

Simposio

SALUD GEOESPACIAL

Leveraging spatial data on vector distribution for disease risk assessments

Desmond H. Foley, Richard C. Wilkerson, Pollie L.M. Rueda

Division of Entomology, Walter Reed Army Institute of Research, Silver Spring, MD, USA

VectorMap (www.vectormap.org) is a public access online spatial database of mosquito, sand fly, and tick species collection records and distribution models that is aimed at medical entomologists, vector disease control workers, preventative medicine practitioners, and health planners. VectorMap is an outgrowth of MosquitoMap (Foley, *et al.*, 2010) that currently hosts around 250,000 mosquito records. Data is checked for geographic and taxonomic errors, and is comprised of vouchered specimen information, and both unpublished and unpublished observation data. VectorMap uses Microsoft Silverlight™ and ESRI's ArcGIS Server 10™ software platform to present disease vector data and relevant remote sensing layers in an online GIS format. Users can view the locations of past vector collections and the results of models that predict the geographic extent of individual species. Collection records are searchable and downloadable, and Excel collection forms with drop down lists, and Excel charts to country, are available for data contributors to map and quality control their data (Foley, 2011).

An application under development—the Mal-area Calculator (MAC)—allows the quantification, for any area of interest, of the overlap of vectors, hosts, and disease, to enable a first order approximation of vector hazard, and to fine-tune vector-borne disease maps. The Mal-area approach emphasizes the independent but cumulative contribution to disease risk of the vector species predicted present. VectorMap and the MAC makes accessible, and adds value to, the results of past vector collecting efforts. These online resources are offered to the

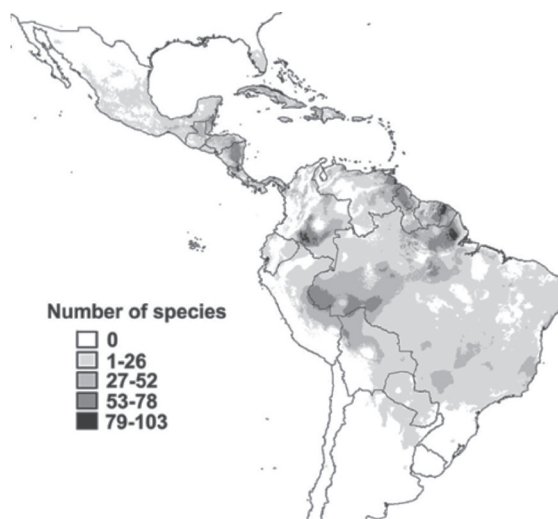


Figure 1. Map of mosquito species richness created by summing models (Bioclim) of species potential distribution that were created from collection records available in VectorMap.

international vector control community as a focal point to increase collaboration and to explore the nexus between geography and vector borne disease transmission.

References

1. Foley DH, Wilkerson RC, Birney I, Harrison S, Christensen J, Rueda LM. MosquitoMap and the Mal-area calculator: new web tools to relate mosquito species distribution with vector borne disease. *Int J Health Geogr.* 2010;9:11
2. Foley DH. A spreadsheet mapping approach for error checking and sharing collection point data. *Biodiversity Informatics.* 2011;7:137-42.



Use of geographical information systems and remote sensing tools for the generation of predictive models of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) distribution in Colombia

Gabriel Parra-Henao¹, Ángela Segura², Nicolás Jaramillo³, Neal Alexander⁴

¹ Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Universidad CES, Sabaneta, Colombia

² Grupo de Epidemiología y Bioestadística, Universidad CES, Sabaneta, Colombia

³ Instituto de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

⁴ London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, United Kingdom

Introduction

In Colombia there are 25 recorded triatomine species, of which *Rhodnius prolixus* and *Triatoma dimidiata* are considered the most important *Trypanosoma cruzi* vectors due to their infestation indices and vectorial capacity (1). *Rhodnius prolixus* is the main vector but *T. dimidiata* is also important in rural transmission, and is considered the second vector in the country (2,3). Approximately 5% of the national population is infected and almost 20% are at risk (4).

Triatoma dimidiata is a highly variable species with a wide geographical range: from Mexico through Central America into Venezuela, Colombia, Ecuador and northern Peru (5). It is currently the main Chagas' vector in Guatemala, El Salvador, Nicaragua and Costa Rica, and the second most important vector in Honduras and Colombia (6).

According to the Colombian Chagas' Disease Control Programme (CDCP), *T. dimidiata* is widespread in 13 departments, 79 municipalities, and 205 villages located in the northwestern, northeastern and central parts of the country. *Triatoma dimidiata* is not a strictly domiciliated species, presenting a complex epidemiological distribution including sylvatic, peridomestic and domiciliated ecotopes. Non-domiciliated populations can act as reinfestation sources and may be engaged in the transmission of the parasite to humans (3). In Colombia *T. dimidiata* is also occupying different ecological zones in a wide range of altitude: 0 to 2,400m above sea level (7). The domestic and peridomestic populations are found in the northeastern and central zones of Colombia (Boyacá, Casanare, Cundinamarca, Huila and Santander departments); the sylvatic populations are found in the northern part of Colombia (Antioquia, La Guajira, Magdalena and Sucre departments) where the insects are found mainly in palm trees (*Attalea butyracea*). They are associated with a wide range of zones of life (tropical dry forest, humid tropical forest) but no detailed risk mapping has yet been carried out.

Analytical tools such as geographic information systems (GIS), remote sensing and niche modelling have greatly enhanced our ability to evaluate the relationships between environmental factors and vector ecology or disease transmission (8). Remote sensing is increasingly being used to measure environmental and topographic variables and GIS are being used to model these data both spatially and temporally. Remote sensing has the advantage of a wide range of spectral, spatial, and temporal resolutions (9) and global coverage at low or no cost. These properties allow GIS functions to be used to investigate environmental relationships and generate predictive maps and thus focus control measures (10).

Further evidence for the feasibility of risk mapping triatomine bug distributions comes from published risk maps for *T. infestans* (11) based on discriminant analysis using Fourier processed satellite-derived descriptors of air temperature, medium infrared radiation, and a vegetation index, as well as risk maps generated by ecological niche modelling (based on climate, elevation, slope and aspect) of *T. brasiliensis* in northeast Brazil (12), *Triatoma* species in the protracta species complex in México (13), and *T. gerstaeckeri* on the Texas/México border (14). *Triatoma dimidiata* abundance in the Yucatán peninsula of México was positively associated (by Poisson regression analysis) with agriculture and pasture, as opposed to less disturbed habitats: forest or mangrove (8), and was also influenced by wind speed, rainfall, relative humidity, and maximum temperature. Recently Arboleda, *et al.* developed a distribution model of *R. pallenscens* in Colombia and found that vapour pressure deficit is the main variable to describe the distribution of this species in the country (15).

Targeting and surveillance of *T. dimidiata* populations could potentially be improved by the generation of a risk map, i.e., by developing a quantitative prediction of infestation in each village on the basis of a GIS incorporating comprehensively available environmental variables

such as altitude, vegetation and climate, or socioeconomic status.

In fact, several studies have shown that bioclimatic factors can greatly influence triatomine geographic distribution (2,6). As with other vector-borne diseases, the knowledge of vector competence and geographic distribution can allow the development of sensitive tools for disease prediction, and the optimization of planning and implementation of effective control strategies.

In the present work, we explore the relationship between *T. dimidiata* distribution and bioclimatic factors in the northwest, northeastern and central zones of Colombia and develop a predictive model of *T. dimidiata* infestation in the country.

Materials and methods

The study area was located between latitudes 5-11°N and longitudes 72-76°W, including 9 departments. Following the CDCP protocols, entomologic field data from 200 houses belonging to 30 villages were obtained by direct inspection. It included *T. dimidiata* abundance and infection rates by *T. cruzi* for each village. We thus used entomologic data from a total of 300 collection sites.

Images of the land surface temperature (LST), middle infrared (MIR), vegetation index (NDVI) and digital elevation model (DEM) were obtained from the advanced very high resolution radiometer sensor (AVHRR) onboard the meteorological satellites of the National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). The images were obtained from a temporal series of monthly images taken from 1982 to 1999 disseminated by the Spatial Ecology and Epidemiology Research Group (SEEG), Oxford University, UK. The temporal series was analyzed using the Fourier decomposition as described by Hay, *et al.*

All the data were imported into a raster-based GIS (ArcGIS 9.3: ESRI) to build a comprehensive database of entomologic and bioclimatic factors for the study area. Bioclimatic data matching each 300 *T. dimidiata* collection sites were then extracted from the database for statistical analysis and modelling.

A simple random sample of 142 collection sites was taken from the total of the collection sites. This sample was used to build a logistic regression model of the probability of presence of *T. dimidiata*, using a stepwise (forward) procedure to select for variables significantly associated with the response variable and to reduce potential co-linearity problems. Goodness of fit of the models was assessed with

the Hosmer and Lemeshow test. The response variable was defined as presence of *T. dimidiata* and the independent variables were a set of 12 environmental variables. The coefficients from this model were then applied to the values of the predictor variables for the whole country to generate a predicted probability of occurrence between 0 and 1. Statistical analysis was performed in Stata 10.0 software. Maps of predicted probabilities of presence were created using the regression model equations, and the map calculator of the "Spatial Analyst" extensions of ArcGis, version 9.3

Predictions of presence or absence are often assessed by comparing predictions and observations to measure sensitivity (ability to correctly predict "true" positives), specificity (ability to predict true negatives) and κ statistics (the proportion of observations that we would have expected to be incorrectly predicted on the basis of chance, but which are correctly predicted, i.e., a measure of the additional "skill" of the model over chance). We use a procedure previously used in ecologic and veterinary mapping studies and more recently applied in human disease mapping, of plotting sensitivity against (1-specificity) for all thresholds between 0 and 1, to generate a receiver-operator curve. The area under the receiver-operator curve (AUC) gives a single comparable measure of overall model performance.

Results

The variables that did not have a significant association with the presence of *T. dimidiata* were excluded from the logistic regression model by a stepwise (forward) procedure.

The variables obtained with the third model (Dem, MaxNDVI and MinLST) were used to construct the equation for the predictive model. This equation was introduced in the map calculator and after an iteration process developed by the spatial analyst extension of ArcGIS 9.3 we obtained the risk map for *T. dimidiata* (figure 1).

The data about the overall model performance is as follows:

AUC: 0.87; kappa value: 0.82; sensitivity: 93.6%; specificity: 92.1% (table 2 and figure 3). AUC values from 0.5 to 0.7 indicate a poor discriminative capacity, 0.7-0.9 indicate reasonable capacity, and >0.9 indicate a very good capacity; κ values <0.4 can be considered to show poor agreement; 0.4-0.75, good agreement; and above 0.75 excellent agreement (Rogers, 2006).

Our model shows a reasonable discriminative capacity and an excellent agreement. MaxNDVI

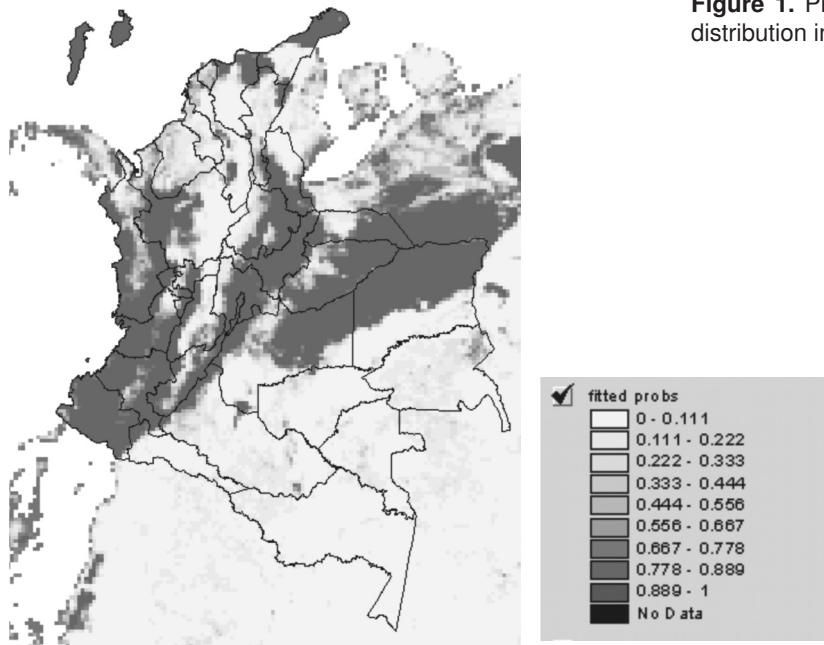


Figure 1. Predictive model for *Triatoma dimidiata* distribution in Colombia

and MinLST variables have the highest values in presence sites and the lowest values in absence sites. Both NDVI and LST play an important role in the humidity of a place, especially for species with stenohydric status as *R. pallenscens* and *P. geniculatus*. This results shows that *T. dimidiata* could be a stenohydric specie too. According to the predictive model, this species should be targeted in the central and east zones of the country (where domiciliated species are found), but not in the northwest region of the country where the populations are sylvatic. The high prediction of the model in the west region of the country (pacific region) should be validated by field work, at the moment, no data about *T. dimidiata* in this zone is registered.

References

1. Parra-Henao G, Angulo V, Jaramillo N, Restrepo M. Triatomines (Hemiptera: Reduviidae) de la Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. Aspectos epidemiológicos, entomológicos y de distribución. *Rev CES Medicina*. 2009;23:17-26.
2. Organización Mundial de la Salud. Control de la enfermedad de Chagas. Segundo informe del comité de expertos de la OMS. Serie de informes técnicos 905. Geneva: OMS; 2002.
3. Ramírez CJ, Jaramillo CA, Delgado M, Pinto N, Aguilera G, Guhl F. Genetic structure of sylvatic, peridomestic and domestic populations of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) from an endemic zone of Boyacá, Colombia. *Acta Trop*. 2005;93:23-9.
4. Padilla JC. Situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia. En: Guhl F. Memorias, Primer Taller Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas. Bogotá; Universidad de los Andes; 2005. p. 19-24.
5. Dorn P, Monroy C, Curtis A. *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811): A review of its diversity across its geographic range and the relationship among populations. *Infect Genet Evol*. 2007;7:343-52.
6. Monroy MC, Bustamante DM, Rodas AG, Enriquez ME, Rosales RG. Habitats, dispersion and invasion of sylvatic *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Petén, Guatemala. *J Med Entomol*. 2003;40:800-6.
7. Angulo VM. Ensayo de estrategias de control y vigilancia de *Triatoma dimidiata* en Colombia. En: Guhl F. Memorias, Primer Taller Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas. Bogotá; Universidad de los Andes; 2005.
8. Dumonteil E, Gourbiere S. Predicting *Triatoma dimidiata* abundance and infection rate: a risk map for natural transmission of Chagas disease in the Yucatán peninsula of México. *Am J Trop Med Hyg*. 2004;70:514-9.
9. Beck LR, Lobitz BM, Wood BL. Remote sensing and human health: new sensors and new opportunities. *Emerg Infect Dis*. 2000;6:217-27.
10. Thomson MC, Connor SJ. Environmental information systems for the control of arthropod vectors of disease. *Med Vet Entomol*. 2000;14:227-44.
11. Gorla D. Remotely sensed environmental variables as indicators of *Triatoma infestans* distribution. *Ecologia Austral*. 2002;12:117-27.
12. Costa J, Peterson AT, Beard C. Ecological niche modelling and differentiation of populations of *Triatoma brasiliensis*, the most important Chagas

- disease vector in northeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;67:516-20.
13. Peterson AT, Sanchez-Cordero V, Beard CB, Ramsey J. Ecological niche modelling and potential reservoirs for Chagas disease, México. *Emerging Infect Dis.* 2002;8:662-7.
14. Beard CB, Pye G, Steurer F, Rodriguez R, Campman R, Peterson AT, *et al.* Chagas disease in a domestic transmission cycle in Southern Texas, USA. *Emerging Infect Dis.* 2003;9:103-5.
15. Arboleda S, Gorla DE, Porcasi X, Saldaña A, Calzada J, Jaramillo N. Development of a geographical distribution model of *Rhodnius pallescens* Barber, 1932 using environmental data recorded by remote sensing. *Infect Genet Evol.* 2009;9:441-8.



Epidemiología espacial y periodicidad de la malaria en Venezuela

María Eugenia Grillet

Laboratorio de Biología de Vectores y Parásitos, Instituto de Zoología y Ecología Tropical,
Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

Introducción

La transmisión de patógenos por insectos vectores es un proceso inherentemente espacial y ecológicamente heterogéneo. El origen, dispersión y mantenimiento de una infección requiere del contacto frecuente de huéspedes susceptibles, vectores y huéspedes infectados. Los patrones ecoepidemiológicos, a su vez, resultan de procesos extrínsecos (clima, ambiente) e intrínsecos (dinámicas de poblaciones) operando a varias escalas. En consecuencia, los eventos de infección tienen un comportamiento agregado en el paisaje epidemiológico. Temporalmente, “ondas de infección” surgen particularmente cuando un patógeno invade a un grupo de huéspedes susceptibles y origina, consecuentemente, una epidemia. La dinámica de poblaciones intrínseca, no lineal, de la interacción parásito-huésped genera “frentes epidémicos” aún cuando la infección está establecida (sistema endémico).

En este trabajo ilustraremos cómo la disciplina de la epidemiología espacial permite dilucidar la naturaleza multifactorial y escala dependiente de la malaria producida por *Plasmodium vivax* en el nororiente de Venezuela. Demostraremos que la malaria exhibe estructura de focos heterogéneos, junto con ciclos estacionales (anuales) y epidémicos de largo plazo (multianuales). De allí que la estratificación epidemiológica e identificación de su periodicidad permiten:

- i entender cómo la infección se mueve a través de un paisaje de parches de poblaciones de huéspedes y barreras naturales, y
- ii predecir la emergencia y persistencia de la enfermedad.

Metodología

Mediante el uso de modelos estadísticos explícitamente espaciales y temporales, y de las

aproximaciones de la teoría de metapoblaciones y de la teoría de la ecología del paisaje, describiremos la naturaleza focal de la malaria en Venezuela, y estudiaremos cómo se genera y difunde la “onda de infección” por *P. vivax* en el ambiente. Además, investigaremos las causas de la heterogeneidad en el riesgo de contraer esta infección a distintas escalas espaciales y temporales.

Resultados y discusión

A la escala del paisaje, la estructuración espacial del ambiente físico (topografía, vegetación, vialidad y conectividad) influye en la distribución no aleatoria de las poblaciones de *Anopheles aquasalis* y de los huéspedes, mientras que a escalas intermedias o locales, las interacciones sociales y ecológicas entre huéspedes y el vector explican el patrón de esta infección en el nororiente de Venezuela. Específicamente, la incidencia de la malaria en los “focos activos (*hot spots*)” de transmisión está significativamente asociada a áreas en el paisaje de baja pendiente y elevación, así como con la presencia y cercanía (1-3 km) de los hábitats acuáticos del vector.

La persistencia de la infección, por su parte, se asocia con “parches de huéspedes” (localidades) con tamaños críticos de poblaciones (>1.000 habitantes). El “frente epidémico” de la infección por *P. vivax* se forma en aquellos mosaicos espaciales formados por grandes y pequeñas localidades vecinas debido a la fuerte asincronía en las dinámicas epidémicas entre ambas localidades.

Nuestros resultados sugieren que la “onda” se origina temporalmente y difunde espacialmente desde las grandes y pobladas localidades (con poca o ninguna extinción estacional del parásito) hacia las localidades más pequeñas y menos pobladas, donde la malaria es irregular o muestra dinámicas de extinción frecuentes.

Conclusión

Si la heterogeneidad es la norma en la epidemiología de la malaria, el estudio del componente espacial y temporal de esta infección pueden ser elementos necesarios para su manejo y efectivo control.

Referencias

1. Grillet ME, Jordan G, Fortin MJ. Spatiotemporal Epidemiol. 2010;1:251-9.
2. Grillet ME, Barrera R, Martínez JE, Berti J, Fortin MJ. Am J Trop Med Hyg. 2010;82:194-201.
3. Grillet ME, Martínez JE, Barrera R. Bol Dir Malarial San Amb. 2009;49:193-208.



Distribución espacial y temporal de *Aedes aegypti* en Río de Janeiro, Brasil

N. Honorio¹, C. T. Codeço², R. Lourenço de Oliveira¹

¹ Laboratório de Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz-IOC, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

² Programa de Computação Científica-PROCC, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

Los patrones de transmisión del dengue son determinados por una combinación de factores del huésped humano, virus, vector y el medio ambiente. Para estudiar los indicadores de la distribución espacio-temporal de *Aedes aegypti* en Río de Janeiro y evaluar su relación con el medio ambiente climático y la transmisión del dengue, se seleccionaron tres áreas con diferentes patrones de urbanización: una urbana, una suburbana y una favela.

En estas zonas, se establecieron al azar trampas para capturar *Ae. aegypti*: 40 ovitrampas y 40 MosquiTraps. Las muestras se recolectaron semanalmente desde setiembre de 2006 hasta marzo de 2008, cuando ocurrió una gran epidemia de dengue en Río de Janeiro. Se obtuvieron sueros de los residentes en las tres áreas de estudio entre julio y noviembre de 2007 y febrero-abril de 2008.

Nuestros resultados sugieren un patrón estacional característico de la dinámica de poblaciones del vector. La ovitrampa mostró mayor sensibilidad que MosquiTRAP para detectar la presencia de vectores y discriminar las zonas de alta infestación. Especialmente, las ovitrampas revelaron dos patrones distintos, de alta y baja infestación. El MosquiTRAP identificó áreas con diferentes exposiciones, independiente de la densidad del vector. Se detectaron puntos estratégicos y también se cartografiaron, con gran heterogeneidad en la productividad de *Ae. aegypti*.

Las lluvias que ocurrieron 3-5 semanas antes ejercieron un efecto positivo sobre la densidad de huevos y adultos en cada zona, la temperatura promedio semanal fue mayor de 22-24 °C y se asoció a una gran abundancia del vector y aumento del riesgo de transmisión.

Durante la epidemia de dengue en 2008, encontramos la circulación simultánea de los serotipos DENV-2 y DENV-3 e infecciones recientes de dengue en niños menores de 15 años de edad.

Por otra parte, no se encontró relación espacial significativa entre la infección del dengue reciente y la distribución espacial de *Ae. aegypti* adultos en las áreas de estudio.

Hemos encontrado que la proporción de seroconversión de IgM e IgG difiere según el área e identificamos las infecciones asintomáticas en todas las zonas, lo que sugiere la ocurrencia de un movimiento silencioso de los virus del dengue. Encontramos una asociación entre la edad y la seroprevalencia del dengue en las zonas urbanas y en los barrios pobres. Los resultados indicaron una mayor heterogeneidad espacial del dengue en la zona suburbana y *favelas*, con mayor prevalencia local en los puntos de los barrios con una intensa actividad comercial y movimiento humano.

Los estudios longitudinales de dengue y *Ae. aegypti* en las zonas urbanas proporcionan una mejor comprensión de la dinámica de transmisión y proveen insumos para la aplicación de estrategias más eficaces para el control de vectores.



Simposio

TRIATOMA VIRUS, NUEVA ESTRATEGIA PARA EL CONTROL VECTORIAL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Triatoma virus, nueva estrategia para el control vectorial de la enfermedad de Chagas

Diego M. A. Guérin, Jon Agirre

Unidad de Biofísica, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa, España

Desde su implementación en Latinoamérica a partir de 1991, las campañas regionales de control vectorial de triatomínicos transmisores de Chagas (Iniciativa del Cono Sur; Iniciativa Andina, etc.) han arrojado resultados muy positivos (WHO, 2007). Sin embargo, hay algunas cuestiones relacionadas con la desinsectación basada en el rociado de agentes químicos que no pueden resolverse mediante este abordaje. Unos de esos problemas son la dificultad de controlar los insectos no domiciliarios y la resistencia a los piretroides observada en regiones del Chaco (Germano, *et al.*, 2010; Lardeux, *et al.*, 2010).

En esta presentación se expondrán algunos aspectos epidemiológicos y biológicos que han llevado a calificar como prioritaria la búsqueda de nuevas e innovadoras estrategias para el control vectorial de la enfermedad de Chagas (TDR, 2009). Una de las herramientas empleadas en el control de insectos es la que favorece el desarrollo de sus enemigos naturales (Hajek, 2004). Aunque se han identificado y caracterizado varios patógenos de triatomínicos (Marti, *et al.*, 2009), el virus del triatoma (TrV), aislado de *Triatoma infestans* (Muscio, 1988), aparece como uno de los candidatos para realizar el control biológico de los vectores de *T. cruzi*.

Sin embargo, la complejidad de la enfermedad de Chagas, los hábitos alimentarios de los insectos, la diversidad de ecótopos y la extensión geográfica en la que viven, hacen de esta propuesta un proyecto biológico y tecnológico de gran dimensión y complejidad. Algunos de esos problemas son de implementación, en la que se incluiría la producción masiva de virus; otro surge del hecho de que el material genético de TrV está codificado en ARN y éste está sujeto a una elevada mutabilidad y, también, se plantean cuestiones generales de seguridad y distribución.

La red iberoamericana para el estudio del control biológico con trv de triatomínicos transmisores de la enfermedad de Chagas (RedTrV), es un consorcio internacional e interdisciplinar que reúne a más de 30 centros de investigación y pequeñas empresas biotecnológicas, todos pertenecientes a 17 países de Latinoamérica y Europa. Este consorcio se encuentra abocado a la tarea de sentar las bases científicas y tecnológicas para el empleo de TrV como agente activo del control de triatomínicos. Entre los objetivos de la red se encuentra la realización de una prospección en América Latina del virus TrV, su caracterización molecular, la evaluación del riesgo de un salto entre especies, y el estudio de una posible competencia entre TrV y *Trypanosoma cruzi*.

En este simposio se tratarán algunos aspectos de las investigaciones en curso y las perspectivas de futuras investigaciones relacionadas al virus TrV y su potencialidad como agente de control de triatomínicos.

Referencias

1. Hajek H. Natural enemies. An introduction to biological control. Cambridge: University Press; 2004.
2. Germano MD, Vassena CV, Picollo MI. Autosomal inheritance of deltamethrin resistance in field populations of *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) from Argentina. Pest Manag Sci. 2010;66:705-8.
3. Lardeux F, Depickère S, Duchon S, Chávez T. Insecticide resistance of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) vector of Chagas disease in Bolivia. Trop Med Int Health. 2010;15:1037-48.
4. Martí GA, Echeverría GE, Susevich ML, Becnel JJ, Pelliza SA, García JJ. Prevalence and distribution of parasites and pathogens of *Triatominae* from Argentina, with emphasis on *Triatoma infestans* and *Triatoma virus* TrV. J Invertebrate Pathol. 2009;102:233-7.

5. TDR. Annual report 2009: Innovative vector control interventions. TDR Business Line 5: <http://apps.who.int/tdr/svc/publications/about-tdr/annual-reports/bl5-annual-report>.
6. WHO. Reporte sobre la enfermedad de Chagas. Grupo de Trabajo Científico. 17-20 de abril de 2005, actualizado en julio de 2007. Buenos Aires, Argentina.



Desafío tecnológico para el control de triatominos en la enfermedad de Chagas y la lucha contra las enfermedades de la pobreza

Eusebio Gainza

Praxis Biopharma Research Institute, Vitoria-Gasteiz, País Vasco, España

Introducción

La tripanosomiasis americana constituye en la actualidad una pandemia en Latinoamérica que, como enfermedad infecto-contagiosa y asintomática de gran parte de sus portadores en una de las fases de la enfermedad, es un problema mundial de interés. Por ello, consideramos imprescindible dirigir nuestros esfuerzos de investigación y desarrollo hacia lograr un manejo integrado y efectivo de la tripanosomiasis americana, que permita una rápida acción directa y efectiva para el control vectorial de forma general en las zonas afectadas.

Para ello, siendo conscientes de las resistencias que han generado muchos de los pesticidas utilizados y las crecientes limitaciones legales hacia este tipo de productos, debemos profundizar en el desarrollo tecnológico de nuevos biopesticidas que complementen o sustituyan a los actuales, usando, no solamente nuevas formulaciones, sino poniendo especial hincapié tanto en nuevos principios activos, como en novedosas microtecnologías y nanotecnologías que hasta hace pocos años no habían estado disponibles.

Enfoque de los nuevos desafíos tecnológicos

El generar nuevos productos biopesticidas no es una tarea sencilla, ya que a las fases de investigación siempre le va a seguir la necesidad de realizar los correspondientes estudios toxicológicos y de campo (fases I, II y III), que garanticen la seguridad y eficacia para su uso, antes de poder lanzar un nuevo producto que utilice ingredientes activos autorizados, naturales o novedosos. Sin embargo, tan importante como los principios activos son las formulaciones que se van a utilizar, que logren acceder y actuar ante los diferentes tipos de vectores de una forma continua y sin crear rápidamente resistencias.

Es por ello que consideramos necesario cambiar el enfoque en las búsquedas de las diferentes alternativas posibles para la erradicación de los vectores de la enfermedad de Chagas y nos

planteamos la necesidad de un manejo integrado enfocado en, al menos, los siguientes aspectos, que han podido ser ya tratados aisladamente por otros proyectos y programas:

- Vectores de transmisión y sus controles biológicos naturales dentro de la Familia Reduviidae, pertenecientes a los géneros *Triatoma* sp., *Rhodnius* sp. y *Panstrongylus* sp.: *Triatoma virus*; *Triatoma infestans* (Klug, 1834), *Triatoma brasiliensis* (Neiva, 1911), *Triatoma sordida* (Stal, 1859), *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), *Triatoma americana*, *Triatoma protacta* (Uhler, 1894)), *Triatoma maculata* (Erichson, 1848), *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859), *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835).
- Posible relación de los vectores y sus posibles controles biológicos con la biología del agente causal de la enfermedad (*Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) cepas I y II;
- Estudios y tratamientos adecuados a la variabilidad de los ecosistemas de las zonas geográficas potencialmente afectadas: productos posibles y actuales en fase de desarrollo y utilización, resistencias, etc.

Dichos aspectos deben ser analizados y manejados con un enfoque integral desde el punto de vista biológico, económico, legal y social. Se han de analizar los datos de interés de la literatura de referencia, y de ésta, cuáles estudios, ya sean toxicológicos o de eficacia y eficiencia son determinantes en los diversos grupos de población y corroboran científicamente aspectos importantes en el tema que se investiga.

Con los anteriores elementos, se pretende desarrollar una línea de investigación, base para propuestas de proyectos de desarrollo en colaboración, que incluyan la participación de otras entidades necesarias para el desarrollo de los estudios que sean pertinentes, entre las que podemos destacar un buen número de los socios de la RedTrV (CYTED, Acción 209RT0364; <http://www.redtrv.org>) y empresas, como Chemotecnica

(Argentina) e Inesfly y Praxis (España), entre otras.

Principios activos novedosos y más ecológicos

El trabajo realizado con el triatoma virus, en la RedTrV está siendo imprescindible tanto en el estudio de la acción de este virus contra las diferentes subespecies de vinchucas, como en el análisis de la situación actual y selección final de uno o varios principios activos y coadyuvantes, capaces de tener una acción efectiva y rápida sobre los diversos estadios de estos insectos (huevos, larvas y adultas).

En este sentido, vemos fundamental considerar en la fase previa la comparación y selección de, al menos, los siguientes compuestos, dentro de los que han demostrado efectividad contra insectos de órdenes cercanos a los triatominos.

Acción biológica:

- Triatoma virus
- *Serratia marcescens*
- *Bacillus thuringiensis*
- Hongos filamentosos
- Acción bioquímica.
- Inhibidores de quitina
- IGR (reguladores del crecimiento de insectos y los análogos a la hormona juvenil de crecimiento de los artrópodos
- Feromonas

Ingredientes activos obtenidos de sustancias naturales, (ver cuadro al final de la página).

Acción biofísica, dos áreas de interés:

- Nanopartículas
- Aceites y lípidos

Evidentemente su acción debe ser comparada con los piretroides, base de los actuales pesticidas usados en el control de este tipo de vectores, buscando mayor eficacia y menor toxicidad:

Nuevos biopesticidas	Pesticidas actuales basados en piretroides
Elevada eficacia por la acción múltiple	Menor eficacia
Sin resistencias	Gran posibilidad de aparición de resistencias
Mayor persistencia por las microcápsulas poliméricas (MPI)	Menor persistencia. Mayor frecuencia de aplicación
Nula toxicidad para el usuario	Posible toxicidad para el usuario
Nula toxicidad para el medio ambiente	Posible toxicidad para el medio ambiente
Facilidad para la homologación al ser productos naturales y ecológicos	Complicados proceso de homologación por el uso de activos insecticidas de síntesis

Nuevas formulaciones más efectivas y para evitar resistencias

Se pretende ensayar varios procesos de formulación-liberación controlada de los principios activos:

- Tecnologías de microencapsulación, tales como las que viene desarrollando Inesfly, considerándose necesario ver la viabilidad producto-producto, de las microcápsulas para la liberación controlada y de los principios activos biotecnológicos o bioquímicos, así como la acción de otros coadyuvantes, que permitan la infestación o acción tóxica sobre las vinchucas usando técnicas de liberación por rociado

Principios activos	Compuesto	Planta	Modo de acción
Piretrinas	Ésteres del ácido crisantémico y pirétrico	<i>Chrysanthemum cinaerifolium</i>	Contacto, ingestión y repelente Bloqueo de las entradas de sodio a los canales del sistema nervioso
Nicotina	Alcaloide	<i>Nicotiana tabacum</i>	Contacto Mimetiza la acetilcolina
Anabasina o neonicotina		<i>Anabasis aphylla</i>	Contacto Mimetiza la acetilcolina
Rianodina	Alcaloide	<i>Riania speciosa</i>	Contacto e ingestión Impide la contracción de los músculos.
Azadiractina (Neem)	Tetraterpenoide	<i>Azadirachta indica</i>	Acción antialimentaria, reguladora del crecimiento, inhibidora de la oviposición y esterilizante
Meliartenin (extracto de paraíso)	Limonoide	<i>Melia azedarach</i>	Acción antialimentaria

clásico, protecciones individuales personales y repelentes personales.

- Formulación conjunta de los biopesticidas con componentes de acción física nanoestructurados. Se está pensando en experimentar la combinación de los compuestos microencapsulados con nanopartículas de óxidos inorgánicos o nanopartículas lipídicas, que puedan actuar como repelentes o coadyuvantes.

Cooperación para avanzar más rápidamente

El interés para Praxis, evidentemente, es avanzar lo más rápidamente posible en el desarrollo de nuevos productos, para ello cuenta con la colaboración de los miembros de la RedTrV y la implicación directa de algunos socios que apuestan claramente poniendo sus medios y tecnológicos y materiales:

- Facultad de Veterinaria, Universidad Nacional de la Plata, Argentina
- FIOCRUZ, Brasil
- Chemotecnica, Argentina
- SRCT, Servicio de Recursos Científicos y Técnicos de Bolivia
- Universidad del País Vasco
- Fundación L'Urederra, España
- Inesfly, S.L., España

Referencias

1. Babie ER. The basis of social research. Second edition. Wadsworth /Thompson Learning, USA; 2002.
2. Barnes RD. Zoología de los invertebrados. Tomo I. Edición Revolucionaria. 1986.
3. Gispert. Fte: 592 (084.4) zoo. Biblioteca UPV; 1996.
4. Gueri-Guttenberg, *et al.* Chagas cardiomyopathy: Europe is not spared. *Eur Heart J.* 2008;(29).



Especies susceptibles y prospección de triatoma virus en triatominos de Latinoamérica*

G. A. Martí¹, M. L. Susevich^{1,2}, A. Balsalobre¹, D. M. A. Guérin³, N. L. González⁴, F. Guhl⁴, M. G. Echeverría²

¹ Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, La Plata, Argentina

² Cátedra de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina

³ Unidad de Biofísica, Leioa, España

⁴ Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia.

* Esta comunicación es parte de un futuro trabajo con la coautoría de todos los integrantes de la RedTrV que participaron en los ensayos aquí mencionados.

Introducción

El triatoma virus (TrV) es el único virus citado en triatominos, hasta el momento, del cual se ha realizado su caracterización bioquímica, molecular

5. Guérin DMA. Triatoma virus (TrV): from structure to function. First Iberoamerican Workshop on Chagas Disease, Triatomine vectors, *T. cruzi*, and Triatoma virus. Centro de Malária e Outras Doenças Tropicais, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, September 13-16, 2010, Lisbon, Portugal.
6. IDRC/CDRI/ICA. Proyecto piloto de vigilancia en Argentina-Bolivia; 2009.
7. Mas-Coma S, Bargues. () Populations, hybrids and the systematic concepts of species and subspecies in Chagas disease triatomine vectors inferred from nuclear ribosomal and mitochondrial DNA. Elsevier; 2009.
8. Ministerio da Saude do Brasil. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas.
9. Mosqueira. Evaluation of the efficacy of a new insecticide paint for malaria control. Part II. *Malaria J.* 2011.
10. Rozas-Dennis GS, Prat, Universidad Nacional del Sur, Argentina. Protein and antigenic identity of TrV particles isolated from *Triatoma guasayana*. First Iberoamerican Workshop on Chagas Disease, Triatomine vectors, *T. cruzi*, and Triatoma virus. Centro de Malária e Outras Doenças Tropicais, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, September 13-16, 2010, Lisbon, Portugal.
11. Schmitt SD. Manual de técnicas de gestión de vida silvestre. WWF; 1980.
12. Stevens *et al.* Stevens JR, Noyes HA, Schofield CJ, Gibson W. The molecular evolution of Trypanosomatidae; 2001.
13. Stich y Steverding. August Stich, Dietmar Steverding: Die Rückkehr einer Seuche: Trypanosomen. *Biologie in unserer;* 2002.
14. Storer. Zoología de Invertebrados; 1986.

y cristalográfica (Muscio, *et al.*, 1988, Czibener, 2003; Czibener, *et al.*, 2000; Rozas-Dennis, *et al.*, 2004). El ARN de TrV ha sido secuenciado completamente, permitiendo esta información ubicarlo dentro de

la familia Discistroviridae, cuya especie tipo es el virus de la parálisis del grillo, ubicada en el género Cripavirus (ICTVdB, 2002).

Los estudios con TrV permitieron determinar que las vías de transmisión son vertical (transovárica) y horizontal (canibalismo y coprofagia) y que, además, causa retardo en el desarrollo, disminución de la oviposición y muerte prematura. Estas características de la infección llevaron a que sus descubridores propusieran emplear a TrV como agente biológico para el control de triatominos transmisores de la enfermedad de Chagas.

La susceptibilidad de las especies se ha determinado por vía oral, vía intrahemocélica y, naturalmente, en el campo. Por vía oral (ingestión de partículas virales) se observó la susceptibilidad en *Triatoma infestans* (Muscio, 1988; Rozas-Dennis, Cazzaniga, 2000; Martí, 2005); *T. guasayana* (Rozas-Dennis, Cazzaniga, 1997) y *T. patagonica* (Rozas-Dennis, *et al.*, 2002). Por vía intrahemocélica TrV replicó en todas las especies inoculadas, *T. infestans*, *T. platensis*, *T. delpontei*, *T. pallidipennis*, *T. rubrovaria* y *R. prolixus* (Muscio, 1988), y por ingestión infectó *T. infestans* (Muscio, 1988; Rozas-Dennis, Cazzaniga, 2000), *T. patagonica* (Rozas-Dennis, *et al.*, 2002) y *T. guasayana* (Rozas-Dennis, Cazzaniga, 1997).

Muscio en 1988 mencionó la presencia de TrV en *T. infestans* capturados en un peridomicilio en la provincia de Córdoba. Posteriormente, en la misma región, fue encontrado por Martí en 2005 y, luego de varios años de muestreo, en el laboratorio del CEPAVE se ha registrado en *T. infestans* en siete provincias en domicilios y peridomicilios y en *T. sordida* en un domicilio de la provincia de Chaco (Martí, *et al.*, 2009).

Teniendo en cuenta las tres vías de infecciones por TrV, la nómina de especies susceptibles es de nueve especies y en la naturaleza se restringe solamente a Argentina. Por dicho motivo, durante los últimos años estamos trabajando en tres aspectos: 1) ampliando la búsqueda de TrV en el campo, 2) analizando colonias de triatominos en diferentes insectarios de Latinoamérica y 3) realizando inoculaciones en otras especies de triatominos.

Materiales y métodos

Durante los dos últimos años se han llevado a cabo ocho viajes de campaña a la provincia de Chaco (Argentina) realizando capturas de triatominos en todos sus ambientes: domicilios, peridomicilios y silvestres. La captura de los insectos se realizaron de forma activa manualmente y pasiva por medio de trampas Noireau y trampas de luz.

Se analizaron 14 insectarios pertenecientes a 8 países (Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Guatemala, Perú, México y Venezuela) enviando todas las muestras al CEPAVE. Los insectarios analizados fueron desde Argentina (Dr. G. Martí, CEPAVE, y Sra. Delmi Canale, Centro de Referencia de Vectores y Coordinación Nacional de Control de Vectores, Santa María de Punilla, Córdoba), uno de Bolivia (Dr. F. Noireau, IIBISMED, Cochabamba), uno de Colombia (Dr. F. Guhl, Universidad de los Andes, Centro de Investigación en Microbiología y Parasitología Tropical, Bogotá), dos de Chile (Dr. P. Cattán, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Norte, y Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Sur), uno de Ecuador (Dr. M. Grijalva, Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas, CIEI), uno de Guatemala (Dra. C. Monroy, Universidad de San Carlos, Escuela de Biología, LENAP/USAC), cuatro de Perú (Dr. A. G. Cáceres, Laboratorio de Parasitología, Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional San Agustín de Arequipa, Laboratorio de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical “Daniel A. Carrión”, UNMSM, Lima, Laboratorio del Área de Vigilancia y Control de Vectores, Dirección Regional de Salud Moquegua y Sección de Entomología, Instituto de Medicina Tropical “Daniel A. Carrión” UNMSM, Lima), uno de México (Dra. P. M. Salazar Schettino, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de México, UNAM) y uno de Venezuela (Dra. M. D. Feliciangeli, Universidad de Carabobo, Maracay, CNRFV-BIOMED).

La detección del TrV fue realizada por RT-PCR (*reverse transcription-polymerase chain reaction*) y microscopía electrónica (ME) descritas por Martí, *et al.* (2008) y las especies analizadas fueron 22 (*Meccus mazzottii*, *M. pallidipennis*, *M. picturatus*, *Panstrongylus chinai*, *P. geniculatus*, *P. rufotuberculatus*, *Rhodnius ecuadoriensis*, *R. pict*, *R. prolixus*, *R. robustus*, *Triatoma carrioni*, *T. delpontei*, *T. dimidiata*, *T. garciabesi*, *T. guasayana*, *T. infestans*, *T. maculata*, *T. nitida*, *T. patagonica*, *T. phyllosoma*, *T. platensis* y *T. sordida*).

Se realizaron inoculaciones en el CEPAVE en conjunto con investigadores de la Universidad de los Andes, Centro de Investigación en Microbiología y Parasitología Tropical, a cargo del doctor Guhl. Las especies inoculadas fueron: *T. infestans*, *T. pallidipennis*, *T. phyllosoma*, *T. dimidiata*, *T. guasayana*, *T. maculata*, *T. patagonica*, *D. maxima*, *R. prolixus* y *R. ecuadoriensis*.

Resultados y discusión

En el campo se encontraron tres nuevas

especies con la presencia de TrV las cuales fueron encontradas en nidos de aves en la localidad de El Palmar, Chaco: *T. infestans*, *T. delpontei* y *Psammolestes coreodes* (Susevich, *et al.*, 2010).

Luego del análisis de todas las muestras analizadas de los 14 insectarios, sólo se detectó la presencia de TrV en las muestras *T. infestans* de ambos insectarios de Argentina. Ninguna de las otras muestras de los 12 insectarios restantes analizados fue positiva para el virus.

En las inoculaciones se han obteniendo resultados de contagio a TrV muy variables desde porcentajes elevados como *T. infestans* (100 %) y *T. patagónica* (95 %) a 12,5 % en *T. pallidipennis* y *T. phyllosoma*.

Los resultados obtenidos hasta el momento reflejan que el virus en los insectarios sólo se ha encontrado en *T. infestans* en Argentina. También en la naturaleza la presencia de TrV se observó en *T. infestans* en domicilios, peridomicilios y en nidos de aves. Esta información sumada a que también se encontró TrV en otras especies (*T. delpontei* y *P. coreodes*) en ambientes silvestres nos está indicando que este virus está circulando en forma natural entre especies que se han observado en algunos casos el mismo nicho ecológico. En las inoculaciones se observó una cierta especificidad de TrV en especies cercanas evolutivamente a *T. infestans*.

Estos trabajos se realizaron con financiamiento parcial de los siguientes organismos: CYTED (www.cytcd.org) Acción 209RT0364; Gobierno Vasco, Acciones Complementarias AE-2009-1-21. España; y PICT n° 32618/05 (ANPCyT), Argentina.

Bibliografía

- Czibener C, La Torre JL, Muscio OA, Ugalde RA, Scodeller EA.. Nucleotide sequence analysis of triatoma virus shows that it is a member of a novel group of insect RNA viruses. *J Gen Virol.* 2000;81:1149-54.
- Czibener C. Caracterización molecular del virus de triatoma (TrV) (tesis). San Martín: Universidad Nacional de General San Martín; 2003.
- International Committee of Taxonomy of Viruses, Index 2002, on line.
- Martí GA. Parásitos, patógenos y flora fúngica intestinal de triatominos (Hemiptera: Reduviidae) de la Argentina, con énfasis en *Triatoma infestans* (Klug) (tesis). La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2005.
- Martí GA, González ET, García JJ, Viguera AR, Guérin DMA, Echeverría MG.. AC-ELISA and RT-PCR assays for diagnosis of triatoma virus (TrV) in triatomines (Hemiptera: Reduviidae) species. *Arch Virol.* 2008;153:1427-32.
- Martí GA, Echeverría MG, Susevich ML, Becnel JJ, García JJ. Prevalence and distribution of some parasites and pathogens of Triatominae from Argentina, with emphasis on *Triatoma infestans* and Triatoma virus TrV. *J Invertebrate Pathol.* 2009.
- Muscio OA, La Torre JL, Scodeller EA. Characterization of Triatoma virus, a picorna-like virus isolated from the triatomine bug *Triatoma infestans*. *J Gen Virol.* 1988;69:2929-34.
- Rozas-Dennis GS, Cazzaniga NJ. Triatominos de Bahía Blanca: respuestas biológicas a la infección con un picornavirus. *Medicina.* 1997;57(Supl.3): 85-91.
- Rozas-Dennis GS, Cazzaniga NJ.. Effects of Triatoma virus (TrV) on the fecundity and moulting of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Ann Trop Med Parasitol.* 2000;94:633-41.
- Rozas-Dennis GS, Cazzaniga NJ, Guerin DM. *Triatoma patagonica* (Hemiptera, Reduviidae), a new host for Triatoma virus. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002;97:427-9.
- Rozas-Dennis GS, Squires G, Pous J, Costabel MD, Lepault J, Navaza J, Rey FA, Guerin DMA. Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of Triatoma virus (TrV) from *Triatoma infestans*. *Acta Crystallogr.* 2004;60:1647-50.
- Susevich ML, Martí GA, Balsalobre A, García JJ, Echeverría MG. ACCESSION HM044312, ACCESSION HM044313 y ACCESSION HM044315 Triatoma virus TDE1-ARG, TIN1-ARG y PCO1-ARG strain capsid protein partial cds. Triatoma virus diversity in Argentina M.G. GenBank, National Institute of Health; 2010.



Infectividade do vírus de triatoma em modelo animal

Jailson Fernando Brito Querido, Marcelo Sousa Silva

Unidade de Ensino e Investigação de Clínica Tropical, Centro de Malária e Outras Doenças Tropicais, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal

O triatoma virus (TrV) é um patógeno de *Triatoma infestans*, o mais importante agente responsável pela transmissão do protozoário *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas ou tripanosomose americana. Devido a transmissão vertical e a alta patogenicidade em *Triatoma infestans*, o TrV poderá ser considerado uma potencial ferramenta no controlo vectorial dos triatomíneos. Entretanto, muitos outros estudos ainda precisam ser elaborados para confirmar esta hipótese.

Neste contexto, o objectivo deste estudo é avaliar a possível infectividade do TrV em modelo animal, mais particularmente, no modelo de roedores. Para tal, animais *Mus musculus* Balb-C foram utilizados para os ensaios de infectividade frente a diferentes concentrações do TrV quando injetados pela via intraperitoneal. Cinco grupos de animais, cada grupo constituído de três animais, foram injetados com 100 µl de TrV nas concentrações de 30,0 µg/mL (Grupo 1); 3,0 µg/mL de TrV (Grupo 2) e 0,3 µg/mL de TrV (Grupo 3). Dois grupos controlos foram utilizados: 100 µl de PBS (Grupo 4) e 100 µl de partículas vazias de TrV 30 µg/mL (Grupo 5). Possíveis sinais de infecção e amostras de sangue

de todos os animais foram colectadas nas primeiras 24, 48, 72 e 96 horas após a injeção.

Resultados preliminares demonstram que a administração de TrV, nas concentrações utilizadas e pela via intraperitoneal, não parece induzir qualquer sinal clínico associado à infecção. Laboratorialmente, também não foi possível detectar a presença de TrV nas amostras de sangue obtidas nas primeiras 48 horas, quando analisadas por RT-PCR.

Entretanto, espera-se a confirmação destes resultados após a análise dos períodos após as 48 horas, 30 e 45 dias da injeção com TrV. Adicionalmente, a pesquisa de anticorpos anti-TrV poderá contribuir para a validação destes resultados, uma vez que a possível não-infectividade do TrV em mamíferos, anteriormente proposto por Muscio e colaboradores (Muscio, *et al.*, J Med Entomol. 2000;37:271-5) poderá contribuir para a sua potencialização como uma ferramenta no controlo biológico dos triatomíneos.

Agradecimentos: este trabalho realiza-se no âmbito da RedTrV - CYTED (Ação 209RT0364) e com financiamento parcial do Governo Vasco – Espanha (Ação complementar AE-2009-1-21).



Modelo matemático de propagación del triatoma virus en *Triatoma infestans*

Jorge Rabinovich¹, Gerardo Martí¹, Soledad Ceccarelli¹, Agustín Balsalobre¹, Carlos M. Hernández²

¹ Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina

² Facultad de Ciencias, Universidad de Colima, Colima, Colima, México

Introducción

El triatoma virus (TrV) es el único virus entomopatógeno conocido de los triatomíneos. Ha sido aislado en insectarios donde aparece de manera accidental produciendo mortalidades elevadas de más del 90 % (Muscio, *et al.*, 1987), aunque también ha sido encontrado en condiciones silvestres (Martí, *et al.*, 2009). Este virus fue aislado en colonias de *Triatoma infestans* (Muscio, *et al.*, 1987), pero luego también en poblaciones naturales de *T. infestans* en siete provincias Argentinas (Martí, *et al.*, 2009).

El TrV es un virus ARN de cadena simple, clasificado como perteneciente a la familia Picornaviridae (Muscio, *et al.*, 1988) y reclasificado posteriormente como miembro de la familia Dicistroviridae, cuyo único género es Cripavirus. El TrV se puede replicar dentro del citoplasma de las células del aparato digestivo de los triatomíneos (Muscio, *et al.*, 1988). Algunas de las consecuencias de la infección por el TrV son efectos patológicos que se manifiestan por un incremento en la mortalidad, un retraso en el tiempo de desarrollo, y una reducción en la fecundidad (Muscio, *et al.*,

1987; Rozas-Dennis, Gazzaniga, 2000). Todos estos efectos tienen un correlato en la dinámica de poblaciones de los triatomíneos, en el sentido de reducir su tasa de crecimiento de población y alterar su estructura de edades o estadios.

En los planes de evaluación de agentes de control biológico, el uso de modelos matemáticos (de dinámica de poblaciones y de optimización del control) son una herramienta que permite estudiar, analizar y “predecir” de forma cuantitativa los posibles efectos que pueden tener las variables biológicas, ecológicas y de control sobre la reducción de las poblaciones plaga en el tiempo. Por ello se elaboró un modelo matemático del ciclo de vida de *T. infestans*, que servirá de base para ser incorporado en un modelo de control biológico.

Dicho modelo se basa en establecer relaciones funcionales entre las principales variables de contagio (tasa de defecación, abundancia de heces, viabilidad del TrV en heces en función del tiempo de producidas, distribución espacial de las vinchucas, frecuencia de contacto entre vinchucas libres de TrV y las heces, y tasa de infección propiamente dicha como resultado de dicho contacto). No existen modelos previos que hayan contemplado las variables que se necesitan para este tipo de objetivo. Se deben establecer parámetros del modelo (figura 1) con base en los

experimentos de laboratorio, y en función de las predicciones obtenidas por simulación se inicia un proceso de retroalimentación entre experimentación y simulación. Dicho modelo permitirá establecer cuáles de esas variables y parámetros representan los componentes más esenciales para la fase de experimentación.

Métodos

Se ha representado el ciclo de vida de *T. infestans* con base en un modelo matricial de estadios de desarrollo: huevos, cinco estadios de ninfa (N1, N2, N3, N4, y N5) y adultos (sólo de la población hembra); se utilizó la semana como unidad de tiempo. Este modelo constituye lo que se denomina una matriz de transición, y depende de la estimación de tres tipos de parámetros: la probabilidad de un individuo de seguir vivo en su mismo estadio (G_i), la probabilidad de un individuo de pasar vivo del estadio en que se encuentra al siguiente estadio (P_i), y la fecundidad de las hembras en términos de huevos ♀/♀/semana (F) (figura 2). A esta matriz se “acopló” la presencia de triatomíneos infectados por TrV (identificados con un asterisco en la figura 2). El subíndice i representa el estadio.

La transmisión se ha representado de una manera genérica (sin diferenciar entre las posibles vías de infección vertical y horizontal), lo que será objeto de un análisis experimental posterior.

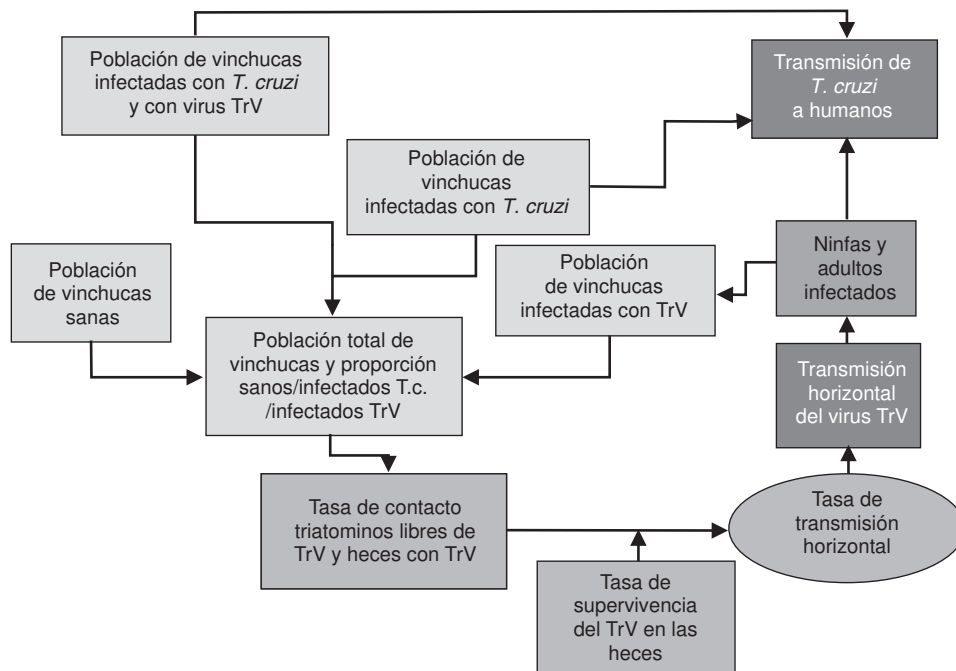


Figura 1. Esquema general del modelo de transmisión de TrV en *Triatoma infestans* (se ha incluido en este esquema el proceso de inhibición –unilateral o bilateral– entre TrV y *Trypanosoma cruzi*) para su futura evaluación.

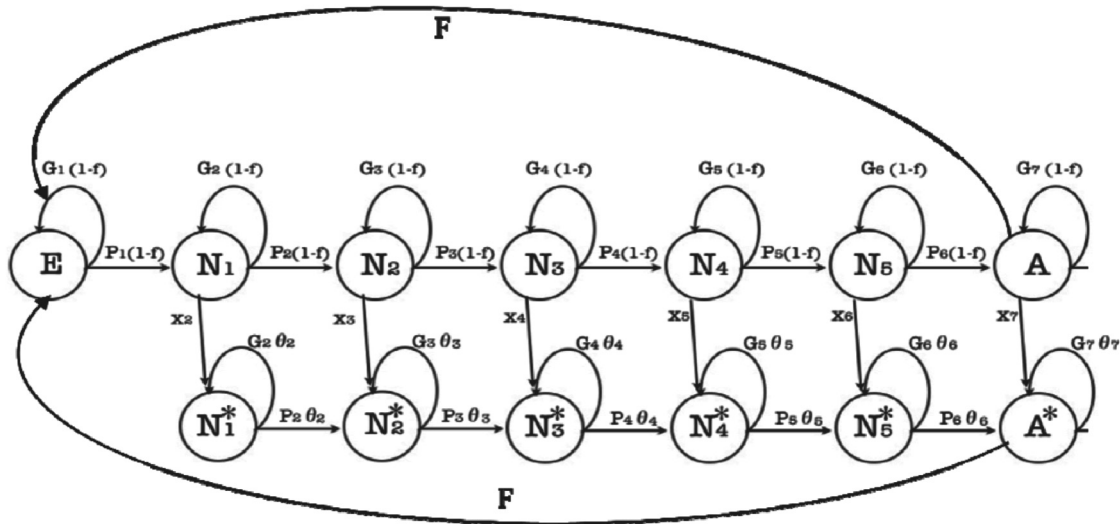


Figura 2. Ciclo de desarrollo de *Triatoma infestans* “sanos” acoplados al desarrollo de *Triatoma infestans* infectados por TrV (estadios con asterisco) (véase el texto para la interpretación de los símbolos).

Los parámetros relacionados a la transmisión son:

f : “fuerza de infección”, o intensidad de la posibilidad de “contagio” por el TrV por vía horizontal o vertical por unidad de tiempo. Se ha supuesto un valor único de f para todos los estadios, lo cual será modificado cuando se tengan los resultados experimentales.

θ_i ; medida del efecto del TrV sobre un individuo perteneciente al estadio i ($0 \leq \theta_i \leq 1$); es la probabilidad de supervivencia (a mayor valor de θ , menor es el efecto de la infección por TrV); la probabilidad de que un individuo sano sobreviva hasta la siguiente unidad de tiempo es la suma $(P_i + G_i)$, mientras que para un individuo infectado la supervivencia se reduce a $(P_i + G_i)\theta_i$.

x_i ; son las transiciones de individuos sanos a individuos infectados por el TrV (x_2, x_3, x_4, x_5, x_6 y x_7), y sus valores están dados por $x_i = (P_i + G_i)f$; representan un cambio de “condición” y no de un cambio de estadio.

Una vez determinados los valores de los parámetros f y θ , para representar el gráfico del ciclo de vida como un modelo matemático es necesario estimar P_i y G_i , que se logra mediante las siguientes expresiones:

$$G_i = 1 - (\text{tiempo medio en el estadio } i)^{-1} \quad (1)$$

$$P_i = (1 - G_i) * P(\text{supervivencia del estadio } i \text{ al } i+1) \quad (2)$$

donde P (supervivencia del estadio i al $i+1$) denota la probabilidad de un individuo de pasar vivo del estadio i al estadio $i+1$.

Los valores de los parámetros f y θ , son los de mayor dificultad de estimación; los experimentos para estimarlos se encuentran en desarrollo, por lo que se han utilizado valores aproximados estimados de la bibliografía. Muscio, *et al.* (1987) muestran las diferencias en las ninfas de tercero, cuarto y quinto estadios en los tiempos de desarrollo y las probabilidades de supervivencia entre estadios; también en *T. infestans*, Rozas-Dennis (2007) obtuvo diferencias entre individuos “sanos” e infectados por TrV en las ninfas de primer estadio, y una reducción del orden del 80 % en la oviposición promedio mensual.

Resultados

Los datos estimados de P_i y G_i se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados del procedimiento para estimar las P_i y G_i mediante las fórmulas (1) y (2) para individuos infectados y no infectados. Los tiempos están en semanas y todos los símbolos representan la población ♀. Los “-” implican falta de información bibliográfica.

Estadio (i)	Nombre	No infectados		Infectados	
		G_i	P_i	G_i	P_i
1	Huevo	0,63	0,31	-	-
2	N1	0,65	0,30	0,836	0,06
3	N2	0,71	0,26	-	-
4	N3	0,77	0,20	0,850	0,107
5	N4	0,83	0,15	0,875	0,061
6	N5	0,89	0,09	0,888	0,042
7	Ad♀	0,97	0,00	0,957	0,000

Aplicando los resultados de P_i y G_i a la matriz de transición, se observa que los parámetros de crecimiento de población de *T. infestans* pasan de valores positivos a valores negativos (tabla 2); la tasa de reemplazo pasa de 10 a menos de 1 ♀ reemplazando a cada ♀ en el plazo de una generación, es decir que la población infectada no puede subsistir.

Tabla 2. Comparación de los parámetros poblacionales de *Triatoma infestans* en poblaciones infectadas y no infectadas. Unidades de tiempo en semanas.

Parámetro de población	No infectados	Infectados
r_0 (tasa intrínseca de crecimiento)	0,050	-0,004
R_0 (tasa de reemplazo)	10,18	0,80
T (tiempo generacional)	46,25	60,40

Aspectos experimentales en desarrollo

Están en marcha una serie de experimentos que permitirán:

- estimar el tiempo desde que un insecto adquiere el virus hasta que se detecta como positivo por RT-PCR,
- estimar el porcentaje de transmisión vertical (mediante controles que consisten en huevos esterilizados con hipoclorito de sodio al 5%), y
- estimar el porcentaje de transmisión horizontal combinando en los mismos recipientes insectos

negativos y positivos (marcados con colores diferentes).

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con el auspicio de la RedTrV del CyTED (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo), Acción 209RT0364, con financiamiento parcial del Gobierno Vasco, España (Acciones Complementarias AE-2009-1-21), y los PICT No. 32618/05 y No. 0035/08, de la Agencia Nacional de Promoción de Ciencia y Tecnología de Argentina.

Referencias

- Martí GA, Echeverría MG, Susevich ML, Becnel JJ, Pelizza SA, García JJ. Prevalence and distribution of parasites and pathogens of Triatominae from Argentina, with emphasis on *Triatoma infestans* and *Triatoma virus* TrV. *J Invertebr Pathol.* 2009;102:233-7.
- Muscio OA, La Torre JL, Scodeller EA. Small nonoccluded viruses from triatomine bug *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J Invertebr Pathol* 1987;49:218-20.
- Muscio OA, La Torre JL, Scodeller EA. Characterization of *Triatoma virus*, a picorna-like virus isolated from the triatomine bug *Triatoma infestans*. *J Gen Virol.* 1988;69:2929-34.
- Rozas-Dennis GS, Cazzaniga NJ. Effects of *Triatoma virus* (TrV) on the fecundity and moulting of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Ann Trop Med Parasitol.* 2000;94:633-41.
- Rozas-Dennis GS. Estudios biológicos y estructurales del virus TrV, patógeno de vinchucas (Heteroptera, Reduviidae) (tesis). Bahía Blanca, Argentina: Universidad Nacional del Sur; 2007.



Interés de las poblaciones silvestres andinas de *Triatoma infestans* para los primeros ensayos de campo del triatoma virus

François Noireau^{1,2}, Marinely Bustamante^{1,2}, Lineth García²

¹ Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier, France

² Instituto de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia

Al día de hoy, *Triatoma infestans* es la principal especie de Triatominae encontrada naturalmente infectada por el triatoma virus. El virus fue detectado en poblaciones domésticas y peridomésticas del vector en el noroeste argentino y se transmite por vías transovárica y fecal-oral (Martí, *et al.*, 2009). Su *capacidad patógena* se evaluó en colonias de laboratorio y las alteraciones observadas (alta mortalidad en estadios de ninfa e inhibición del proceso de muda) tienen como consecuencia diezmar las colonias de insectos y aumentar la duración del ciclo evolutivo en los especímenes

supervivientes (Muscio, *et al.*, 1997).

Si los futuros estudios de laboratorio siguen demostrando el interés potencial del virus en el control biológico de los Triatominae y, una vez las etapas preliminares a su experimentación de campo se hayan superado, se plantearán, entonces, los primeros ensayos de campo y la cuestión de la especie blanco.

¿Por qué *Triatoma infestans* y sus poblaciones silvestres serian blancos convenientes?

Triatoma infestans fue y sigue siendo el principal vector doméstico de la enfermedad de Chagas en

los países del Cono Sur (Schofield, *et al.*, 2006). Aunque las medidas de control (rociado de las viviendas y de sus estructuras peridomésticas con insecticidas piretroides) y de vigilancia adoptadas por la Iniciativa del Cono Sur han reducido la incidencia de la enfermedad de Chagas en un porcentaje mayor del 90 %, el domicilio humano sigue infestado en amplias regiones (valles andinos de Bolivia, Gran Chaco), en particular donde existen poblaciones silvestres del vector (Schofield, *et al.*, 2006; Noireau 2009).

Las herramientas de control están disponibles para las poblaciones domiciliadas de *T. infestans* aunque su uso necesite ser replanteado en ciertos casos. En cambio, nada permite hasta ahora luchar contra el vector silvestre que, ampliamente difundido en el Cono Sur, podría ser el origen de la reinfestación.

¿Qué población silvestre elegir para los ensayos de campo?

El hallazgo de *T. infestans* silvestres en Bolivia ha permitido avanzar en el conocimiento de la bioecología de sus poblaciones andinas como chaqueñas (Dujardin, *et al.*, 1987; Noireau, *et al.*, 2005; Noireau, 2009). Los focos silvestres andinos están ubicados en numerosos valles en cuatro departamentos del país (Chuquisaca, Cochabamba, La Paz y Potosí), a una altura comprendida entre los 1.700 y los 2.700 msnm.

En estos sitios de altura, *T. infestans* silvestre tiene un hábitat rupícola (afloramientos rocosos) pero discontinuo, donde vive en asociación con pequeños roedores y marsupiales. Los vectores son, generalmente, muy abundantes, en particular, durante los meses más calientes del año (septiembre a enero), con densidades que pueden alcanzar 50 especímenes por trampa en grandes afloramientos rocosos (Cortez, *et al.*, 2007).

El comportamiento de dispersión del vector silvestre en los Andes ha sido estudiado al nivel microgeográfico en un sitio ubicado a 2.700 msnm. Con la ayuda de marcadores genéticos (microsatélites), se detectaron flujos de genes entre poblaciones cercanas de *T. infestans* sólo cuando la cobertura terrestre era continua y propicia al triatomino. Por el contrario, cuando el medio favorable al vector era discontinuo, la observación de poblaciones genéticamente estructuradas demostró que los insectos no migraban a través de espacios desfavorables, incluyendo los de extensión reducida (Richer, *et al.*, 2007). Indirectamente, esta estructuración microgeográfica indicaría una dificultad de vuelo de *T. infestans* silvestre en un

medio con características ambientales propias de alturas elevadas.

En lo que se refiere a las poblaciones de *T. infestans* silvestre en el Gran Chaco, observaciones recientes sugieren que se hallarían difundidas en toda la parte seca de esta extensa llanura (Noireau, 2009; Ceballos, *et al.*, 2009; Rolón, *et al.*, 2011). Las características del hábitat del vector silvestre (árboles emergentes dispersados en el bosque chaqueño) hacen que las poblaciones sean fragmentadas en pequeñas colonias que viven aisladas las unas de las otras en el monte. Además, *T. infestans* chaqueño muestra mayor habilidad para volar y dispersarse debida a características ambientales más apropiadas.

Conclusión

Pequeñas colonias de insectos y la habilidad para la dispersión hacen las poblaciones del Chaco poco apropiadas a la evaluación de un método de control biológico tal como el TrV. En cambio, el ensayo del TrV en poblaciones silvestres de *T. infestans* en un valle de altura tal como Cochabamba se funda en tres características:

1. esta región tiene las mayores densidades de vectores silvestres,
2. los sitios donde se encuentran poblaciones silvestres (afloramientos rocosos) son discontinuos y, generalmente, de extensión reducida y
3. la temperatura en el anochecer no facilita la dispersión activa del vector.

La primera característica sería relevante para un seguimiento de poblaciones aunque las dos últimas prevendrían, dentro de lo que cabe, una dispersión incontrolada del virus.

Referencias

1. Ceballos LA, Piccinali RV, Berkunsky I, Kitron U, Gürtler RE. First finding of melanic sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) colonies in the Argentine Chaco. *J Med Entomol.* 2009;46:1195-202.
2. Cortez MR, Emperaire L, Piccinali RV, Gürtler RE, Torrico F, Jansen AM, Noireau F. Sylvatic *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) in the Andean valleys of Bolivia. *Acta Trop.* 2007;102:47-54.
3. Dujardin JP, Tibayrenc M, Venegas E, Maldonado P, Desjeux P, Ayala FJ. Isozyme evidence of lack of speciation between wild and domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera : Reduviidae) in Bolivia. *J Med Entomol.* 1987;24:40-5.
4. Marti GA, Echeverria MG, Susevich ML, Becnel JJ, Pelizza SA, García JJ. Prevalence and distribution of parasites and pathogens of Triatominae from Argentina, with emphasis on *Triatoma infestans*

- and *Triatoma* virus TrV. *J Invertebr Pathol.* 2009;102:233-7.
5. Muscio OA, La Torre JL, Bonder MA, Scodeller EA. *Triatoma* virus pathogenicity in laboratory colonies of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J Med Entomol.* 1997;34:253-6.
 6. Noireau F. Wild *Triatoma infestans*, a potential threat that needs to be monitored. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;104:60-4.
 7. Noireau F, Cortez MR, Monteiro FA, Jansen AM, Torrico F. Can wild *Triatoma infestans* foci in Bolivia jeopardize Chagas disease control efforts? *Trend Parasitol.* 2005;21:7-10.
 8. Richer W, Kengne P, Cortez MR, Perrineau MM, Cohuet A, Fontenille D, Noireau F. Active dispersal by wild *Triatoma infestans* in the Bolivian Andes. *Trop Med Int Health.* 2007;12:759-64.
 9. Rolón M, Vega MC, Román F, Gómez A, Rojas de Arias A. First report of colonies of sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Paraguayan Chaco, using a trained dog. *PLoS Neg Trop Dis.* 2011;5:e1026.
 10. Schofield CJ, Jannin J, Salvatella R. The future of Chagas disease control. *Trend Parasitol.* 2006;22:583-8.



Simposio

VIEJOS Y NUEVOS CONCEPTOS EN INMUNIDAD A PARÁSITOS

***Schistosoma mansoni* antigens down-modulate the inflammatory response associated with immune-mediated diseases**

Maria Ilma Araujo^{1,2,3}, Luciana Cardoso^{1,2,4}, Ricardo Oliveira^{1,2}, Aline Báfica¹, Robson Souza¹, Alfredo Góes⁵, Sérgio Oliveira⁵, Edgar Carvalho^{1,2,3}

¹ Serviço de Imunologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brasil

² Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia em Doenças Tropicais, Brasil

³ Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Brasil

⁴ Departamento de Ciências da Vida, Universidade do Estado da Bahia, Salvador, Brasil

⁵ Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

Epidemiologic evidence has accumulated suggesting that helminth infection or their products protect against the development of allergic and autoimmune diseases. The mechanisms underlying this protection may include regulatory cells and cytokines. Considering that *Schistosoma* sp. has been one of the most important helminth associated with strong induction of regulatory mechanisms, and also considering our data which have demonstrated that *S. mansoni* infections are associated with a poor response to allergy skin-prick tests and with low asthma pathology, we hypothesized that antigens of *S. mansoni* are able to modulate the inflammatory response in type 2 CD4⁺T (Th2) cell-mediated diseases such as asthma.

We have tested in the *in vitro* and in experimental studies the ability of the recombinant *S. mansoni* antigens Sm22.6, Sm29 and PIII in modulating the inflammatory response in atopic asthma.

The Sm22.6 antigen is a soluble protein from the tegument, present in the life cycle of the worm with the exception of the egg. Sm29 is a membrane-bound glycoprotein found on the tegument of the adult worm during the lung stage of *S. mansoni* infection, while PIII is a fraction of *S. mansoni* soluble adult worm antigen (SWAP). These antigens have been tested as vaccine to prevent schistosomiasis and/or liver pathology associated with the disease in murine models.

We found that these proteins induce IL-10 in *S. mansoni* infected asthmatics. Moreover, in a murine model of OVA induced airway inflammation, immunization with Sm22.6, PIII and Sm29 lead to a reduction in the number of inflammatory cells, eosinophils and OVA-specific IgE, compared to non-

immunized mice. The *S. mansoni* antigens are also capable to suppress the *in vitro* Th2-inflammatory response in uninfected asthmatics. Additionally, the ability of *S. mansoni* antigens in down-modulate the *in vitro* Th1-inflammatory response in cutaneous leishmaniasis patients are currently been tested.

Leishmaniasis is an infectious disease caused by a protozoan from the genus *Leishmania* spp. It is one of the most severe infectious diseases, affecting 12 million people worldwide with an incidence of skin disease in about 1.5 million cases per year. Four different forms of tegumentary leishmaniasis are described: cutaneous, mucosal, diffuse and disseminated leishmaniasis. Cutaneous leishmaniasis is the most common clinical manifestation, characterized by one to several skin lesions in exposed areas, with an absence or small number of parasites. Control of *Leishmania* spp. infection depends on the immune response mediated by Th1, which produce interferon-gamma (IFN- γ) and are able to activate tissue macrophages. However, when this immune response is deregulated and there is a high production of IFN- γ and tumor necrosis factor- α (TNF- α), intense tissue damage occurs, leading to development of cutaneous and mucosal leishmaniasis. Considering the potential of *S. mansoni* antigens to prevent some Th1-mediated diseases, we have evaluated the effects of the addition of *S. mansoni* antigens to the immune response induced by soluble *Leishmania* sp antigen (SLA) in cutaneous leishmaniasis patients.

We examined IFN- γ , TNF- α , IL-12 and IL-10 production by cells of cutaneous leishmaniasis patients stimulated *in vitro* with the soluble *Leishmania* antigen (SLA) in the presence or