

Rhodnius ecuadoriensis en transmisión intradomiciliaria de Trypanosoma Cruzi

Dr. Telmo Fernández Ronquillo

Trypanosoma Cruzi intradomiciliary transmission by Rhodnius ecuadoriensis

Resumen

La Enfermedad de Chagas es un problema de salud pública en el Ecuador, cuya magnitud está siendo mejor cuantificada y en las reuniones de la Iniciativa Andina para el control de esta enfermedad, se recomienda fortalecer todos los esfuerzos en la investigación sobre los vectores. En el 2003, se reportó el primer caso agudo en la zona de Zapotal, cantón Ventanas, Provincia de Los Ríos, con comprobada transmisión intradomiciliaria por *Rhodnius ecuadoriensis*, también registrado por primera vez en esta zona. El antecedente referido lleva a la investigación y captura de *R. ecuadoriensis*, en 10 hogares, ratificando su existencia en la región, aunque las evidencias señalan que no hay domiciliación. El insecto llega a las casas atraído por la luz artificial y condiciones ecológicas y sociales de vivienda que permiten su fácil penetración, previéndose como un importante potencial transmisor de *Trypanosoma cruzi* al ser humano. En este reporte se estandariza la técnica de reacción en cadena de Polimerasa para futuros estudios y se deja a la población adiestrada y motivada para la realización de investigaciones necesarias para establecer la real importancia de esta enfermedad en la región.

Palabras claves: *Rhodnius ecuadoriensis*. *Triatominae*. *Distribución geográfica y ecología*. Ecuador *Trypanosoma cruzi*. *Transmisión*. *Enfermedad de Chagas*.

Summary

Chagas Disease is a problem of public health in Ecuador. At the present time its rate is better scored and in the Andean Initiative meeting for the control of this sickness, it is recommended to enforce all activities on vectors research. In February of 2003 the first case of acute Chagas disease in the zone of Zapotal, Los Rios Province was reported. Verified *Rhodnius ecuadoriensis* in house transmission was by first time found in this zone. This finding increased the research efforts getting *R. ecuadoriensis* capture of in 10 dwellings, ratifying its existence in the region, although the evidence indicates non located addressing. The insect goes into home attracted by artificial light. Social and ecological conditions allow their easy penetration, suggesting this is an important *Trypanosoma cruzi* contaminating route. PCR technique for future studies is standard. Local population is better trained and motivated for future and necessary researches aiming to post the real importance of Chagas Disease the region.

Key words: *Rhodnius ecuadoriensis*. *Triatominae*. *Geographic distribution and ecology*. Ecuador *Trypanosoma cruzi*. *Transmission*. *Disease of Chagas*.

Introducción

La Enfermedad de Chagas (ECh) es un problema de salud pública en el Ecuador cuya magnitud cada día está siendo mejor cuantificada^{1,2}, a diferencia de los países del cono sur que en acciones conjuntas han conseguido interrumpir la transmisión^{3,4}. En 1997⁵ se creó la iniciativa Andina para el Control de la Enfermedad de Chagas, dentro del marco del Convenio Hipólito Unanue y se han realizado 6 reuniones, la tercera y la quinta en Guayaquil⁶ y la última en mayo de 2004 en Lima.

Los resultados llevaron a registrar a la ECh como un problema de salud pública para Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela^{6,7}. Entre las conclusiones de la V Reunión está: “En los países de la iniciativa es necesario continuar con los esfuerzos de investigación sobre la biología de los vectores,.....”. También se reconoce la existencia de una gran variedad de situaciones epidemiológicas por la fauna triatomínica muy diversa y por lo tanto se recomienda se realicen acciones para establecer la trascendencia, magnitud del problema y la vulnerabilidad al control. Toda investigación que contribuya en este sentido deber ser priorizada.

La prevalencia de anticuerpos anti-T. cruzi en la población general del Ecuador es alrededor del 1%, por lo tanto 125.000 a 135.000 personas son sero positivas en el país^{2,8}, sin embargo, la distribución se circunscribe a regiones tropicales, rurales y semiurbanas, dependiendo de las condiciones para el desarrollo de los vectores y su contacto con el ser humano. Por lo tanto, estarían en riesgo 2.200.000 a 3.500.000 de personas. La tasa de mortalidad es baja, se estima que 300 personas mueren cada año por causas directamente relacionadas con la ECh. La incidencia, se espera que 3000 personas adquieran la infección cada año^{2,8}. La pérdida económica por incapacidad, gastos médicos, baja de expectativa de vida, escolaridad, etc. es difícil de estimar por falta de estadísticas confiables, pero alcanzaría los 20 millones de dólares anuales.^{2,8}

En el Ecuador los vectores más importantes son *Triatoma dimidiata* y *Rhodnius ecuadoriensis*^{1,9,10}. El conocimiento de la biogeografía del segundo, es aún incompleto así como la magnitud de su papel en la transmisión al ser humano^{11,12,13,14}. Su distribución está establecida en la zona del Río Portoviejo en la provincia de Manabí y en el sur del país en las provincias de Loja y la parte alta de El Oro^{13,14}.

En febrero 2003¹⁵ se reporta el primer caso humano comprobado de ECh con transmisión intradomiciliar por *R. ecuadoriensis* en el recinto Zapotal, cantón Ventanas, provincia de Los Ríos^{1,10,11}.

Las condiciones de vivienda y otros factores sociales que permitan la domiciliación del insecto, no han sido aún establecidos con certeza y es imperiosa la necesidad de estudios para conocer la amplitud de la distribución del vector en esta zona nueva. Con esta finalidad se plantean los objetivos:

Objetivo General: Determinar la importancia del vector triatomíneo *Rhodnius ecuadoriensis* en la transmisión intradomiciliar de *Trypanosoma cruzi* hacia el ser humano, y así colaborar en el conocimiento de la distribución epidemiológica de la ECh en el Ecuador.

Objetivos Específicos:

Caracterizar, en sus aspectos ecológicos y sociales, el área geográfica de la parroquia Zapotal, cantón Ventanas, provincia de Los Ríos y determinar los factores de riesgo para la transmisión de *T. cruzi* hacia el ser humano por *R. ecuadoriensis*.

Cuantificar la distribución de *R. ecuadoriensis*, dentro del domicilio humano y en el peridomicilio cercano, en los hogares de la zona y determinar el índice parasitario triatomínico de los ejemplares capturados.

Estandarizar y aplicar la técnica de biología molecular: reacción en cadena de polimerasa (PCR).

Establecer la prevalencia de la infección humana por exámenes serológicos: HAI y micro Elisa.

Capacitar a la comunidad para que colabore en los programas de vigilancia y control epidemiológicos, especialmente en la lucha antivectorial.

Materiales y Métodos

Primer objetivo: Área de estudio. Determinación ecológica.

El área estudiada comprende los recintos de San Rafael, Lechugalito, Carbo Malo y Fraternidad pertenecientes a la Parroquia Zapotal del cantón Ventanas en la provincia de Los Ríos (1° 21' LS y 79° 25' LO). Abarca cerca de 10 km², con población dispersa calculada en 800 a 1.000 habitantes y fauna y flora variadas.

Por observación directa de los investigadores, se procede a realizar el levantamiento geográfico del lugar, y el mapa de las viviendas, relacionado con áreas de cultivo y remanentes de bosque.

Aspectos sociales y vectoriales.

En cada vivienda, se aplican dos encuestas, una entomológica y una social. En la primera para determinar si el lugar presta las facilidades para la colonización por vectores: características de techo y paredes, frecuencia de fumigación, par-

ticularidades de los alrededores (peri domicilio), presencia de animales domésticos, entre otras.

En la encuesta social se busca analizar la conducta del hombre ante esta enfermedad: si la conocen, identificación y conducta frente a los insectos triatomíneos, nivel de escolaridad, actitud ante otras enfermedades; condiciones de aseo intradomicilio, actitud frente a animales domésticos, entre otras.

Segundo objetivo: Identificación entomológica y análisis del contenido intestinal.

En las visitas por vivienda entregar folletos y afiches con información sobre ECh y sus vectores y frascos para guardar los insectos capturados en el intradomicilio.

Además, en el interior de la casa se colocan:

1) El sensor GN, cuyo principio es alojar a los insectos, principalmente después de haberse alimentado, se colocó a 1.50 m de altura en una pared y, 2) sensor, hojas A4, en cualquier pared interior para detectar rastros de heces. Con los insectos encontrados en las viviendas, para el criterio de colonización debía encontrarse huevos o larvas.

Los triatomíneos fueron identificados por sus características morfológicas y usando las claves gráficas de identificación dicotómica de Lent y Wygodzinsky (1979).

El examen del contenido intestinal con la técnica de recolección de material fecal por estimulación del abdomen y observación directa al microscopio en búsqueda de tripomastigotes, así como inocular en ratones blancos para aislar cepas de T. cruzi para posteriores estudios.

Tercer objetivo: Estandarización de la técnica PCR. Extracción de ADN

Para obtener el ADN muestra se lava el contenido intestinal del insecto, 3 veces con PBS y centrifugación a 800 rpm durante 5'. El sedimento se resuspende en 150 µl de PBS y 150 µl buffer lisis más proteinasa K, e incuba a 56°C durante una

hora. Mientras los tubos están tibios se agrega 300 µl de fenol-cloroformo-isoamil y se mezcla por inversión durante 5' y centrifuga a 12 000 rpm durante 5'.

El sobrenadante se transfiere para un nuevo lavado con fenol-cloroformo-isoamil; el sobrenadante se trata con 10% de Acetato de Sodio más el doble de volumen de etanol absoluto, colocar 15' en cama de hielo y centrifugar a 12 000 rpm por 10'. Descartar el sobrenadante, lavar el producto con 50 µl de etanol al 70% y centrifugar a 12 000 rpm por 10'. Desechar el etanol y al tubo seco adicionar 50 µl de TE.

Práctica de la PCR (Mullis & Faloona, 1987)

Para la Reacción en Cadena de la Polimerasa / Polimerase Chain Reaction (PCR), los primers a utilizar son: TCZ 1 (5'-CGA-GCT-CTT-GCC-CAC-ACG-GGT-GCT-3') y el TCZ 2 (5'-CCT-CCA-AGC-AGC-GGA-TAG-TTC-AGG-3')(Virreina 2003). El producto de amplificación de primers utilizados es de una banda con un peso aproximado de 188 bp.

Reactivos:

- ADN muestra (obtenido en paso previo)
- Cl2Mg, sustancia queladora de iones necesaria para Taq.
- Iniciadores específicos del ADN matriz, por complementariedad se hibridan, y son indispensables para la Taq.
- dNTPs, nucleótidos utilizados para formar la nueva cadena.
- Buffer 10X específico de la Taq polimerasa
- Taq polimerasa, enzima que va sintetizar la nueva cadena por adición de nucleótidos a los iniciadores copiando el ADN matriz.
- Agua ultra pura para completar el volumen total.

Volumen total por reacción de PCR.

El volumen total es de 50 µl: 1 µl de ADN de la muestra, más 49 µl del resto de reactivos (Mix). La preparación del Mix y el manejo de las muestras se realizan sobre hielo, utilizando puntas con filtros. Finalmente colocar las muestras en el termociclador.

Mix para un volumen total de 50 µl		
Muestra de ADN extraído	1 µl	1 µl/tubo
Agua ULTRA PURA	32.7 µl	X µl
Buffer 10	5 µl	X µl
Cl2Mg	5 µl	X µl
dNTPs	4 µl	X µl
Iniciadores	P2: 1 µl P8:1 µl	X µl
Taq DNA Pol.	0,3 µl	X µl
Volumen Final	49 µl/tubo	

Para la preparación de los Mix de PCR se debe tomar en cuenta el número de muestras a analizar más el control (-) y una reacción adicional. (N = número de muestras + C (-) + 1)

Pasos de la reacción de PCR

Primer paso: Desnaturalización de la doble cadena de ADN a 95o C durante 5 minutos.

Segundo paso: Amplificación del ADN en 40 ciclos, en tres etapas siguientes:

Desnaturalización del ADN (94o C, 20 segundos)

Hibridación: a 60°C por 30 segundos, temperatura de acuerdo a la combinación de los iniciadores que se hibridan en sentido 5´-3´, iniciador forward (sentido), y al otro reverse (antisentido) por su ubicación en la doble cadena de ADN.

Polimerización: síntesis de nuevos fragmentos de la secuencia contenida entre los dos iniciadores (amplicones) (72oC, 30 segundos).

3. Tercer paso: Finalización de la síntesis de los fragmentos a 72°C, 7 minutos.

Observación de las bandas de PCR.

Mezclar 18 µL del producto de la PCR con 3 µL de azul- bromo fenol, homogenizar y depositar en gel de agarosa al 1.5%. Después de la migración electroforética observar los resultados en el trans-iluminador (luz ultra violeta).

Cuarto objetivo: Seroprevalencia: Técnicas de Inmunodiagnóstico.

Por determinación de anticuerpos o inmunodiagnóstico, con dos reacciones serológicas: enzimoimmuno ensayo (ELISA) y hemaglutinación indirecta (HAI).

Extraer sangre venosa de los adultos voluntarios y de los niños cuyos padres estaban presentes y consintieron que se lo haga. En el laboratorio se separó el suero y se lo guardó en congelación (- 20°C) hasta realizar las pruebas, no más de 5 días.

Quinto objetivo: Capacitar a la comunidad.

Es un proceso continuo enseñando la morfología del insecto, sus diversos estadios, lugares habituales de vivienda, importancia de luchar contra él, así como hacer conocer la ECh, sus consecuencias, además retroalimentar el proceso con el informe de resultados entomológicos y serológicos, especialmente con la captura de ejemplares en el intradomicilio. Organizar los eventos necesarios para información a adultos cuanto a niños en las escuelas, con entrega de afiches y camisetas con fotos de R. ecuadoriensis.

Resultados y Discusión

Primer objetivo:

Aspectos ecológicos

En el área predomina el bosque seco tropical con clima húmedo y altas temperaturas, promedio anual de 25° C, con lluvias intensas entre diciembre y marzo y época seca en los otros 8 meses. La orografía comprende en su mayoría colinas, que raras veces superan los 200 m snm, con numerosas quebradas y en algunos sectores es bastante diferenciada.

Actualmente el 80% de esta tierra son fincas y plantaciones. Los cultivos predominantes son fréjol de palo, maíz, cultivos de arroz. En lo que concierne a la actividad maderera, la teca predomina en el terreno y el uso de leña para cocinar. La ganadería es casi nula debido a la precaria condición económica que predomina en el sector, y los pocos animales que poseen son para el consumo de los mismos moradores. Además existen manchas de bosque original que en su mayoría se encuentran cercanas a las viviendas. Esta vegetación está formada por árboles altos, que superan los 30 m, y puede distinguirse los bordes de los bosques y las zonas intervenidas con predominancia de matorrales y gramíneas.

Aspectos sociales: La población se distribuye de acuerdo al (Cuadro 2).

Habitantes encuestados, según recintos					
ESTADOS DE DESARROLLO	población total	%	población de niños	%	
Lechugadito	212	74.65	72	25.35	284
Fraternidad	155	74.16	54	25.84	209
Carbo Malo	52	66.67	26	33.33	78
San Rafael	75	69.44	33	30.56	108
TOTAL	494		185		679

Cuadro 2.- Habitantes encuestados, según recintos

La casi totalidad de adultos se reportan como jornaleros y trabajan en agricultura. Sus habitantes son propietarios o arrendatarios de pequeñas extensiones de tierra: el 33,3% de los jefes de hogar de Lechugalito son propietarios y el 67,6% alquilan; en la Fraternidad el 27,2% son propietarios y el 72,7% alquilan; en Carbo Malo el 38,4% son propietarios, y el 61,5 alquilan; en San Rafael el 45% son propietarios y el 55% alquilan.

Reciben agua entubada que sólo cubre a las poblaciones concentradas, mientras los habitantes dispersos se abastecen de agua de pozo. Tienen energía eléctrica en su mayoría pero no hay servicio de disposición de excretas.

Los habitantes se dedican al cultivo de maíz, arroz en época invernal y en verano siembran fréjol de palo, fréjol oriental, plátano. Se estima el ingreso de \$5,00 diarios y/o \$30,00 semanal como salario por trabajo de jornalero. No hay fuentes de trabajo sus habitantes salen a buscarlo a los recintos aledaños o a Ventanas.

Carecen de servicios de salud permanente, según informan una vez al año tienen la visita de la brigada médica de la Alcaldía de Ventanas. Existe una escuela unidocente y veinticuatro alumnos y una escuela particular, con diecisiete alumnos.

Vivienda, costumbres habitacionales.

Las viviendas, en la mayoría, son construidas con caña guadúa, sin revocar. Las paredes exteriores presentan ranuras en gran cantidad y ventanas sin ninguna protección, además de amplios espacios entre el techo de zinc y las paredes.

Las divisiones interiores son del mismo material, muchas veces recubiertas con periódico. El piso

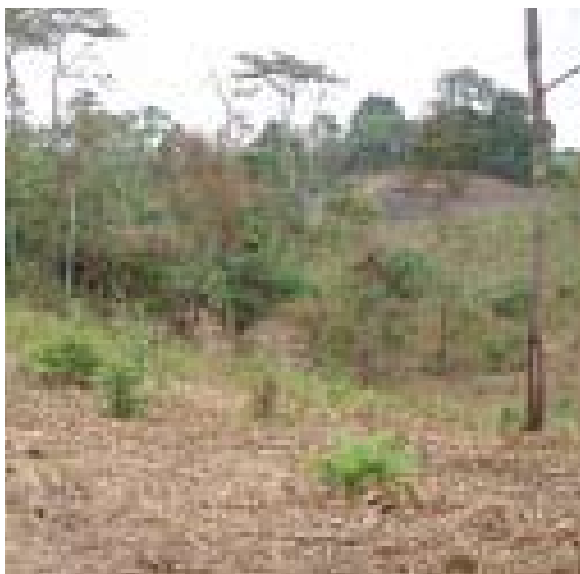


Foto 1.- Ecología de la zona durante la época seca (septiembre).

es de madera con múltiples ranuras. El 70% se construyen sobre pilotes a una altura de 2 metros del suelo, como protección del agua en la época de lluvias.

En el espacio inferior se realizan múltiples tareas domésticas, además se guardan, sin mayor orden, elementos de labranza u otros enseres. También se crían variados animales domésticos como gallinas y patos, y los infaltables perros y gatos, en ocasiones cerdos y uno que otro borrero o mular. Es frecuente observar palomas, murciélagos y la visita de marsupiales Didelphys, conocidos como zorros o raposas

El resto de viviendas, especialmente las ubicadas en lugares de concentración, son de bloque o ladrillo y techo de zinc, algunas enlucidas y pintadas. Sin embargo persiste el defecto de no cubrir adecuadamente las ventanas y puertas.

La limpieza de la vivienda en el 90,4% de los hogares de Lechugalito la hacen todos los días; en la Fraternidad el 90,9%; en Carbo Malo el 53,8% y en San Rafael el 75%. Sin embargo, es costumbre el mantener en el interior gran cantidad de material como libros viejos, revistas, papeles o ropa en cartones, que paulatinamente se van acrecentando hasta formar verdaderos cúmulos en esquinas o debajo de las camas que protegen a insectos y roedores que ahí se esconden.

El aseo del peridomicilio es precario pues, a más de nuestra constatación visual, los moradores admitieron: en Lechugalito apenas el 19% lo asea todos los días; en la Fraternidad el 18%; en Carbo Malo el 30,7% y en San Rafael el 25%.

El techo de la vivienda es de zinc: Lechugalito el 76,1%, la Fraternidad el 90,9%, Carbo Malo el 84,6% y en San Rafael el 85% .

Segundo objetivo:

Resultados de las capturas de insectos.

En los sensores GN y A4 en 80 viviendas durante 4 a 6 meses, no se registraron ningún resultado positivo, aunque si se encontraron otra clase de insectos en los GN.

Las capturas positivas fueron las realizadas por los propios moradores adiestrados, dentro del domicilio. Sin embargo, por la recomendación previa de capturar cualquier insecto parecido y que la identificación sólo sería hecha por los expertos, se capturaron algunos otros semejantes.

Se registraron un total de 40 insectos. Se identificó a 18 R. ecuadoriensis, **Foto 2**, también 4 P. rufotuberculatus y 1 T. dimidiata, y 17 fueron ubicados como predadores o fitófagos.



Foto 2.- Adultos de *R. ecuadoriensis* capturados en el interior de una vivienda.

La mayor parte de *R. ecuadoriensis*, colectados dentro del domicilio, se constató que eran insectos atraídos a la vivienda por la luz artificial, en horas de la tarde.

En total fueron 10 casas donde se encontraron estos 18 ejemplares, distribuidas: 3 en Fraternidad, 4 en Lechugalito, 2 en San Rafael y 1 en Carbomalo.

En una casa se capturó 8 ejemplares, en otra 2 adultos y en las 8 restantes, 1 adulto en cada una. Todas estas casas fueron inspeccionadas por el personal del SNEM y los propios moradores, mínimo 20 minutos hombre/casa, para encontrar huevos o ninfas, sin ningún resultado positivo.

No se incluyen los ejemplares capturados en la vivienda del paciente considerado índice para esta investigación, reportado en publicación anterior. Esta casa fue nuevamente examinada y se ratificó la presencia de adultos, huevos y ninfas.

El número de insectos encontrados no permite hacer cálculos de índice tratomínico, así como tampoco se pudo analizar el contenido intestinal pues casi todos los insectos estaban muertos al ser entregados y en consecuencia no se puede calcular el índice tratomineo/parasitario.

Características de los domicilios con insectos.

No se encontró ninguna diferencia a la descripción general. No hay evidencia que nos pueda indicar un proceso de colonización de la vivienda, se tiene como patrón que dichas casas se encuentran muy cerca de parches boscosos, remanentes de la vegetación silvestre oriunda del lugar.

Tercer objetivo:

Técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR)

Al no contar con ejemplares vivos de *R. ecuadoriensis* para obtener contenido intestinal, utilizamos, para desarrollar y estandarizar la técnica, material obtenido del intestino de ejemplares de *T. dimidiata*, capturados en varios lugares y examinados como positivos para tripomastigotes en el examen directo, por el SNEM.

Extracción de ADN

El método de fenol- cloroformo -isoamílico, fue óptimo para obtener ADN.

Práctica de la PCR

La mejor concentración de Cloruro de Magnesio (Cl₂Mg) fue 1.9 mM.

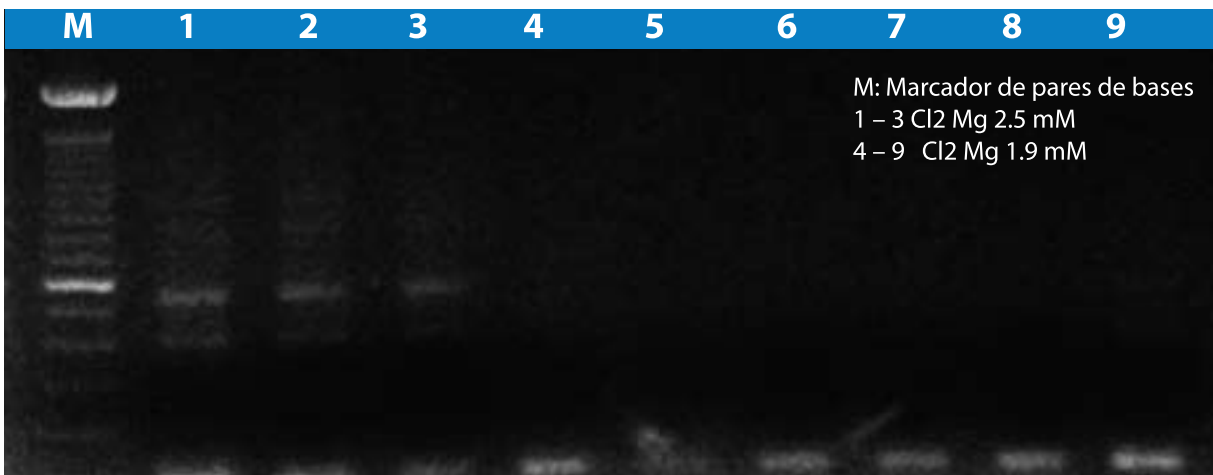


Foto 3.- Ampliación de ADN por reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Las bandas indefinidas en las muestras 1 al 3 son por la concentración de 2.5 mM del Cl₂ Mg, no interfiere en la prueba, y las que se observan desde la muestra 4 a la 8 por debajo de las de 188 bp, son el desecho de los primers utilizados.

M: Marcador de pares de bases
 1 – 3 Cl₂ Mg 2.5 mM
 4 – 9 Cl₂ Mg 1.9 mM

95°C	5 minutos		
94°C	20 minutos		
60°C	30 minutos	40	ciclos
72°C	30 minutos		
72°C	7 minutos		

Con los iniciadores, TCZ 1 y TCZ 2 descritos por Virreina (2003), se amplificó la región deseada con un peso aproximado de 188 bp.

Para controlar los resultados, por ejemplo los falsos positivos, se analizó el contenido intestinal de los insectos en el microscopio de luz, donde se verificó la presencia de tripomastigotes metacíclicos de T. Cruzi.

Cuarto objetivo:

Seroprevalencia:

Se realizaron exámenes serológicos en busca de anticuerpos anti-.cruzi a un total de 120 personas, en la tabla 3 se resume el número de personas examinadas, tabuladas por grupos etáreos y sexo.

En total se encontraron 4 personas positivas para las dos reacciones, La prevalencia de anticuerpos se sitúa en 3,33%.

Las personas consideradas como confirmadas positivas son:

Femenino, 56 años, Lechugalito: Reside en este lugar desde hace 33 años, antes vivía en Babahoyo, y en otros lugares de la provincia del Guayas y Los Ríos. Tiene 6 hijos, 4 fueron también testados con resultado negativo. Hace 8 años, por valoración quirúrgica, un EKG no demostró alteraciones cardiacas. Actualmente tiene buen estado de salud y se recomienda nuevos controles y tratamiento con benznidazol.

Masculino, 10 años, Lechugalito: nació en Guayaquil en el suburbio oeste (21 y Maldonado), donde vivió hasta los 4 años de edad y existía T. dimidiata, por versión de la madre e identificación al ver ejemplares de laboratorio. Al examen físico el niño es de contextura delgada pero saludable, no manifiesta ninguna sintomatología, asiste al sexto año básico.

No hay hepato esplenomegalia, ni ganglios palpables. Examen radiológico normal. Se recomienda y se tratará con nifurtimox.

Masculino, 11 años, Carbomalo: reside en este sector desde que nació. La casa actual tiene 3 años de construida en el mismo sitio de la anterior, en buen estado. Al examen clínico no se constata ninguna alteración. Examen radiológico normal. Se instalará tratamiento con nifurtimox.

Masculino 18 años, San Rafael: es el paciente índice reportado (15), en quien se constató la transmisión intradomiciliaria por R. ecuadoriensis. Los exámenes serológicos a 11 familiares, 7 viviendo en la misma casa, dieron resultados negativos. El joven está en buen estado luego de su tratamiento con benznidazol y fue aceptado para el servicio militar obligatorio.

En la entrevista a los moradores de las cuatro casas, ellos demostraron conocer muy bien el R. ecuadoriensis, en 3 no se constató su presencia en el intradomicilio, a pesar de la búsqueda activa y minuciosa. En el caso del paciente índice, ya reportado, nuevamente se encontró adultos, aunque en menor cantidad que en la ocasión anterior.

Quinto objetivo:

Capacitación de la población, Conocimiento previo de R. ecuadoriensis (chinchorro)

En la primera encuesta, antes de divulgar cualquier información, de un total de 135 adultos apenas 48 (36 %) contestaron conocer al insecto y 15% mencionó haberlo visto dentro de la casa. Las respuestas positivas son relativas, pues al pedirles la identificación con ejemplares de muestra, hubo mucha confusión con predadores y fitófagos. En ningún caso consideraron importante eliminarlo, pues lo tenían como inofensivo: “ni siquiera pica”, “no causa daño”, “no lo he visto en la casa”.

En realidad el conocimiento morfológico de R. ecuadoriensis era mínimo. Igual consideración debe hacerse frente a las preguntas de si lo vio o encontró dentro o fuera del domicilio. También se evidenció un desconocimiento total acerca de la ECh, sus síntomas y consecuencias y menos aún como se transmite. Después de conversaciones di-

Población a la que se practicó serología para Chagas			
Edades	Masculino	Femenino	Total
<15	33	29	62
15 - 30	6	19	25
> 30	10	23	33
	49	71	120

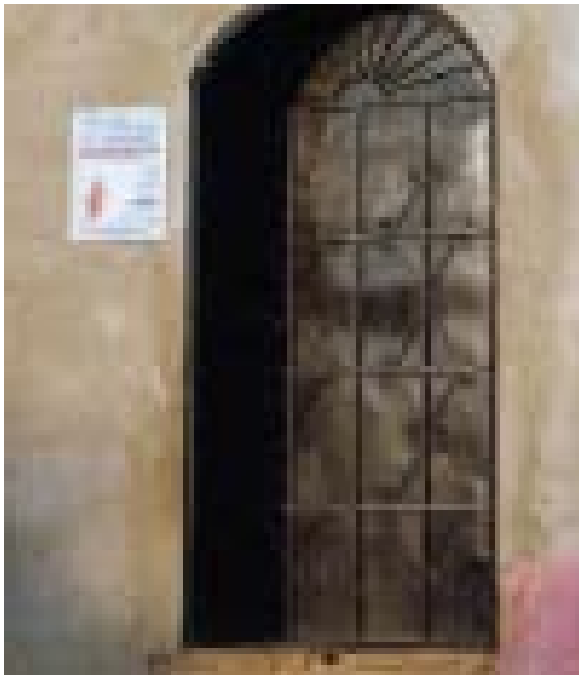


Foto 4.- Afiche en la puerta de una casa

rigidas, principalmente con la descripción de patologías cardíacas, se correlacionó la muerte de algunas personas que habían tenido síntomas parecidos.

La labor continua durante seis meses se basó en:

- Múltiples entrevistas personales, en la casa, al realizar el censo, al entregar y pegar afiches, colocar los sensores GN y A4 dentro del domicilio, etc.
- Conferencias a la comunidad, convocadas por líderes.
- Talleres en la escuela para los niños, profesores y padres de familia y representantes. Estas reuniones fueron las más concurridas y fructíferas.

En cada oportunidad se hacía alguna actividad diferente, como entregar afiches llamativos para pegarlos estratégicamente en diversos lugares, analizar folletos y trípticos con fotos y dibujos didácticos, entregar camisetitas con la foto del insecto y leyendas de estímulo, entre otras modalidades visuales.

Los frutos de este trabajo se evaluaron con entrevistas y observación directa, pues los resultados se reflejaron de manera inmediata con la colaboración en la búsqueda activa y la captura de insectos en el intradomicilio, su almacenaje correcto e identificación con alto grado de precisión. Además, a pesar de estar seguros de que algún ejemplar no correspondía, lo guardaban, en obediencia a que la identificación final sólo debía ser hecha por los expertos.

Los moradores también fueron muy colaboradores al momento de solicitarse voluntarios para la

toma de las muestras de sangre, así como para informar sobre algún probable enfermo.

En las entrevistas finales se comprobó un alto grado de conocimiento acerca de la morfología de *R. ecuadoriensis* y otros triatomíneos e insectos fitófagos o predadores, entre los primeros, *P. rufotuberculatus* y *T. dimidiata*. Aún continúan recolectando especímenes y enviándolos para identificación.

La evaluación final es que la comunidad quedó con buen conocimiento acerca de los insectos, aunque todavía no conoce el alcance de la ECh. Un aspecto muy importante a destacar es la buena predisposición a colaborar en estudios posteriores.

Resultados y Discusión

La ECh en el Ecuador, aún no está todavía suficientemente cuantificada^{1, 2, 8}. En esta oportunidad aportamos un nuevo conocimiento a la epidemiología, al dejar establecido que la zona estudiada, no reportada con anterioridad, es un área donde existe ECh, con transmisión activa y perspectivas de que el insecto vector llegue a ser intradomiciliario.

Esta afirmación se basa en:

La confirmación de la existencia de *R. ecuadoriensis* en la zona, insistiendo en la característica de este estudio, que fue sólo en el interior del domicilio y el peridomicilio inmediato. No se intentó la búsqueda silvestre. Estas capturas del insecto dentro del domicilio humano, de ejemplares adultos atraídos por la luz, permiten afirmar que no hay, aún, domiciliación definitiva. Sin embargo, lo investigado en el caso del paciente índice¹⁵, con chagas agudo, permite avizorar la adaptación al domicilio humano.

De las 4 personas con serología positiva existe constancia de transmisión intradomiciliaria en el caso índice y el niño de 11 años, de Carbomalo. Se impone realizar investigaciones más profundas en este aspecto.

Las condiciones sociales, especialmente la vivienda, tanto en materiales y modelo de construcción, y el deplorable mantenimiento exterior e interior, son favorables para que *R. ecuadoriensis* pueda esconderse dentro de ella y, peor aún, pueda reproducirse y domiciliarse.

Las características físicas y ecológicas de la zona son propicias para la existencia permanente del insecto y de mamíferos sinantrópicos que garantizan transmisión activa en las

zonas boscosas, cercanas al domicilio humano y la constante amenaza de transmisión al ser humano ^{11, 12, 13, 14}. La inminente deforestación y cambios ambientales obligarán al triatomineo a buscar fuentes de alimentación alternativa y así llegar al ser humano.

Se imponen más estudios, en localidades con mayor población y con mayor cantidad de años viviendo en estos sectores, así como en mayor extensión geográfica. Es muy importante el análisis de la situación en menores de 15 años, para determinar la transmisión activa local e intradomiciliaria.

El hecho de encontrar otros triatomíneos: *P. rufotuberculatus* y *T. dimidiata*, debe ser observado muy atentamente, pues su participación en el mantenimiento de la endemia silvestre es indudable, pero desconocemos su papel en la transmisión al ser humano en estos sectores. *T. dimidiata* es el más importante transmisor al ser humano en amplios sectores de la costa ecuatoriana.

El número de insectos capturados no permitió hacer el estudio de su contenido intestinal y determinar el grado de infección de los mismos. Aún así la conclusión lógica es que el índice triatomínico/vivienda en este sector es bajo, pero es necesario establecerlo con mayores estudios incluyendo los otros triatomíneos. El nivel de prevalencia 3,3% es importante, aunque de los 4 casos positivos sólo 2 se ubican como seguros infectados en el lugar.

Estandarizar la técnica de PCR, es de gran utilidad para estos estudios epidemiológicos por ejemplo, en la búsqueda de *T. cruzi* en el contenido intestinal de los insectos o en la sangre del ser humano ^{16, 17, 18}, con múltiples otras aplicaciones como en bancos de sangre, transplantes, diagnóstico, etc. Será una herramienta imprescindible en trabajos más extensos que se están programando. La capacitación de la po-

blación fue alto pues el 60% de los adultos y el 80% de los niños identificaban muy bien el insecto, pero los conocimientos alcanzados se hacían más evidentes en las conversaciones informales, así como también al observar la colaboración en varias actividades logísticas. Los investigadores y su personal eran siempre bien recibidos, con muestras de aprecio y respeto y aunque ya había terminado la búsqueda obligatoria de insectos, continuaban recolectándolos.

Finalmente, hay una excelente predisposición de los moradores a continuar eliminando las condiciones para impedir que *R. ecuadoriensis* se instale en el domicilio humano. Esta intención debe acompañarse de acciones continuas que refuercen la actitud y lleven a un cambio efectivo de conducta, principalmente en lo que respecta al mejoramiento de la vivienda, aún bajo las condiciones de pobreza actuales ²⁰.

Además, con fines de impulsar el control de la transmisión, podemos agregar, no sólo es necesario tener una vivienda en un buen estado incluyendo el peridomicilio, sino que, por ser determinante la cercanía de éstas a los remanentes de bosque ó plantaciones, ecotopos y biotopos naturales, centros de dispersión hacia el peridomicilio, con un eslabón intermedio, como los corrales de aves y hábitats artificiales, los moradores deben ser instruidos de manera permanente de cómo mantener este peridomicilio en condiciones de evitar el contacto con estos insectos.

El financiamiento de estas investigaciones es la mejor inversión del estado para determinar la presencia y magnitud de un problema de salud y encontrar las propias soluciones, su aplicabilidad en el lugar correcto y medir su efectividad, así como verificar una continua evaluación con correcciones necesarias y fortalecimiento de las medidas que se demuestren efectivas.⁶

Bibliografía

ABAD-FRANCH F. & AGUILAR M.: Control de la Enfermedad de Chagas en el Ecuador, OPS/OMS (Publicación auspiciada por Ayuda Popular Noruega, Catholic Relief Services, COOPI, Médicos Sin Fronteras y Oxfam) Quito, Ecuador, (2003) (8)

ABAD-FRANCH F, PAUCAR CA, CARPIO C, CUBA CUBA CA, AGUILAR VM, MILEs MA Biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) in Ecuador: implications for the design of control strategies, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, 611-620. (2001). (13)

AGUILAR VHM, ABAD-FRANCH F, RACINES VJ, PAUCAR CA. Epidemiology of Chagas disease in Ecuador. A brief review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94 (Suppl. 1), 387-393 (1999). (1)

- AVILÉS H., CEVALLOS P., CHAMPALOUX C, et al.: *Rhodnius ecuadoriensis* en áreas endémicas de tripanosomiasis americana en Ecuador: *Parasitología al día* 19, 23. (1995) (11)
- CUBA, C., ABAD - FRANCH, F., ROLDÁN J., VARGAS F., POLLACK L. AND MILES M.: The triatomines of Norther Perú, with emphasis on the ecology and infection by Trypanosomes of *Rhodnius ecuadoriensis* (Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz- Río de Janeiro* 97 (2) 175 - 183. (2002) (14)
- DEFRANC I. Prevalencia de la enfermedad de Chagas en el Ecuador. Informe 1983 - 1986 *Rev. Ecuat. Hig. Med. Tropical* 37 (2): 13 - 58, (1987) (10)
- DORN PL, ENGELKE D., RODAS A., ROSALES A., MELGAR S., BRAHNEY B., FLORES J., and MONROY C. - Utility of the polymerasa chain reaction in the detection of *Trypanosoma cruzi* in Guatemalan chagas's diseases vectors. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 60 (5); 740-745 (1999) (16)
- FERNÁNDEZ T: Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en Guayaquil Tercera reunión sub regional andina para la transmisión vectorial y transfusional para la eliminación de la Enfermedad de Chagas. OPS/OMS, Guayaquil, Ecuador, junio 7-8 (2000) (9)
- FERNÁNDEZ R. T., FERNÁNDEZ C. T., INTRIAGO C. Transmisión intradomiciliaria de *Trypanosoma cruzi* por *Rhodnius ecuadoriensis*, *Medicina*, 8 (3), 202 - 206. (2003) (15)
- FERNÁNDEZ J.C., ZAMBRANO J, & FERNÁNDEZ T.. Reporte de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae, vectores de la Enfermedad de Chagas, en la zona de Nuevo Zapotal, cantón Ventanas, Provincia de Los Ríos, *Revista de Patología Tropical*, 37 (4), 355-362 (2008). (19)
- FERNÁNDEZ T.: La Enfermedad de Chagas: su control por el mejoramiento de la vivienda. *Archivos de la Academia Ecuatoriana de Medicina*, Vol 5, 347 - 361 (2004) (20)
- LAZO R 1985. Parásitos, reservorios, control. Situación regional de la enfermedad de Chagas en Ecuador, p. 413-427. In RU Carcavallo, JE Rabinovich & RJ Tonn (eds), *Factores Biológicos y Ecológicos de la Enfermedad de Chagas*, vol. II: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud OPS/OMS, Servicio Nacional de Chagas, Ministerio de Salud y Acción Social, República Argentina. (12)
- LUQUETTI OSTERMAYER A, AGUILAR M & ABAD-FRANCH F.: En: Fernández T: *Texto de Medicina Tropical*, Editorial Universitaria, Guayaquil Ecuador, 474 pag (2004), *Enfermedad de Chagas (Tripanosomosis americana)*, 99 - 124 (2)
- OPS/OMS: Segunda reunión subregional andina sobre la interrupción de la transmisión vectorial y transfusional del *Trypanosoma cruzi*, (1999) Maracay, Venezuela Informe 8 - 9 de abril. (7)
- OPS/OMS: V reunión subregional andina sobre la interrupción de la transmisión vectorial y transfusional del *Trypanosoma cruzi* Guayaquil, Ecuador, junio 7- 8. Informe (2003) (6)
- SCHEMUNIS G.: En: La enfermedad de Chagas y el sistema nervioso. Organización Panamericana de la salud (OPS). *Publicación Científica* 547 (1994) *La tripanosomiasis americana como problema de salud pública* , 3-31 (3)
- SOLARI A., ORTIZ S., SOTO A., ARANCIBIA C., CAMPILLAY R., CONTRERAS M., SALINAS P., ROJAS A., and SCHENONE; Treatment of *Trypanosoma cruzi*-infected children with nifurtimox: a 3-year follow up by PCR *J. Antimicrob. Chem* 48, 515-519 (2001)(17)
- UNDP/World Bank/WHO TDR: Andean countries initiative launched in Colombia, *TDR News*, 53, 3. (1997). (5)
- VIRREINA M., TORRICO F., TRUYENS C., ALONSO-VEGA C., SOLANO M., CARLIER Y., and SVOBODA M. Comparision of Polymerase Chain Reaction methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 68(5),2003, 574 - 582 (secuencia de primers) (18)
- WHO. Control of Chagas diseases. Second report of the WHO expert committee. *WHO Technical Report Series*, 905, 109 (2002) (4)



◀ **Dr. Telmo Fernández**

Profesor de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Guayaquil
 Director del Instituto de Investigaciones Médicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Guayaquil
 Autor de varios libros.

e-mail: telmo1312@hotmail.com

Sc. Nelly Castillo

Bl. Juan C. Fernández

Bl. Jéssica Zambrano

Bl. Elvía Aspiazu

Dr. José Dueñas