción, Paraguarí, Cordillera y San Pedro, de la Región Oriental y los departamentos de Boquerón, Pdte. Hayes y Alto Paraguay de la Región Occidental. En el dpto. de Concepción se capturó un total de 638 triatominos de la especie *T. sordida*, de los cuales 43 ejemplares fueron capturados en el intradomicilio y 595 ejemplares en el peridomicilio, de los capturados en el intradomicilio, 8 eran ninfas y 35 eran adultos, de los capturados en el peridomicilio 289 ejemplares eran ninfas y 306 eran adultos. Las viviendas infestadas fueron en total 240. Del Departamento de Paraguarí se analizaron 4 ejemplares, 2 de la especie *P. geniculatus*, 1 de la especie *T. guasu* y 1 de la especie *T. guasayana*, de los 4 ejemplares, 2 fueron capturados en el intradomicilio y 2 en el peridomicilio, todos eran adultos. Las viviendas infestadas fueron 2. En el dpto. de Cordillera se capturaron 3 ejemplares adultos; 2 de la especie *T. guazu* y 1 de la especie *P. geniculatus*. 2 ejemplares fueron capturados en el intradomicilio y 1 ejemplar en el peridomicilio, Las viviendas infestadas fueron 3. En el dpto. de San Pedro se capturó en una vivienda un ejemplar adulto de la especie *T. guasayana* en el intradomicilio. En el Dpto. de Boquerón se capturaron 14 ejemplares; 13 de la especie *T. guasayana* y 1 de la especie *P. geniculatus*, 2 ejemplares correspondientes al intradomicilio y 12 al peridomicilio. Las viviendas infestadas fueron 14. En el dpto. de Pte. Hayes se capturaron 94 ejemplares, 5 de la especie *T. guasayana* y 89 de la especie *T. sordida*, 9 ejemplares eran del intradomicilio y 80 del peridomicilio, las viviendas infestadas fueron 26. En el dpto. de Alto Paraguay se capturaron 5 ejemplares de 5 viviendas, 2 de la especie *T. guasayana* y 3 de la especie *T. sordida*, todos del peridomicilio. Estos resultados se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2. Distribución de los triatomos capturados por departamento según especies, estadio (ninfas o adultos), lugar de captura (intradomicilio/peridomicilio) y número de viviendas infestadas.

Departamento	Viviendas infestadas	Especie	Intradomicilio	Peridomicilio	Total
			Nº de Ejemplares	Nº de Ejemplares	
Concepción	240	<i>T. Sordida</i>	43 (8N/35A)	595 (289N/306A)	638
Paraguari	2	<i>P. geniculatus</i>	1A	1A	4
		<i>T. guasu</i>		1A	
		<i>T. guasayana</i>	1A		
Cordillera	3	<i>P. geniculatus</i>	1A		3
		<i>T. guasu</i>	1A	1A	
San Pedro	1	<i>T. guasayana</i>	1A		1
Boqueron	14	<i>P. geniculatus</i>	1A		14
		<i>T. guasayana</i>	1A	12A	
Pte. Hayes	26	<i>T. guasayana</i>		5A	94
		<i>T. Sordida</i>	9A	80 (75A/5N)	
Alto Paraguay	5	<i>T. guasayana</i>		2A	5
		<i>T. Sordida</i>	3A		
Total	291				759

A: Adulto; N: Ninfa

Detección de *T. cruzi* por la técnica PCR con cebadores especie-específicos.**Prueba de sensibilidad**

Se realizó primeramente la prueba de sensibilidad en la detección de ADN nuclear (con cebadores TCZ1 y TCZ2) y ADN Kinetoplastídico (con cebadores 121 y 122) para lo cual se prepararon diluciones de ADN de cepas de referencia X₁₀Cl₁ (clon 20) y Mncl₂ (clon 39) equivalentes a 10, 100 y 1000 parásitos. La prueba permitió la detección mínima de hasta 10 parásitos, visualizados con bromuro de etidio en un transiluminador en un gel de agarosa al 2%. Se estimó visualmente la intensidad de las bandas con el equivalente de parásitos y se clasificó de la siguiente manera: banda débil (+) 10 parásitos, banda de mediana intensidad (++) 100 parásitos y banda fuerte (+++) por arriba de 100 parásitos (Figura 1).

Detección de infección natural con *T. cruzi* en los triatomos analizados:

De 759 ejemplares analizados (140 pooles; promedio de 4 ejemplares por vivienda y 200 muestras individuales), se logró detectar infección natural con *T. cruzi* en 17 ejemplares, de los cuales, 12 triatomos fueron capturados en el peridomicilio: especie *T. sordida* (11) y *T. guasayana* (1) y los 5 ejemplares infectados en el domicilio corresponden a adultos de las especies: *T. sordida* (2), *P. geniculatus* (2) y *T. guasayana* (1). No se capturaron ninfas infectadas naturalmente en el domicilio. Ver Tabla 3.

En la Figura 1 se pueden observar tanto los productos obtenidos con controles positivos (cepas de referencia) y su equivalencia en cantidad de parásitos, como así también los productos de amplificación de los ejemplares *T. cruzi* positivos con bandas de 198 pb obtenidos con los cebadores TCZ1 y TCZ2 y 330 pb obtenidos con los cebadores 121 y 122.

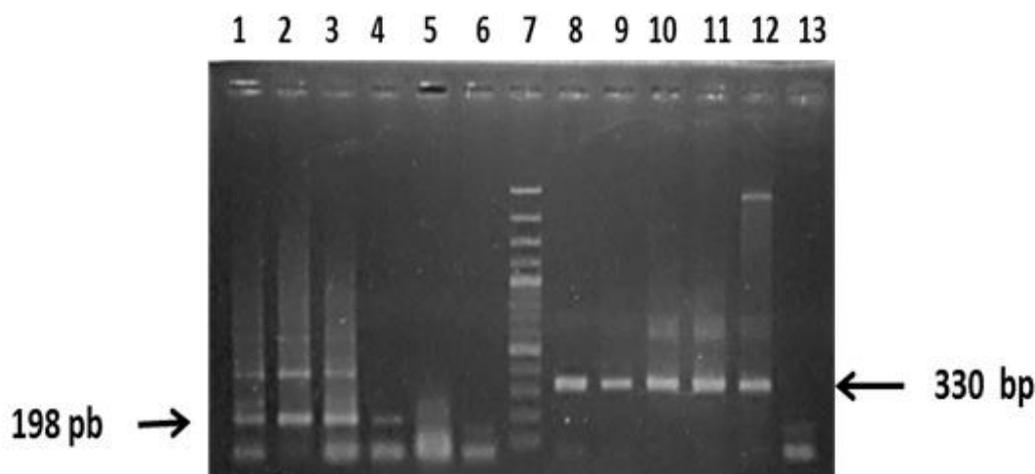


Figura 1. Productos de amplificación por PCR de cepas de referencia de *T. cruzi* y muestras de triatominos con cebadores TCZ1/TCZ2 y 121/122. Carriles 1 al 6, reacciones de PCR con cebadores TCZ1/TCZ2 y productos de 198 pb y carriles 8 al 13, productos amplificados con cebadores 121,122 con tamaño de 330 pb. Carril 1 y 2: Control positivo (cepa de referencia X₁₀Cl₁) 10 y 100 parásitos respectivamente e intensidad de banda equivalente. Carril 3,4: muestras de triatominos con infección natural con *T. cruzi*. Carril 5: muestra de triatomo sin infección natural con *T. cruzi*. Carril 6: control negativo de reacción (agua). Carril 7: marcador de peso molecular de 100 pb. Carriles 8 y 9 corresponden a controles positivos (cepas de referencia X₁₀Cl₁), 100 y 10 parásitos respectivamente. Carriles 10, 11 y 12: correspondientes a ejemplares de triatominos infectados con *T. cruzi* con intensidades de bandas fuertes. Carril 13: control negativo de reacción (agua).

Tabla 3: Infección natural con *T. cruzi* detectada en 17 ejemplares de especies secundarias por sitio de captura y estadio.

Departamento	Especie	Nº de Ejemplares capturados	Infección natural con <i>T. cruzi</i> , sitio de captura y estadio .
Concepción	<i>T. Sordida</i>	638	9P (8A/1N) 1D (A)
Paraguari	<i>P. geniculatus</i>	2	1D (A)
	<i>T. guasu</i>	1	
	<i>T. guasayana</i>	1	
Cordillera	<i>P. geniculatus</i>	1	1D (A)
	<i>T. guasu</i>	2	
San Pedro	<i>T. guasayana</i>	1	
Boqueron	<i>P. geniculatus</i>	14	1D (A)
	<i>T. guasayana</i>		
Pte. Hayes	<i>T. guasayana</i>	5	1P (A)
	<i>T. Sordida</i>	89	2P (1A/1N) / 1D (A)
Alto Paraguay	<i>T. guasayana</i>	2	
	<i>T. Sordida</i>	3	
Total		759	17

D:Intradomiciliar, P: Peridomiciliar A: Adulto; N: Ninfa

DISCUSIÓN

Un total de 759 ejemplares de triatominos, de las especies *T. sordida*, *T. guasayana*, *T. guasu*, y *P. geniculatus* fueron incluidos en este estudio, todos capturados en el domicilio y/o peridomicilio. En Paraguay, según datos publicados por el SENEPA, se han registrado hasta la fecha la circulación de 8 especies de triatominos; entre las que se encuentran: *T. infestans*, *T. sordida*, *T. guasu*, *T. guasayana*, *P. geniculatus*, *P. megistus*, *Triatoma platensis* y *Rhodnius sp.* Entre ellas, el *T. infestans* y el *T. sordida* se destacan por su importancia epidemiológica⁽⁴⁾. Los 759 ejemplares de triatominos que han sido incluidos en este estudio fueron capturados en fase de vigilancia entomológica en 7 departamentos: Concepción (*T. sordida*), San Pedro (*T. guasayana*), Cordillera (*P. geniculatus* y *T. guasu*), Paraguari (*P. geniculatus*, *T. guasayana* y *T. guasu*), Alto Paraguay (*T. guasayana* y *T. sordida*), Pte Hayes (*T. guasayana* y *T. sordida*) y Boquerón (*T. guasayana*). Tan solo 17 triatominos (2,2%) de los 759 ejemplares analizados con cebadores especie específico arrojaron positividad para infección natural con *T. cruzi*, de los cuales la mayoría fueron de la especie *T. sordida*, 13/17 (76,4%) 10 capturados en el Departamento de Concepción y 3 en el Departamento de Pte. Hayes. Este resultado resalta una vez más la importancia del vector *T. sordida* como un vector secundario en Paraguay para la enfermedad de Chagas⁽¹⁰⁾. Al analizar los hallazgos en el Departamento de Concepción, cabe resaltar que 638 de los 759 (84%) triatominos totales de este estudio eran ejemplares de *T. sordida* del citado departamento, se observó que 43 ejemplares (8 ninfas y 35 adultos) fueron capturados en el intradomicilio de los cuales resultó positivo 1 ejemplar adulto, además de registrarse nuevamente colonización intradomiciliar de esta especie. El ejemplar adulto en el domicilio pone en evidencia el riesgo de ingreso continuo de especies secundarias. Los otros 9 ejemplares positivos eran del peridomicilio, de los cuales 8 eran adultos infectados y una ninfa infectada. En Pte. Hayes también *T. sordida* fue la especie mayoritaria 89 (94,7%) del total de 94 ejemplares capturados, encontrándose 3 ejemplares con infección natural, uno de ellos adulto intradomiciliar y 2 de ellos en el peridomicilio (1 adulto y 1 ninfa). Estos hallazgos resaltan la problemática del peridomicilio con animales mamíferos pequeños infectados con *T. cruzi* que facilitan la capacidad vectorial de *T. sordida* al invadir y colonizar las viviendas. Sin embargo, si se analiza que tan solo 9 (1,4%) de los 638 ejemplares de *T. sordida* evaluados del Departamento de Concepción y 3 (3,4%) de los 89 ejemplares de *T. sordida* evaluados del Departamento de Pte. Hayes resultaron infectados naturalmente con *T. cruzi* resulta un porcentaje de infección mucho menor en comparación con trabajos anteriores publicados por nuestro grupo de trabajo donde se había reportado hasta un 10,6 % de infección natural con *T. cruzi* en dicha especie en el Departamento de Concepción y 17,3% en el Chaco Paraguayo (5-7). En el año 2020, se reportaron infecciones naturales de la especie *T. sordida* en Paraguari, Cordillera y San Pedro del 19%, 44% y 20% respectivamente⁽¹²⁾. En los Departamento de Pte. Hayes y Boquerón, se capturaron 5 y 14 ejemplares de la especie *T. guasayana*, respectivamente. En la Región Occidental o Chaco, la especie *T. guasayana* debería ser monitoreada, al detectar infección natural con *T. cruzi* en un ejemplar adulto capturado dentro del domicilio en Boquerón y un ejemplar adulto con *T. cruzi* en el peridomicilio en Pte. Hayes. En los Departamentos de Paraguari y Cordillera, los triatominos adultos capturados dentro del domicilio de la especie *P. geniculatus* estaban infectados naturalmente con *T. cruzi*⁽¹²⁾. Cabe destacar que estas muestras son de especies selváticas, en nuestro país no hay mucho reporte de infección de estos vectores diferentes a *T. sordida*. Existen pocos trabajos en el país que reportan infección natural con *T. cruzi* en triatominos de especies selváticas, y que invaden el domicilio. En un trabajo realizado en huésped y reservorios del Gran Chaco se reportó infección en un ejemplar de *T. guasayana*⁽¹³⁾. La presencia de especies nativas de focos selváticos generalmente se da ya que el nicho ecológico de los mismos es invadido y destruido, como consecuencia de las urbanizaciones. Es importante considerar la presencia de especies nativas de focos selváticos en proceso de colonización en la vivienda ya que las mismas son clasificadas como vectores potenciales para la transmisión de la enfermedad⁽²⁾. Como conclusión de este trabajo se resalta que la presencia de triatominos de especies secundarias detectadas dentro

del domicilio de las viviendas y la infección natural de los mismos podría ser un indicador de la búsqueda de adaptación a las viviendas y el intento de ocupar el lugar del vector principal. Estos hallazgos ponen en evidencia que existe un potencial riesgo de transmisión de *T. cruzi* por estas especies de triatominos por lo que la presencia de estos vectores en las viviendas en etapa de vigilancia entomológica obliga a replantear o reforzar el proceso de vigilancia.

Financiamiento: Este trabajo fue elaborado con una parte de los resultados del proyecto de tesis de Maestría en Ciencias Biomédicas del IICS/FCQ de la Universidad Nacional de Asunción de Daysi Pineda que fue financiado por el CONACYT. Programa PROCIENCIA.

Conflicto de interés: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de autores: Daysi Pineda: elaboración del protocolo de investigación, procesamiento de muestras, disección de triatominos, extracción de ADN y PCR.

Berta Paredes: clasificación por especie y estadio de los triatominos y análisis de heces de triatominos para detección de infección natural por *T. cruzi* por microscopía óptica (MO) en el SENEPA. **Graciela Russomando:** corrección del protocolo de investigación, verificación y seguimiento del desarrollo del estudio y análisis de resultados. Co- tutora de tesis. **Zunilda Sánchez:** verificación del protocolo de investigación, correcciones de este y análisis de resultados. Tutora de tesis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OPS Organización Panamericana de la Salud. Taller del Cono Sur enfermedad de Chagas. Conceptualización de la vigilancia epidemiológica. Bs. As. Argentina. 2003.
2. Noireau F, Gutierrez T, Flores R, Brenier F, Bosseno MF, Wisnivesky- Colli C. Ecogenetics of *T. sordida* and *T. guayasana* (Hemiptera: Reduviidae) in the Bolivian Chaco. Mem Inst Oswaldo Cruz 1999; 94(4): 451-57.
3. Silveira AC, Rojas de Arias A, Segura E, Guillén G, Russomando G, Schenone H, et al. El control de la Enfermedad de Chagas en los países del Cono Sur de América. Historia de una Iniciativa Internacional. 1991/2001. OPAS, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba; 2002. 316.
4. Organización Panamericana de la Salud Organization PH. Enfermedad de Chagas en las América: una revisión de la situación actual de salud pública y su visión para el futuro, mayo 3 y 4 de 2018. Tech Report Recomm Conclusions [Internet]. 2018; 1-20.
5. Sánchez León Z, Russomando G, Guillén R. Enfermedad de Chagas: estudio de un vector secundario. Editorial académica española. 2012.
6. Sánchez Z, Russomando G, Pineda D, Guillén L, Paredes B, Villalba de Feltes C. *Triatoma sordida*: indicadores de adaptación y transmisión de *Trypanosoma cruzi* en intradomicilio del Chaco Paraguayo. Mem Inst Investig Cienc Salud 2016; 14(3): 96-101.
7. Sánchez Z, Russomando G, Pineda D, Guillén L, Paredes B. Fuente de alimentación de ejemplares de *Triatoma sordida* en un área con alto riesgo de domiciliación en el Chaco Paraguayo. 2018; 16(1):78-83.
8. Lent H, Wygodzinsky P. Revision of *Triatominae* (Hemiptera: Reduviidae), and the other significanse as vectors of Chagas disease. Bull Am Mus Nat Hist 1979; 163: 123-27.
9. Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York E.U.A 1994.
10. Russomando G, Rojas de Arias A, Almirón M, Figueredo A, Ferreira ME, Moria K. *Trypanosoma cruzi*: Polimerase Chain Reaction-Based Detection in Dried Feces of *Triatoma infestans*. Exp.Parasitol.1996;(83):62-66
11. Moser DR, Kirchhoff LV, Donelson JE. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1989; (7): 1477-82.
12. Sánchez Z, Guillén L, Pineda D, Paredes B, Russomando G. Técnicas moleculares integradas a la vigilancia entomológica de vectores de la enfermedad de Chagas: Estudio del vector secundario *Triatoma sordida* en la Región Oriental del Paraguay. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud. 2020; 18(1): 76-83 10.18004/mem.iics/1812-9528/2020.018.01.76-083
13. Acosta N, López E, Lewis MD, Llewellyn MS, Gómez A, Román F, et al. Hosts and vectors of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units in the Chagas disease endemic region of the Paraguayan Chaco. Parasitology. 2017; 144(7): 884-98.