

**ESCUELA DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS,
ANIMALES Y AMBIENTALES
MEDICINA VETERINARIA**

Detección molecular de *Trypanosoma cruzi* en seis especies de quirópteros de Chile

DANIEL EMILIO MARTÍNEZ MARIN

Tesina para optar al Título Profesional de Médico Veterinario

Profesor/a guía
Gemma Rojo Aravena
Profesor/a colaborador/a
Christian Hidalgo Franco

Octubre 2023
San Fernando, Chile

**ESCUELA DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS,
ANIMALES Y AMBIENTALES
MEDICINA VETERINARIA**

Detección molecular de *Trypanosoma cruzi* en seis especies de quirópteros de Chile

DANIEL EMILIO MARTÍNEZ MARIN

Tesina para optar al Título Profesional de Médico Veterinario

Calificaciones

PROFESOR/A GUÍA

Gemma Rojo Aravena

Médica Veterinaria, Doctorada en Ciencias

Silvoagropecuarias y Veterinaria de la

Universidad de Chile

PROFESOR/A COLABORADOR/A

Christian Hidalgo Franco

Médico Veterinario, Doctorado en Ciencias

Biomédicas de la Universidad de Chile

PROFESORES EVALUADORES

Nombre, apellidos

Título profesional, grado académico

Nombre, apellidos

Título profesional, grado académico

Octubre 2023
San Fernando, Chile

DEDICATORIA

A mi madre, María Eugenia, por su apoyo incondicional, su amor único y sus hermosas vibras
que me fueron abriendo camino para lograr ser un profesional.

Agradecimientos

A mis queridos padres, María Eugenia y Rodrigo, por la motivación y apoyo entregado en cada paso de esta trayectoria, por siempre confiar en mis capacidades, por estar presente desde el inicio, agradezco enormemente su amor incondicional.

A mi hermana Javiera por su entendimiento, sabiduría y fuerzas para conseguir mis metas.

A mi tía Angélica por estar presente desde el momento uno al ingresar a esta carrera y siempre incentivarme a seguir y ser un gran profesional.

A tía Emilia por entregarme su compañía, brindarme su acogedor hogar, su tranquilidad y paciencia en estos años.

A mis compañeros y amigos que siguieron este camino junto a mí, por su entusiasmo y conocimientos compartidos, por mostrarme que todo se puede siendo constante, seguro y confiando de mí mismo.

A Daniela Estay por el tiempo que dedicó en las correcciones, la paciencia y todo el aprendizaje que me brindó en laboratorio.

A Dra. Gemma Rojo por su enfoque en el desarrollo de esta tesina, por sus correcciones y excelente disposición y entusiasmo.

Contenido

Índice de tablas	iv
Índice de figuras	iv
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT	iv
INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS	5
OBJETIVO GENERAL.....	5
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
RESULTADOS	9
DISCUSIÓN	15
CONCLUSIONES	19
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20

Índice de tablas

Tabla 1 Número de individuos analizados por especie y su distribución por Región.	9
Tabla 2 Resultados PCR en tiempo real para <i>T. cruzi</i> por muestra de tejido analizado y sus respectivos Ct promedio.	10
Tabla 3 Identificación de muestras por especie de quiróptero y resultado del PCR en tiempo real para <i>Trypanosoma cruzi</i> por tejido de cada individuo analizado.	11

Índice de figuras

Figura 1 Ciclo de vida de <i>T. cruzi</i> . W = Ciclo silvestre de parásitos entre mamíferos silvestres y sinantrópicos y componentes bióticos. D = Ciclo doméstico con parásitos como zooantroponosis (transmisión de animal al humano), antroponosis (transmisión de humano al animal), antroponosis (transmisión entre humanos) y microenzootia (transmisión entre vectores). Wn = Subciclos silvestres. Dn = Subciclos domésticos. Los signos de interrogación se refieren al desconocimiento de patrones de circulación del parásito. Línea punteada corresponde a una supuesta ruta (Herrera, 2014).	3
Figura 2 Detección de <i>Trypanosoma cruzi</i> por individuo de cada especie de quiróptero, donde: An hasta Gn representan a cada individuo del estudio diferenciado de la especie.	12
Figura 3 Detección de <i>T. cruzi</i> en las 176 muestras de las especies analizadas, con 43 muestras positivas y 133 muestras negativas.	13
Figura 4 Infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> en tejidos analizados.	14
Figura 5 Porcentaje de infección por tejido (n=43).	14

RESUMEN

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana es producida por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). En Chile, esta enfermedad es considerada hiperendémica desde la región de Arica hasta la región del Libertador General Bernardo O'Higgins y puede afectar a diversas especies de vertebrados silvestres, domésticos, y seres humanos. El estudio de quirópteros infectados con este protozoo en Chile es escaso, no así en otros países, y existe poca información sobre su función como reservorio. En la actualidad, se han descrito 17 especies de quirópteros en el país, y solo dos especies infectadas por *T. cruzi*. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la presencia de ADN de *Trypanosoma cruzi* en treinta ejemplares de quirópteros recolectados de 4 regiones de Chile: Atacama, Valparaíso, Metropolitana y del Libertador General Bernardo O'Higgins. Se estudiaron 176 muestras de tejido de las siguientes especies: *Tadarida brasiliensis*, *Myotis atacamensis*, *Histiotus macrotus*, *Lasiurus varius*, *Histiotus montanus*, *Lasiurus cinereus* y *Myotis chiloensis*. Se analizaron mediante la técnica PCR en tiempo real con partidores específicos para *T. cruzi*, detectando 43 muestras positivas en seis especies de quirópteros. Se obtuvieron seis nuevas especies positivas a *T. cruzi*, alcanzando actualmente ocho especies de quirópteros que pueden infectarse con el parásito en Chile. Se encontró un 24,43% como frecuencia de infección en quirópteros dentro de la investigación. Los órganos con mayor frecuencia de presentación fueron riñón, bazo y corazón. La investigación remonta información relevante respecto a los hábitos de alimentación de las especies de quirópteros positivos a *T. cruzi*, ya que al ser insectívoros podrían revelar nuevas rutas de transmisión hacia estos animales silvestres. Por estas menciones y los resultados de este trabajo se refuerza la importancia de estudiar la infección natural de *T. cruzi* en distintas especies silvestres presentes en Chile.

Palabras Claves: *Trypanosoma cruzi*, quirópteros, Chile.

ABSTRACT

Chagas disease or American Trypanosomiasis is caused by the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). In Chile, this disease is considered hyperendemic from the region of Arica to the region of Libertador General Bernardo O'Higgins and can affect various species of wild and domestic vertebrates, and humans. The study of chiroptera infected with this protozoan in Chile is scarce, not so in other countries, and there is little information on its role as a reservoir. At present, 17 species of bats have been described in the country, and only two species have been detected infected by *T. cruzi*. The present study aimed to determine the presence of *Trypanosoma cruzi* DNA in thirty chiropteran specimens collected from four regions of Chile: Atacama, Valparaíso, Metropolitana and Libertador General Bernardo O'Higgins. We studied 176 tissue samples from the following species: *Tadarida brasiliensis*, *Myotis atacamensis*, *Histiotus macrotus*, *Lasiurus varius*, *Histiotus montanus*, *Lasiurus cinereus* and *Myotis chiloensis*. They were analyzed by real-time PCR technique with specific partitions for *T. cruzi*, detecting 43 positive samples in six species of chiroptera. Six new *T. cruzi* positive species were obtained, reaching eight chiropteran species that can be infected with the parasite in Chile. The frequency of infection in chiroptera was 24.43% in the investigation. The organs with the highest frequency of presentation were kidney, spleen, and heart. The research provides relevant information regarding the feeding habits of *T. cruzi* positive chiropteran species, since being insectivorous they could reveal new routes of transmission to these wild animals. These mentions and the results of this work reinforce the importance of studying the natural infection of *T. cruzi* in different wild species present in Chile.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*, chiroptera, Chile.

INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la enfermedad de Chagas, también denominada Tripanosomiasis Americana fue descubierta en el año 1909 por el Dr. Carlos Ribeiro Justiniano Chagas (Reyes, 2009; OMS, 2023). El agente etiológico de esta enfermedad es el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, el cual se transmite a vertebrados domésticos, silvestres, y seres humanos mediante la picadura y deposiciones de insectos denominados popularmente como vinchucas (Triatominae), que actúan como vectores biológicos (Orellana y Arriaza, 2010; Herrera, 2014). A pesar de que existen vías de transmisión congénitas transplacentarias, vía oral y también transfusionales en el humano, la transmisión vectorial fue considerada una de las principales para su ciclo biológico, siendo las vinchucas los insectos vectores diseminadores del parásito (OMS, 2023). Dentro del ciclo biológico de *T. cruzi*, estos vectores actúan como reservorios tanto en el ciclo silvestre, en mamíferos silvestres (Canals *et al.*, 1998) y en reptiles (Botto-Mahan *et al.*, 2022), como en el ciclo doméstico, animales domésticos y sinantrópicos, es decir, especies que habitan en ecosistemas antropizados junto al ser humano (Canals *et al.*, 1998).

En Chile, *T. cruzi* puede ser transmitido por 4 especies de triatominos descritas: *Triatoma infestans*, *Mepraia spinolai*, *Mepraia gajardoi* (Canals *et al.*, 2000) y *Mepraia parapatrica* (ISPCH, 2012). Se describe que *M. spinolai*, *M. gajardoi* y *M. parapatrica* corresponden a triatominos silvestres endémicos de Chile (Botto-Mahan *et al.*, 2015). Un estudio publicado por Órgano Oficial de la Federación Latinoamericana de Parasitólogos (FLAP), 2015, menciona que *Mepraia spinolai* está distribuida entre la región de Atacama hasta la región del Libertador General Bernardo O'Higgins, teniendo mayor actividad durante el día en medios silvestres y valles (grietas, guaridas de animales, entre otras) siendo posible encontrarla en sitios de ocupación humana, como por ejemplo los dormitorios de residencias, y también habitando zonas costeras (Canals *et al.*, 2006; FLAP, 2015). No está descrito que esta especie

actúe en la transmisión de *T. cruzi* al humano, no así *Triatoma infestans*, que ha mantenido cierta tendencia antropofílica (Lorca H *et al.*, 2001), esta se muestra activa durante la noche y opta por ocupar el barro como refugio, paredes y techos en alrededores de residencias humanas. Esta especie utiliza la sangre humana y de varios animales domésticos y silvestres para nutrirse (Canals *et al.*, 1998; Bacigalupo *et al.*, 2006). *Triatoma infestans* ha quedado reducida a pequeños focos en algunas zonas rurales (Bacigalupo *et al.*, 2006) y también en ambientes silvestres (Silveira *et al.*, 2002; Rosas *et al.*, 2005), gracias al Programa Nacional de Control Vectorial desde la Región de Arica y Parinacota y la Región de O'Higgins (ISPCH, 2018), por lo tanto, la transmisión vectorial hacia el humano estaría interrumpida en el país tal como informó la Comisión Internacional de Certificación de la Interrupción de la Transmisión Vectorial de la enfermedad de Chagas en el año 2001 (Lorca H *et al.*, 2001) manteniéndose esta información el año 2022, en la Vigésimoquinta Reunión y Primera Reunión Virtual de la Comisión Intergubernamental de la Iniciativa Subregional del Cono Sur para la Eliminación de *Triatoma infestans* y la Interrupción de la Transmisión Transfusional de la Tripanosomiasis Americana (OPS, 2022). Por otro lado, *M. gajardoi* habita entre las regiones de Tarapacá y Antofagasta y se asocia a la costa, utiliza mayoritariamente nidos de las aves costeras y también habita en valles (FLAP, 2015). *Mepraia parapatrica* es una especie descrita recientemente y se informa que habita también en el norte grande del país (regiones de Arica y Parinacota, Tarapacá y Antofagasta) (ISPCH, 2012).

T. cruzi está presente en animales silvestres desde hace más de 9000 años, distribuyéndose en Latinoamérica en el humano desde el sur de Estado Unidos, hasta la zona centro de Chile y el sur de Argentina, en donde se estima aproximadamente que 6 a 7 millones de personas se encuentran infectadas (OMS, 2021). En Chile se ha denominado área “hiperendémica” desde la región de Arica y Parinacota hasta la región del Libertador General Bernardo O'Higgins, en donde aproximadamente 873.415 personas están en riesgo de exponerse a la enfermedad (MINSAL, 2014).

En datos recopilados de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), *T. cruzi* afecta especies como: zarigüeyas, armadillos, mapaches, ardillas, ratas, ratones, perros, gatos, murciélagos, burros, zorros, monos y cerdos (OPS, 2018), algunas de estas 150 especies de mamíferos silvestres se encuentran naturalmente infectados con el parásito, algunos reservorios poseen un papel importante en el mantenimiento de los ciclos de interacción doméstica/peridoméstica y silvestre en la enfermedad de Chagas (Rosas *et al.*, 2005). Se han estudiado dos ciclos de transmisión de este parásito: ciclo doméstico en donde *T. infestans* es el principal vector hacia el humano y animales domésticos; y el ciclo silvestre en donde participan *Mepraia spp* y animales silvestres (Figura 1). Estos ciclos son un factor que dificulta el sistema de vigilancia de esta enfermedad (Valenzuela, 2017).

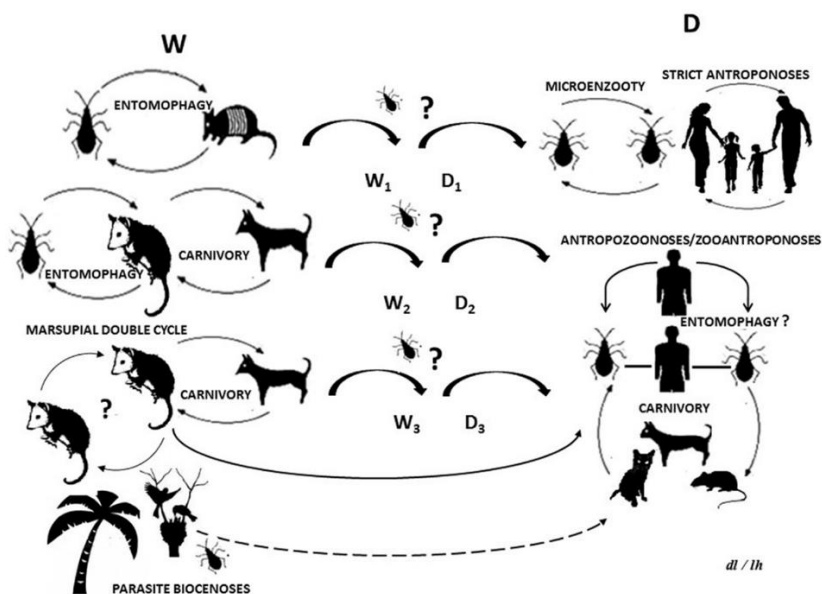


Figura 1 Ciclo de vida de *T. cruzi*. **W**= Ciclo silvestre de parásitos entre mamíferos silvestres y sinantrópicos y componentes bióticos. **D**= Ciclo doméstico con parásitos como zooantroponosis (transmisión de animal al humano), antroponosis (transmisión de humano al animal), antroponosis (transmisión entre humanos) y microenzootia (transmisión entre vectores). **Wn**= Subciclos silvestres. **Dn**= Subciclos domésticos. Los signos de interrogación se refieren al desconocimiento de patrones de circulación del parásito. Línea punteada corresponde a una supuesta ruta (Herrera, 2014).

Para *T. cruzi* se designan Unidades de Tipificación Discreta (DTU), las cuales refieren a la evolución del protozoo según similitud genética dentro de esa población, y que se les identifica con marcadores moleculares, a partir de esta descripción se han designado seis DTU para *T. cruzi*: TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV y TcVI, estas seis generan infección en los humanos y se incluye un séptimo linaje: Tcbat que es propio de los murciélagos (Zingales *et al.*, 2012). Según el estudio de Marcili *et al.*, 2009, el genotipo Tcbat se forma a partir de que ciertos aislados de *T. cruzi* de su investigación no se relacionaban con genotipos ya descritos, ya que existían distancias genéticas entre los linajes, aun así, destacan que la filogenia de *T. cruzi* sigue incompleta hasta obtener mayor análisis de aislados de más linajes (Marcili *et al.*, 2009).

En Chile se describen 17 especies nativas de murciélagos clasificados como especies protegidas por la Ley N° 4.601 de Caza (Artículo 4) (Rodríguez-San Pedro *et al.*, 2016; Quiroga *et al.*, 2022; Rodríguez-San Pedro *et al.*, 2023). Estas especies de quirópteros clasificadas por tipo de alimentación son: insectívoras: *Amorphochilus schnablii*, *Mormopterus kalinowskii*, *Promops davisoni*, *Nyctinomops aurispinosus*, *Eumops perotis*, *Tadarida brasiliensis*, *Myotis atacamensis*, *Myotis arescens*, *Myotis chiloensis*, *Histiotus laephotis*, *Histiotus montanus*, *Histiotus macrotus*, *Histiotus magellanicus*, *Lasiurus varius* y *Lasiurus villosissimus*; de alimentación sanguívora: *Desmodus rotundus*; y nectátivo: *Platylina genovensium* (Allendes y Rodríguez-San Pedro, 2023). De estas especies solo se ha detectado presencia de *T. cruzi* en dos: *D. rotundus* e *H. montanus* (Quiroga *et al.*, 2022).

Es fundamental ampliar el estudio de la presencia de *Trypanosoma cruzi* en las especies de murciélagos, para conocer su rol en la mantención y transmisión del parásito tanto en el ciclo silvestre como en el doméstico. El objetivo de este estudio es determinar la presencia de *T. cruzi* en muestras de 7 especies de murciélagos nativos de Chile, con la finalidad de ampliar el repertorio de quirópteros infectados con el parásito en el país y así contribuir e incentivar nuevos estudios con mayor número de especies.

HIPÓTESIS

Debido a que se ha registrado ADN de *Trypanosoma cruzi* en *Desmodus roduntus* e *Histiotus montanus*, especies nativas de Chile, se espera que exista presencia de *T. cruzi* en otras especies de murciélagos que habitan en Chile como lo son *Tadarida brasiliensis*, *Myotis atacamensis*, *Histiotus macrotus*, *Lasiurus varius*, *Histiotus montanus*, *Lasiurus cinereus* y *Myotis chiloensis*.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de ADN de *Trypanosoma cruzi* en muestras de siete especies de murciélagos procedentes de regiones chilenas hiperendémicas para la Enfermedad de Chagas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Detectar la presencia de ADN de *Trypanosoma cruzi* en tejidos de individuos correspondientes a las especies *Tadarida brasiliensis*, *Myotis atacamensis*, *Histiotus macrotus*, *Lasiurus varius*, *Histiotus montanus*, *Lasiurus cinereus* y *Myotis chiloensis*.
- Determinar la frecuencia de infección por *Trypanosoma cruzi* y los órganos afectados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El presente estudio considera ejemplares colectados en 4 regiones de Chile: Atacama (27°22'00"S 70°19'56"O), Valparaíso (33°02'46"S 71°37'11"O), Metropolitana de Santiago (33°26'16"S 70°39'01"O) y del Libertador General Bernardo O'Higgins (34°22'19"S 71°07'28"O), considerándose estos individuos para el estudio dado que provenían de zonas endémicas del protozoo en donde el patrón biológico de *T. cruzi* se mantiene producto de la población de vectores y su ambiente árido y semiárido (Orellana-Halkyer *et al.*, 2010).

Tipo de muestra

Se obtuvo muestras de tejido de seis órganos por cada individuo (n=30 murciélagos) correspondientes a: corazón, pulmón, hígado, bazo, intestino y riñón, obteniendo así un total de 176 muestras de tejido. Las muestras previo a la extracción de ADN se mantuvieron a una temperatura de -20°C en criotubos de 2mL con alcohol al 70% para una correcta conservación del tejido.

Individuos

Los individuos de este estudio correspondieron a 7 especies de murciélagos. Del total de muestras, 6 correspondieron a la especie *Myotis atacamensis* (n=1), 12 muestras de la especie *Myotis chiloensis* (n=2), 18 de la especie *Lasiurus varius* (n=3), 30 de *Lasiurus cinereus* (n=5), 48 de *Histiotus macrotus* (n=8), 6 muestras de la especie *Histiotus montanus* (n=1), y 56 muestras correspondieron a la especie *Tadarida brasiliensis* (n=10). Cada individuo tiene procedencia de las 4 regiones mencionadas anteriormente.

Declaración de ética

El estudio con muestras conservadas de especies de murciélagos fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de O'Higgins.

Extracción de ADN

Todas las muestras de tejidos fueron llevadas al laboratorio de Interacción Hospedero-Patógeno del Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales (ICA3) de la Universidad de O'Higgins. De cada órgano, se utilizaron ≤ 30 mg de tejido para la extracción de ADN utilizando E.Z.N.A.® Tissue DNA Kit (OMEGA BIO-TEK, USA), siguiendo las recomendaciones del fabricante con un volumen de elución de 100 μ L. El ADN extraído fue conservado a -20°C hasta su posterior utilización.

Cuantificación del ADN total

La cuantificación del ADN extraído se realizó mediante el espectrofotómetro de microplacas BIOTEK EPOCH2, siguiendo las instrucciones del fabricante, se midió por absorbancia (ng/ μ L) y fueron analizadas con un volumen de 2 μ L de la muestra por duplicado bajo longitudes de onda 260/280nm. Se midió la pureza del ADN desde los valores de absorbancia de 260/280nm, en donde se consideró pureza óptima entre el rango 1,8 – 2,1, y pureza aceptable entre 1,6 – 1,7 (Malatesta *et al.*, 2022).

Detección de Trypanosoma cruzi

Para la detección de *T. cruzi*, se analizó la totalidad de las muestras, mediante un ensayo de PCR en tiempo real, en donde se utilizaron 5 μ L de ADN molde, con el Mix para qPCR HOT FirePol® EvaGreen® (ROX; SYBR), 0,4 μ M de partidor: *Cruzi 1* 5' ASTCGGCTGATCGTTTTCGA 3' y *Cruzi 2* 5' AATTCCTCCAAGCAGCGGATA 3' (Piron *et al.*, 2007), obteniendo un volumen final de 20 μ L.

Para el PCR en tiempo real se prosiguió con el siguiente protocolo: Preincubación de 15 minutos a 95°C, 50 ciclos de 95°C para desnaturalización durante 15 s, 65°C para etapa de hibridación durante 20 s y 72°C como etapa de extensión durante 20 s, finalizando con curva de melting por defecto. Cada muestra fue analizada por duplicado. Las reacciones del ensayo se realizaron en el sistema de detección de PCR en tiempo real LineGene K Plus (modelo FQD 48A). Como control negativo se utilizó agua libre de nucleasas y como control positivo ADN de cultivo de *T. cruzi* obtenido por donación del Dr. Gonzalo Cabrera del Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la Universidad de Chile. Se consideró positiva una muestra cuando la amplificación fue específica con un Ct <36,6.

Declaración de bioseguridad

En el marco de esta investigación, se trabajó bajo las medidas autorizadas por el Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales (ICA3) de la Universidad de O'Higgins.

RESULTADOS

Se analizaron 30 individuos correspondientes a 7 especies de murciélagos presentes en Chile: *Tadarida brasiliensis*, *Myotis atacamensis*, *Histiotus macrotus*, *Lasiurus varius*, *Histiotus montanus*, *Lasiurus cinereus* y *Myotis chiloensis*. Esta información se encuentra recopilada en la Tabla 1.

Tabla 1 Número de individuos analizados por especie y su distribución por Región.

Especie	Número de individuos por Región				Total individuos
	Atacama	Valparaíso	Metropolitana	O'Higgins	
<i>Tadarida brasiliensis</i>	–	2	7	1	10
<i>Myotis atacamensis</i>	1	–	–	–	1
<i>Histiotus macrotus</i>	–	6	2	–	8
<i>Lasiurus varius</i>	–	2	–	1	3
<i>Histiotus montanus</i>	–	1	–	–	1
<i>Lasiurus cinereus</i>	–	–	5	–	5
<i>Myotis chiloensis</i>	–	1	–	1	2
					n= 30

De los 30 individuos se obtuvo 176 muestras de corazón, pulmón, hígado, bazo, intestino y riñón, las cuales fueron procesadas para la extracción de ADN para posteriormente someterlas a PCR en tiempo real con el protocolo ya descrito anteriormente. Se detectaron 43 muestras positivas a *Trypanosoma cruzi*, con un Ct promedio de 35,2, correspondientes a: 1 muestra de tejido de bazo de *M. atacamensis*, 1 muestra de tejido de riñón de *M. chiloensis*, dos individuos de *H. macrotus* y dos *T. brasiliensis*, 1 muestra de tejido de pulmón de *M. chiloensis* y dos individuos de *L. varius*, 1 muestra de hígado y bazo de *L. varius*, un individuo de *L. varius* con los seis órganos positivos, 1 muestra de bazo, intestino y riñón de *L. cinereus*, 1 muestra de bazo e intestino de *L. cinereus*, 1 muestra de corazón, pulmón, hígado y riñón de *L. cinereus*, 1 muestra de corazón, pulmón y riñón de *L. cinereus*, 1 muestra de corazón de *L. cinereus*, 1 muestra de corazón, bazo e intestino de *H. macrotus*, 1 muestra de corazón, hígado, bazo y riñón de *H. macrotus*, 1 muestra de intestino de *H. macrotus*, 1 muestra de

hígado, intestino y riñón de *T. brasiliensis*, y 1 muestra de corazón, hígado y bazo de *T. brasiliensis*. Los resultados de cada tejido de murciélago positivo se encuentran disponibles en la Tablas 2-3 y Figuras 2-4.

Tabla 2 Resultados PCR en tiempo real para *T. cruzi* por muestra de tejido analizado y sus respectivos Ct promedio.

Muestras analizadas	Número de muestras positivas	Ct promedio positivos	Número de muestras negativas	Ct promedio negativos	Total de muestras
Bazo	8	35,71	20	40,08	28
Corazón	7	35,02	23	39,62	30
Pulmón	5	34,85	25	39,88	30
Intestino	6	35,29	24	39,63	30
Hígado	6	34,81	23	38,12	29
Riñón	11	35,59	18	37,72	29
Total	43	35,21	133	39,17	176

Tabla 3 Identificación de muestras por especie de quiróptero y resultado del PCR en tiempo real para *Trypanosoma cruzi* por tejido de cada individuo analizado.

N	Especie	Resultado qPCR por muestra de tejido						Total
		Corazón	Pulmón	Hígado	Bazo	Intestino	Riñón	
A1	<i>Myotis atacamensis</i>	-	-	-	+	-	-	1
B1	<i>Myotis chiloensis</i>	-	-	-	-	-	+	1
B2	<i>Myotis chiloensis</i>	-	+	-	-	-	-	1
C1	<i>Lasiurus varius</i>	-	+	-	-	-	-	1
C2	<i>Lasiurus varius</i>	-	-	+	+	-	-	2
C3	<i>Lasiurus varius</i>	+	+	+	+	+	+	6
D1	<i>Lasiurus cinereus</i>	-	-	-	+	+	+	3
D2	<i>Lasiurus cinereus</i>	-	-	-	+	+	-	2
D3	<i>Lasiurus cinereus</i>	+	+	+	-	-	+	4
D4	<i>Lasiurus cinereus</i>	+	+	-	-	-	+	3
D5	<i>Lasiurus cinereus</i>	+	-	-	-	-	-	1
E1	<i>Histiotus macrotus</i>	+	-	-	+	+	-	3
E2	<i>Histiotus macrotus</i>	+	-	+	+	-	+	4
E3	<i>Histiotus macrotus</i>	-	-	-	-	-	-	0
E4	<i>Histiotus macrotus</i>	-	-	-	-	-	+	1
E5	<i>Histiotus macrotus</i>	-	-	-	-	+	-	1
E6	<i>Histiotus macrotus</i>	-	-	-	-	-	-	0
E7	<i>Histiotus macrotus</i>	-	-	-	-	-	+	1
E8	<i>Histiotus macrotus</i>	-	-	-	-	-	-	0
F1	<i>Histiotus montanus</i>	-	-	-	-	-	-	0
G1	<i>Tadarida brasiliensis</i>	-	-	-	-	-	-	0
G2	<i>Tadarida brasiliensis</i>	-	-	-	-	-	-	0
G3	<i>Tadarida brasiliensis</i>	-	-	+	-	+	+	3
G4	<i>Tadarida brasiliensis</i>	-	-	-	-	-	-	0
G5	<i>Tadarida brasiliensis</i>	-	-	-	-	-	-	0
G6	<i>Tadarida brasiliensis</i>	-	-	-	0	-	+	1
G7	<i>Tadarida brasiliensis</i>	-	-	0	0	-	+	1
G8	<i>Tadarida brasiliensis</i>	-	-	-	-	-	-	0
G9	<i>Tadarida brasiliensis</i>	-	-	-	-	-	-	0
G10	<i>Tadarida brasiliensis</i>	+	-	+	+	-	0	3
Total		7	5	6	8	6	11	43

* (-) Negativo

* (+) Positivo

* (0) Sin tejido

Según las Tablas 2 y 3, se detectaron muestras positivas en múltiples tejidos predominando riñón en donde 11 de 29 muestras resultaron positivas (Ct promedio: 35,59), seguido de bazo con 8 positivas de 28 muestras (Ct promedio: 35,71), y el tejido con menor cantidad de positivos fue pulmón con 5 positivos de 30 muestras totales (Ct promedio: 34,85). En la Tabla 3 no se obtuvieron muestras de tejido de hígado, bazo y riñón en 3 individuos *T. brasiliensis*, las cuales se clasificaron como “sin tejido”, ya sea por pérdida de integridad del órgano o no presencia de éste en el individuo.

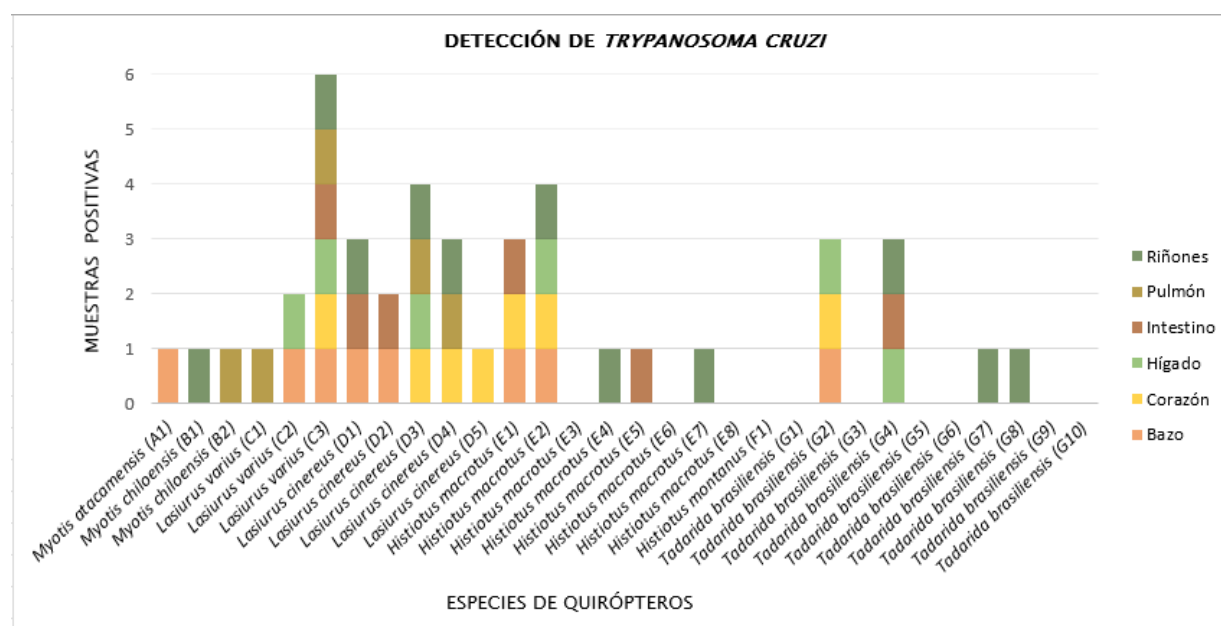


Figura 2 Detección de *Trypanosoma cruzi* por individuo de cada especie de quiróptero, donde: An hasta Gn representan a cada individuo del estudio diferenciado de la especie.

Se determinó la frecuencia de infección de *T. cruzi* en las muestras de murciélagos nativos de Chile mediante el resultado entre el número de muestras positivas y el total de muestras. A través de la técnica PCR en tiempo real resultaron 43 tejidos positivos del total analizado, correspondiendo a un 24,43% de los 176 tejidos muestreados (Figura 3) y se obtuvo un 75,57% del restante negativo.

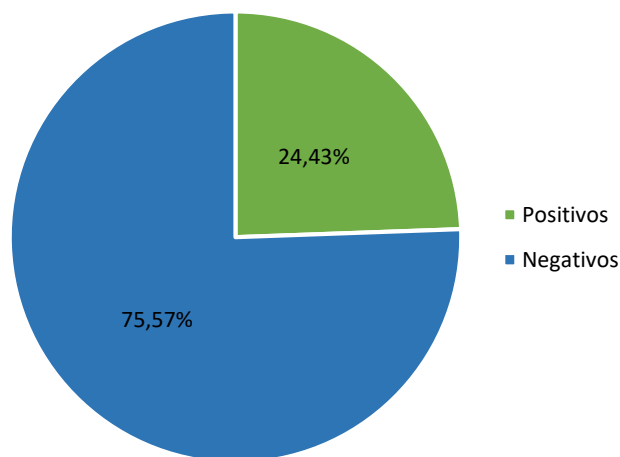


Figura 3 Detección de *T. cruzi* en las 176 muestras de las especies analizadas, con 43 muestras positivas y 133 muestras negativas.

Los resultados por muestra de tejido positivo oscilaron entre 5 y 11 tejidos tal como se observa en la Figura 4. De los tejidos correspondientes a bazo, fueron analizadas 28 muestras, de las cuales 8 se detectaron positivas, dando una positividad de 28,57% en este tejido. En corazón, se analizaron 30 muestras encontrándose 7 positivas, correspondiendo a un 23,33% de positividad. En pulmón el total fue de 30 muestras, siendo 5 de estas positivas a *T. cruzi*, con un 16,66%. De intestino se analizaron 30 muestras encontrándose 6 de ellas positivas, siendo un 20% la positividad. En hígado, de 29 muestras del tejido, 6 resultaron positivas, con un 20,68%. De riñón, de 29 muestras, 11 fueron positivas, obteniendo un 37,93% de positividad en el tejido.

Del número de muestras positivas se desprendieron porcentajes con respecto al total positivo (n=43) y se muestran a continuación en la Figura 5. Estos porcentajes representan que, del total positivo, la frecuencia de presentación por órgano fue: predominando riñón con un 25,58%, seguido de bazo con un 18,60%, corazón con 16,27%, hígado e intestino con 13,95% y pulmón con 11,62%.

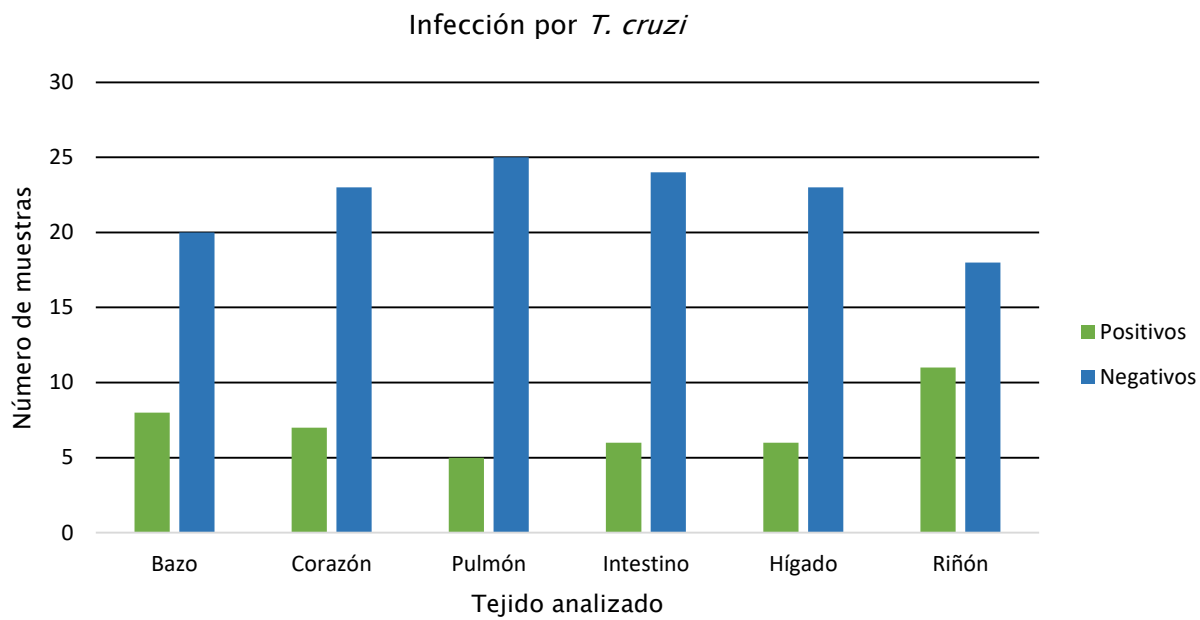


Figura 4 Infección por *Trypanosoma cruzi* en tejidos analizados.

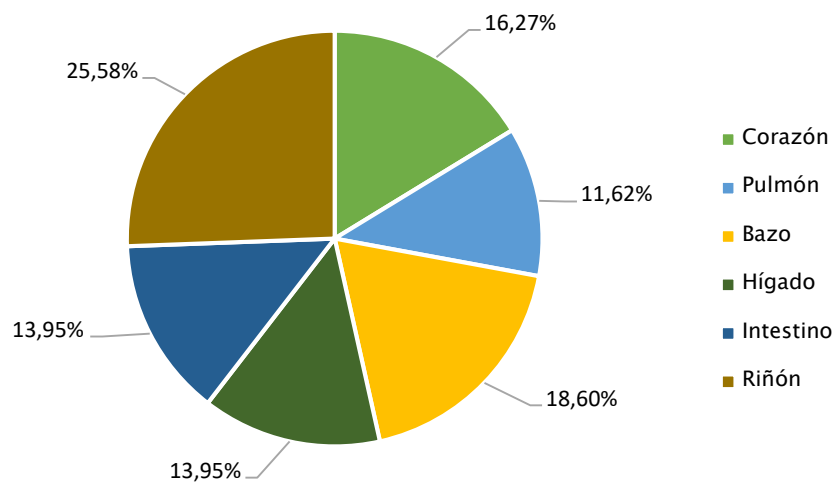


Figura 5 Porcentaje de infección por tejido (n=43).

DISCUSIÓN

El parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* tiene una gran variedad de reservorios mamíferos y dentro de estos se encuentran los murciélagos. En Chile, los insectos vectores principales son los Triatomíneos y estos se encuentran desde la región de Arica hasta la región del Libertador General Bernardo O'Higgins. Actualmente los estudios de infección de *T. cruzi* en especies de quirópteros nativos de Chile son escasos, por dicha razón, se escogió determinar la presencia de este parásito en múltiples tejidos de siete especies de murciélagos nativos.

De los resultados más importantes obtenidos en esta investigación, es que a pesar de que el único individuo analizado de la especie *Histiotus montanus* en esta oportunidad se encontró negativo a la infección por *T. cruzi*, en esta investigación se logran describir 6 nuevas especies hospederas para este protozoo hemoflagelado, siendo estas: *Tadarida brasiliensis*, *Myotis atacamensis*, *Myotis chiloensis*, *Lasiurus varius*, *Lasiurus cinereus* e *Histiotus macrotus*. Los resultados de este estudio corresponden al segundo registro de detección de ADN de *Trypanosoma cruzi* en quirópteros de Chile. En el año 2022 fue reportado el primer estudio que detectó presencia de *T. cruzi* en tejido e hisopados perianales de nueve individuos pertenecientes a las especies: *Desmodus rotundus* e *Histiotus montanus* en la Isla Pan de Azúcar y la Reserva Nacional Las Chinchillas (Quiroga *et al.*, 2022).

Con respecto al tropismo, en las muestras analizadas se obtuvo positividad a *Trypanosoma cruzi* en los siguientes órganos evaluados: corazón, pulmón, hígado, bazo, intestino y riñón, sin embargo, estos resultados no indican parasitemia, puesto que ningún individuo alcanzó una positividad en todos los órganos, excepto un *Lasiurus varius*, pero de todas formas se requiere otro método de diagnóstico para medir la densidad parasitaria y determinar una parasitemia. Al comparar con otras investigaciones, en el estudio de Melo *et al.*, 1978, se inocularon ratones albinos con aislados de *T. cruzi* para generar infección y evaluar posteriormente el parasitismo tisular, los resultados demostraron mayor parasitismo en células

de bazo, hígado, médula ósea, musculo esquelético, músculo liso y corazón, y en menor grado en páncreas, riñón, pulmón, tejido adiposo, esófago y glándulas suprarrenales, destacando corazón, sistema digestivo y sistema nervioso (Melo *et al.*, 1978; Andrade, *et al.*, 2010). Otros estudios describen también, que está mayoritariamente definida su preferencia por corazón, sistema digestivo y nervioso (Matsuda *et al.*, 2009; Silva-Pereira *et al.*, 2019). El tropismo de *T. cruzi* es diverso, en el ciclo de transmisión vectorial se produce una distribución amplia a través del aparato circulatorio; en un principio, por medio de una picadura se genera una herida siendo ésta la principal puerta de entrada del parásito, al ingresar tripomastigotes al hospedero mamífero mediante las heces infectadas, estos penetran las células cercanas al sitio de infección primaria para luego diferenciarse en amastigotes, generando nidos intracelulares, aquí vuelven a diferenciarse a tripomastigotes y estos son liberados al torrente sanguíneo, por el cual se disemina fácilmente el parásito a diversos tejidos como corazón, pulmones, intestino, bazo, hígado, riñones, músculo esquelético, sistema nervioso, entre otros, y dentro de esta variedad de células vuelven a reiniciar el ciclo y continuar con la invasión parasitaria (Silva-Pereira *et al.*, 2019). Se describe entonces que *T. cruzi* tiene una distribución heterogénea en sus hospedadores mamíferos asociada a la mayoría de los tejidos, que condice con este estudio en que el tropismo en los murciélagos se comporta de manera diversa con respecto a los órganos infectados, al igual que en otros mamíferos.

Si bien, este es el segundo reporte en Chile, en países vecinos no son casos esporádicos, pues existen similares estudios previos que han encontrado murciélagos infectados; por ejemplo, en Brasil del año 2009, aislaron 15 murciélagos positivos a *T. cruzi* de especies insectívoras de *Myotis spp.*, *Noctilio albiventris*, *Thyroptera tricolor*, y *Carollia perspicillata* especie frugívora e insectívora (Marcili *et al.*, 2009). En Ecuador, desde el año 2007 al 2012, se procesaron 74 individuos que habitaban en construcciones humanas y bosques de comunidades rurales de los que se recogieron muestras de sangre, hígado, corazón y tejido muscular; del total, 27 fueron positivos (36,5%) para *T. cruzi* (Pinto *et al.*, 2015). El año 2012 en Panamá, de 216 muestras sanguíneas de murciélagos frugívoros (*Artibeus jamaicensis*), 25

(11,6%) fueron positivas a ADN del protozoo (Pinto *et al.*, 2012). El 2014 en Colombia, se capturaron 175 ejemplares de 6 especies de murciélagos; *Carollia perspicillata*, *Myotis oxyotus*, *Desmodus rotundus*, *Artibeus planirostris*, *Rhynchonycteris naso* y *Artibeus fuliginosus* y se detectó en muestras sanguíneas positividad a *T. cruzi* en 107 individuos (Ramírez *et al.*, 2014). El año 2015 en Argentina, analizaron distintas especies de micromamíferos en ambientes silvestres, una de ellas *Desmodus rotundus*, que resultó positivo al parásito, siendo este el primer reporte en esta especie (Argibay *et al.*, 2015). Analizando estas detecciones, independiente del tipo de muestras que se recolectaron en cada estudio (sangre o tejido) y las diversas especies de quirópteros presentes en los países, la detección de *T. cruzi* en murciélagos resulta positiva.

Se puede considerar que los quirópteros son un riesgo potencial para la salud humana, pues se sabe que estos han pertenecido a uno de los reservorios con función de transmisión de una gran cantidad de enfermedades zoonóticas (Tamsitt & Valdivieso, 1970). Aunque en Chile las rutas de transmisión desde animal silvestre a humano aún no están claras, la vigilancia es aplicada hacia la transmisión transfusional y vectorial (OPS, 2022) y no se han reportado hasta ahora ningún caso de humanos con la enfermedad transmitida por quirópteros. En Brasil y México se encontró *T. cruzi* en coprolitos de momias e infieren que mamíferos o triatominos infectados pueden haber sido parte de la dieta de estos humanos primitivos (Herrera, 2010); el año 2010 en Venezuela ocurrió un contagio de más de 100 jóvenes, transmitido por un jugo de guayaba contaminado con heces del vector de este parásito, y dictaminan posible la transmisión oral a través de alimentos contaminados con heces del vector (Alarcón de Noya *et al.*, 2010); corroborando lo anterior, el parásito tiene la capacidad de infectar a mamíferos mediante vía oral en estado de tripomastigote gracias a una glicoproteína (gp82) que genera resistencia a la proteólisis de la mucosa gástrica, tal como se menciona en un artículo de revisión de Toso *et al.*, 2011, en donde indican una latencia de 5 días post ingesta, una manifestación clínica aguda grave y luego signos cardiacos, considerando que la transmisión oral es a través de la ingesta del vector o sus deyecciones, como consumo de reservorios

infectados. Otra vía de transmisión posible desde el murciélago al humano es mediante mordedura, no obstante, en un reciente estudio realizado en Perú (Bergner *et al.*, 2021), encontraron *T. cruzi* en glándulas salivales de murciélagos hematófagos correspondientes a las especies *Diphylla ecaudata* y *Desmodus rotundus*, en donde sostienen que puede ser una ruta de transmisión. Es por ello que es relevante investigar la presencia del protozoo en glándulas salivales de murciélagos hematófagos en Chile, en donde la única especie hematófaga en el país es *Desmodus rotundus*, y así, mantener cierta importancia también en esta especie como hospedero y posible transmisor de este parásito zoonótico.

De las 17 especies de quirópteros en Chile, 15 son insectívoros (Favic *et al.*, 1999; Galera *et al.*, 2008; Giménez, 2010; Ossa & Rodríguez-San Pedro, 2015; Altamirano *et al.*, 2017; Corcoran & Weller, 2018; Gamboa-Alurralde *et al.*, 2019; Ossa *et al.*, 2019; Flores-Quispe *et al.*, 2020; Portugal-Zegarra *et al.*, 2020; Rodríguez-Pinto *et al.*, 2022; Monteagudo *et al.*, 2023), 1 hematófago (Quiroga *et al.*, 2022) y 1 nectarívoro (Ossa *et al.*, 2020). En nuestro estudio analizamos 7 especies insectívoras, de las cuales 6 resultaron ser positivas a *T. cruzi*, si se considera que triatomíneos comparten un mismo hábitat con murciélagos, podrían existir 2 posibles vías de transmisión: los murciélagos se alimenten de los vectores (vinchucas) y contraigan la infección vía oral, o en el segundo caso, las vinchucas en algún momento del día se alimenten de ellos cuando los murciélagos se encuentran inactivos y defequen para transmitir la infección vía cutánea; no existen evidencias específicas que asocien triatomíneos en dormitorios de murciélagos, pero en el primer reporte de detección de *T. cruzi* en murciélagos en Chile (Quiroga *et al.*, 2022), consideran también estas opciones de transmisión.

CONCLUSIONES

El presente estudio reporta el hallazgo de *Trypanosoma cruzi* en 6 de 7 especies de murciélagos (*M. atacamensis*, *M. chiloensis*, *L. varius*, *L. cinereus*, *H. macrotus*, *H. montanus* y *T. brasiliensis*), obteniendo un 24,4% (n=43) de positividad. Estos hallazgos aumentaron el número de especies de quirópteros hospederos de *T. cruzi* en Chile, desde 2 especies ya descritas: *Desmodus rotundus* e *Histiotus montanus*, a un número de 8 especies hospederas en la actualidad.

La frecuencia de infección en órganos de murciélagos fue de 24,4% de positividad en total, siendo riñón el tejido con mayor positividad, con 25,58%.

Estos resultados fortalecen el rol que tienen las especies de murciélagos en la transmisión del parásito. Las especies de murciélagos que no habían sido evaluadas antes aportan información relevante para comenzar con estudios más profundos en distintas regiones del país, pues estos hallazgos indican que existe una gran complejidad de distribución del protozoo en múltiples especies, siendo importante en el ámbito de salud pública y epidemiológica. Sin embargo, aunque hay información en distintos países latinoamericanos, aún no se logra concretar un estudio completo de *T. cruzi* en murciélagos, con todas las vías de transmisión posibles y su riesgo actual para la población humana.

Son necesarias investigaciones exhaustivas con un amplio número de muestras en regiones de Chile sobre detección de *T. cruzi* en quirópteros para obtener resultados representativos y homogéneos, y así establecer un catálogo de estas especies hospederas, pues al igual que con otros patógenos, deben tener un papel en la transmisión del parásito hacia el humano y especies domésticas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Añez, N., Crisante, G., Soriano, P. (2009). *Trypanosoma cruzi* congenital transmisión in wild bats. Acta Trop. Jan;109(1):78–80. Obtenido de 10.1016/j.actatropica.2008.08.009

Alarcón de Noya, B., Díaz-Bello, Z., Colmenares, C., Ruiz-Guevara, R., Mauriello, L., Zavala-Jaspe, R., Suarez, JA., Abate, T., Naranjo, L., Paiva, M., Rivas, L., Castro, J., Márques, J., Mendoza, I., Acquatella, H., Torres, J., Noya, O. (2010). Gran brote urbano de enfermedad de Chagas aguda adquirida por vía oral en una escuela en Caracas, Venezuela, The Journal of Infectious Diseases, volumen 201, número 9, páginas 1308–1315. Obtenido de <https://academic.oup.com/jid/article/201/9/1308/876316>

Andrade, L.; Galvão, L.; Meirelles, MN.; Chiari, E.; Macedo, A. (2010). Differential tissue tropism of *Trypanosoma cruzi* strains: an in vitro study. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Obtenido de <https://doi.org/10.1590/S0074-02762010000600018>

Argibay, H., Orozco, MM., Rinas, MA., Cardinal, M. V., & Gürtler, RE. (2015). *Trypanosoma cruzi* en áreas naturales de Misiones. Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes, 80. Obtenido de <http://www.aazonosis.org.ar/wp-content/uploads/2013/05/Zoo-2015-2-completa-ok.pdf#page=361>

Altamirano, T.; Ibarra, JT.; Novoa, F.; Vermehren, A.; Martin, K.; Bonacic, C. (2017). Roosting records in tree cavities by a forest-dwelling bat species (*Hitiotus magellanicus*) in Andean temperate ecosystems of southern Chile. BOSQUE. Pp 421–425. Obtenido de DOI 10.4067/S0717-92002017000200020

Allendes, JL.; Rodríguez-San Pedro, A. (2023). Murciélagos de Chile. Programa para la Conservación de Murciélagos de Chile. Guía de Bolsillo. Museo Ediciones.

Barreto, M. (1909). Reservoirs of the Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi Chagas- 1909. Biblioteca virtual em saúde. Obtenido de <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-113209>

Botto-Mahan, C.; Ortiz, S.; Rozas, M.; Cattán, P.E.; Solari, A. (2005). DNA evidence of *Trypanosoma cruzi* in the Chilean wild vector *Mepraia spinolai* (Hemiptera: Reduviidae). Short Communication. Vol. 100(3). 237-239p. Obtenido de <http://www.bioline.org.br/pdf?oc05075>

Bacigalupo, A.; Segura, J.A.; García, A.; Hidalgo, J.; Galuppo, S.; Cattán, P.E. (2006). Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile. Revista médica de Chile. Vol. 134(10). Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872006001000003>

Botto-Mahan, C.; Correa, J.P.; Bacigalupo, A.; Campos-Soto, R.; Cattán, P.E.; Solari, A. (2015). Ecología de los triatominos silvestres endémicos de Chile. Revista Parasitología Latinoamericana. 64 (3): 12-19. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Ricardo-Campos-Soto/publication/291165392_Ecologia_de_los_triatominos_silvestres_endemicos_de_Chile/links/56a11e5e08ae24f62701ee86/Ecologia-de-los-triatominos-silvestres-endemicos-de-Chile.pdf

Bergner, L.M., Becker, D.J., Tello, C., Carrera, J.E., Streicker, D.G. (2021). Detection of *Trypanosoma cruzi* in the saliva of diverse neotropical bats. Zoonoses and Public Health. Vol 68. Issue 3. P.271-276. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/zph.12808>

Botto-Mahan, C.; Correa, J.P.; Araya-Donoso, R.; Farías, F.; San Juan, E.; Quiroga, N.; Campos-Soto, R.; Reyes-Olivares, C.; González-Acuña, D. (2022). Lizards as Silent Hosts of

Trypanosoma cruzi. Emerg Infect Dis. 28(6). pp 1250–1253. Obtenido de <https://doi.org/10.3201%2Fcid2806.220079>

Canals, M.; Solis, R.; Valderar, J.; Ehrenfeld, M.; Cattán, P.E. (1997). Preliminary Studies on Temperature Selection and Activity Cycles of *Triatoma infestans* and *T. spinolai* (Heteropteran: *Reduviidae*), Chilean Vectors of Chaga's Disease. Journal of Medical Entomology. Vol. 34(1). 11p.

Canals, M.; Ehrenfeld, M.; Solis, R.; Cruzat, L.; Pinochet, A.; Tapia, C.; Cattán, P.E. (1998). Biología Comparada de *Mepraia spinolai* en Condiciones de Laboratorio y Terreno: Cinco Años de Estudio. Parasitol. día, Vol. 22, n.3–4. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-07201998000300003>

Canals, M.; Ehrenfeld, M.; Cattán, P.E. (2000). Situación de *Mepraia spinolai*, vector silvestre de la enfermedad de Chagas en Chile, en relación con otros vectores desde la perspectiva de sus fuentes de alimentación. Revista médica de Chile, 128 (10), 1108–1112. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872000001000005>

Canals, M., Cruzat, L., Molina, MC., Ferreira, A., Cattán, PE. (2001). Blood Host Sources of *Mepraia spinolai* (Heteroptera: *Reduviidae*), Wild Vector of Chagas Disease in Chile. Journal of Medical Entomology. Vol 38. Pp 303–307. Obtenido de <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.303>

Canals, M.; González, C.; Canals, L.; Canals, A.; Cáceres, D.; Alvarado, S.; Cattán, P.E.; Saavedra, M.; Zulantay, I.; Apt, W. (2017). ¿Qué dicen los números de la evolución temporal de la enfermedad de Chagas? Revista chilena de infectología. Vol. 34 (2). Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182017000200004>

Corcoran, A.; Weller, T. (2018). Inconspicuous echolocation in hoary bats (*Lasiurus cinereus*). Royal Society Publishing. Obtenido de <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0441>

Correa, JP., Bacigalupo, A., Yefi-Quinteros, E., Rojo, G., Solari, A., Cattán, PE, & Botto-Mahan, C. (2020). Infecciones tripanosomáticas entre vertebrados de Chile: una revisión sistemática. *Patógenos*, 9(8), 661. MDPI AG. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens9080661>

Favic, M.; Yung, V.; Pavletic, C.; Ramirez, E.; De Mattos, C.; De Mattos, C. (1999). Rol de los murciélagos insectívoros en la transmisión de la rabia en Chile. *Arch. Med. Vet.* V.31 n2. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X1999000200002>

FLAP- Órgano Oficial de la Federación Latinoamericana de Parasitólogos (2015). Pérdida económica por caprinos infectados con *Trypanosoma cruzi*. IV Región de Coquimbo, Chile. *Revista Parasitología Latinoamericana*. Vol. 64(2). 28-29p. Obtenido de https://sociedadchilenaparasitologia.cl/wp-content/uploads/2018/04/PLA_septiembre_2015.pdf

Flores-Quispe, M.; Calizaya-Mamani, G.; Portugal-Zegarra, G.; Aragón-Alvarado, G.; Pacheco-Castillo, J.; Rengifo, E. (2020). Contributions to the natural history of *Mormopterus kalinowskii* (*Chiroptera: Molossidae*) in the southwest of Peru. *Therya* vol.10 no.3. Obtenido de <https://doi.org/10.12933/therya-19-753>

Galera, J.; Marchizeli, F.; Correa, K.; Achkar, S.; Carrieri, M.; Kotait, I. (2008). Antigenic and genetic characterization of the first rabies virus isolated from the bat *Eumops perotis* in Brazil. *Virology-Rv. Med. Trop.* Obtenido de <https://doi.org/10.1590/S0036-46652008000200006>

Giménez, A. (2010). Primeros registros de *histiotus macrotus* (Chiroptera: Vespertilionidae) en la provincia del Chubut, Argentina. *Mastozoología neotropical*. Vol.17 no.2.

Graiff, D. (2010). Relación entre perros seropositivos a *Trypanosoma cruzi* y alteraciones electrocardiográficas compatibles con miocardiopatía chagásica canina en la localidad de La Para (Córdoba–Argentina). Tesis presentada como parte de los requisitos para optar el grado de Magíster Scientae en Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral. 33p. Obtenido de <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/bitstream/handle/11185/257/tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Gamboa–Alurralde, S.; Díaz, M.; Bárquez, R. (2019). *Histiotus laephotis*. Categorización 2019 de los mamíferos de Argentina según su riesgo de extinción. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Ruben-Barquez/publication/370202844_Histiotus_laephotis/links/64446d938ac1946c7a439336/Histiotus-laephotis.pdf

Herrera, Leidi. (2010). Una revisión sobre reservorios de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 50(1), 3–15. Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1690-46482010000100002&script=sci_arttext

Herrera, L. 2014. *Trypanosoma cruzi*, the causal agent of Chagas disease: boundaries between wild and domestic cycles in Venezuela. *Sec. Epidemiología*. Vol 2. Obtenido de <https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00259>

ISPCH– Instituto de Salud Pública de Chile (2012). Vigilancia para Enfermedad de Chagas 2005 – 2011: Componente vectorial. *Boletín Instituto de Salud Pública de Chile*. Vol. 2(1). Obtenido de <https://www.ispch.cl/sites/default/files/Bolet%C3%ADn%20Chagas%20Corregido%20final.pdf>

ISPOCH– Instituto de Salud Pública de Chile (2018). Vigilancia de Enfermedad de Chagas 2014–2017: Componente vectorial. Boletín Instituto de Salud Pública de Chile. Vol. 8(3). Obtenido de [https://www.ispch.cl/sites/default/files/BoletinChagas-26102018A%20\(2\).pdf](https://www.ispch.cl/sites/default/files/BoletinChagas-26102018A%20(2).pdf)

INE– Instituto Nacional de Estadísticas (2019). Ciudades, pueblos, aldeas y caseríos. 20p. Obtenido de https://geoarchivos.ine.cl/File/pub/Cd_Pb_AI_Cs_2019.pdf

Kjos, S.A.; Snowden, K.F.; Craig, T.; Lewis, B. (2008). Distribution and characterization of canine Chagas disease in Texas. Veterinary Parasitology. Vol. 152(3–4): 249–56p. Obtenido de DOI:[10.1016/j.vetpar.2007.12.021](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.021)

Lorca H, M., García C, A., Bahamondes M, Ml., Fritz M, A., Tassara O, R. (2001). Serological certification of the interruption of the vectorial transmission of Chagas disease in Chile. Revista médica de Chile. V.129 n.3. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872001000300005>

Melo, RC. and Brener, Z. (1978). Tissue Tropism of Different Trypanosoma cruzi Strains. The Journal of Parasitology. Vol. 64. No. 3. Pp 475–482. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.2307/3279787>

Marin, I. (2006). Selección de hospedero por *Mepraia spinolai* (Hemiptera: *Reduviidae*) en experimentos de terreno. Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario, Universidad de Chile. 4p. Obtenido de <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/133637/Selecci%C3%B3n-de-hospedero-por-Mepraia-spinolai-%28Hemiptera-reduviidae%29-en-experimentos-de-terreno.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

MARCILI, L. LIMA, M. CAVAZZANA, JR., A. C. V. JUNQUEIRA, H. H. VELUDO, F. MAIA DA SILVA, M. CAMPANER, F. PAIVA, V. L. B. NUNES and M. M. G. TEIXEIRA (2009). A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. *Parasitology*, 136, pp 641-655 Obtenido de doi:10.1017/S0031182009005861

Matsuda, NM.; Miller, SM.; Barbosa-Evora, PR. (2009). The Chronic Gastrointestinal Manifestations of Chagas Disease. *Clinics*. Vol.64. pp 1219-1224. Obtenido de <https://doi.org/10.1590/S1807-59322009001200013>

MINSAL- Ministerio de Salud. (2014). Norma general técnica. Control y prevención nacional de la enfermedad de Chagas. 15p. Obtenido de http://www.repositoriodigital.minsal.cl/bitstream/handle/2015/838/NORMA-TECNICA_CHAGAS_edici%C3%B3n-definitiva-140514%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Malatesta, MC.; Pinzón, F.; Hernández, LM.; Jauregui, RN. (2022). Colecta de tejido foliar, extracción de ADN y envío de muestras en poblaciones de *Megathyrus maximus* (Pm21) e híbrdos interespecíficos de *Urochloa* sp (Br19) para secuenciación genómica. Alianza Biodiversity International - CIAT. 4p. Obtenido de <https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/126180/Colecta%20de%20tejido%20foliar%2c%20extracci%C3%B3n%20de%20ADN%20y%20env%C3%ADo%20de%20muestras.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Monteagudo, J.; Mena, JL. (2023). Hourly activity patterns of the insectivorous bat assemblage in the urban-rural landscape of Lima, Peru. *Journal of Mammalogy*. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyad015>

Orellana-Halkyer, N.; Arriaza-Torres, B. (2010). Enfermedad de Chagas en poblaciones prehistóricas del norte de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*. Vol. 83(4). 531–541p.

Obtenido de https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-078X2010000400007

Ossa, G.; Rodríguez-San Pedro, A. (2015). *Myotis chiloensis* (Chiroptera: Vespertilionidae). *Mammalian Species*. Vol 47. Pp 51–56. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/mspecies/sev005>

Ossa, G.; Díaz, M.; Barquez, R. (2019). *Lasiurus varius* (Chiroptera: Vespertilionidae). *Mammalian Species*. Vol 51. Pp 119–127. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/mspecies/sez016>

Ossa, G.; Zamora, H.; Velazco, P. (2020). *Platalina genovensium* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Mammalian Species*. Vol 52. Pp 105–113. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/mspecies/seaa008>

Ortega, A.; Aguilar, A.; Torres, J.; Gutierrez, E.; Rosado, J.; Rodriguez, R.; Gutierrez, E.; Bolio, M.; Jimenez, M. (2021). Main scientific contributions of the FMVZ-UADY in the epidemiology of Leptospirosis, Toxoplasmosis, American Trypanosomiasis, and Dirofilariasis in domestic and synanthropic animals. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. Vol 24, No 1. Obtenido de <https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/3473>

OPS– Organización Panamericana de la Salud. (2018). Guía para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Chagas. 10–18p. Obtenido de https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/49653/9789275320433_spa.pdf

OMS– Organización Mundial de la Salud. (2023). La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Obtenido de [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))

OPS– Organización Panamericana de la Salud. (2022). Vigésimoquinta Reunión y Primera Reunión Virtual de la Comisión Intergubernamental de la Iniciativa Subregional del Cono Sur para la Eliminación de *Triatoma infestans* y la Interrupción de la Transmisión Transfusional de la Tripanosomiasis Americana. Obtenido de https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/55729/OPSCDEVT220002_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Piron, M., Fisa, R., Casamitjana, N., López-Chejade, P., Puig, L., Vergés, M., Sauleda, S. (2007). Desarrollo de un ensayo de PCR en tiempo real para la detección de *Trypanosoma cruzi* en muestras de sangre. Acta Tropica, 103(3), 195-200. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.05.019>

Pinto, CM., Kalko, EK., Cottontail, I., Wellinghausen, N., Cottontail, VM. (2012). TcBat a bat-exclusive lineage of *Trypanosoma cruzi* in the Panama Canal Zone, with comments on its classification and the use of the 18S rRNA gene for lineage identification. Infection, Genetics and Evolution. Vol 12. Pp 1328-1332. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.04.013>

Pinto, CM., Ocaña-Mayorga, S., Tapia, EE., Lobos, SE., Zurita, AP., Aguirre-Villacís, F., MacDonald, A., Villacís, AG., Lima, L., Teixeira, MM., Grijalva, MJ., Perkins, SL. (2015). Bats, Trypanosomes, and Triatomines in Ecuador: New Insights into the Diversity, Transmission, and Origins of *Trypanosoma cruzi* and Chagas disease. Research article. Obtenido de <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139999>

Portugar-Zegarra, G.; Flores-Quispe, M.; Calizaya-Mamani, G.; Aragón, G. (2020). New record of *Nyctinomops aurispinosus* with an update of its known distribution. Vol 1. No.2. Obtenido de https://doi.org/10.12933/therya_notes-20-16

Quiroga, N., Campos-Soto, R., Yáñez-Mesa, A., Rodríguez-San Pedro, A., Allendes, J., Bacigalupo, A., Botto-Mahan, C., & Correa, J. (2022). *Trypanosoma cruzi* in *Desmodus roduntus* (common vampire bat) and *Histiotus montanus* (small big-eared brown bat) from Chile. Acta Trópica. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106206>

Rosas, C. (1997). Revisión bibliográfica de las principales Zoonosis Parasitarias en Chile; periodo 1977 - 1994. Tesis de Grado como parte de los requisitos para optar al Grado de Licenciado en Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia. Obtenido de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/1997/fvr789r/doc/fvr789r.pdf>

Reyes, L.; Silesky, E.; Cerdas, C.; Chinchilla, M.; Guerrero, O. (2002). Presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en perros de Costa Rica. Parasitología Americana. Vol. 57(1-2). Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-77122002000100016>

Rosas, M.; Botto-Mahan, C.; Coronado, X.; Ortiz-Zuñiga, S.; Cattán-Ayala, P.; Solari-Illescas, A. (2005). Breve Informe: Infección por *Trypanosoma cruzi* en mamíferos silvestres de una zona chagásica de Chile. Revista Americana de Medicina e Higiene Tropical. 517-518p. Obtenido de <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/127249>

Reyes, P. (2009). La vida y obra de Carlos Chagas a cien años de la descripción de la enfermedad de Chagas-Mazza. Archivos de cardiología de México, 79(4), 237-239. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-99402009000400001

Rodríguez-San Pedro, A.; Simonetti, J. (2013). Foraging Activity by Bats in a Fragmented Landscape Dominated by Exotic Pine Plantations in Central Chile. Acta Chiropterologica. Pp 393-398. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.3161/150811013X679017>

Rodríguez-San Pedro, A.; Allendes, J.L.; Carrasco-Lagos, P.; Moreno, R. (2014). Murciélagos de la Región Metropolitana de Santiago, Chile. Obtenido de https://mma.gob.cl/wp-content/uploads/2017/08/Libro-Murcielagos-de-la-RMS_2014-web.pdf

Ramírez, J.D., Tapia-Calle, G., Muñoz-Cruz, G., Poveda, C., Rendón, L.M., Hincapié, E., Guhl, F. (2014). Trypanosoma species in neotropical bats: Biological, evolutionary and epidemiological implications. Infection, Genetics and Evolution. Vol 22. Pp 250–256. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.06.022>

Rodríguez-San Pedro, A., Allendes, J., & Ossa, G. (2016). Lista actualizada de murciélagos de Chile con comentarios sobre taxonomía, ecología y distribución. Biodiversidad e Historia Natural, 2 (1), 16–39. Obtenido de <https://www.biodiversnathist.com/index.php/bnh/article/view/31>

Rodríguez-Pinto, N.; Díaz, D.; Medina, C.; Villalobos-Chaves, D.; Morales, J.; Bocardo, E.; Lopez, E. (2022). Tamaño del ámbito de hogar de los murciélagos *Myotis atacamensis* (Vespertilionidae) y *Amorphochilus schnablii* (Furipteridae) en los valles costeros del sur de Perú. Rev. Mex. Biodiv. Vol93. Obtenido de <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2022.93.3855>

Rodríguez-San Pedro, A., Pacheco, J., Beltrán, C., Allendes, J.L. (2023). *Eumops perotis* (Schinz, 1821) (*Chiroptera, Molossidae*): a new genus and species for Chile revealed by acoustic surveys. Mammalia. Obtenido de <https://doi.org/10.1515/mammalia-2022-0136>

Silveira, A.C.; Segura, E.; Guillén, G.; Pinto, J.C.; Lorca, M.; Schenone, H.; Valdes, J.; Rojas de Arias, A.; Russomando, G.; Salvatella, R. (2002). El control de la enfermedad de Chagas en los países del cono sur de América. Historia de una iniciativa internacional. 163p.

Sánchez, A. (2019). Enfermedad de Chagas en perros: Una Revisión. Trabajo de grado. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales- U.D.C.A. 16-17p. Obtenido de <https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/2522/ENFERMEDAD%20DE%20CHAGAS%20EN%20PERROS1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Silva-Pereira, S.; Trindade, S.; De Niz, M.; Figueiredo, LM. (2019). Tissue tropism in parasitic diseases. Open Biology. Obtenido de <https://doi.org/10.1098/rsob.190036>

Salas, P. (2020). Epidemiología de la enfermedad de Chagas: alta mortalidad y tasa de incidencia, Región de Coquimbo. Revista chilena de infectología, 37(4), 402-412. Obtenido de <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182020000400402>

Tamsitt, JR.; Valdivieso, D. (1970). Los murciélagos y la salud pública. Estudio con especial referencia a puerto rico. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. Obtenido de <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/11612/v69n2p122.pdf?sequence=1>

Toso, A., Vial, F., Galanti, N. (2011). Transmisión de la enfermedad de Chagas por vía oral. Rev. Méd. Chile vol.139 no2 pp258-266. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872011000200017>

Valenzuela, D. (2017). Prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en caprinos asociados a viviendas rurales de la región de Coquimbo. Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario. Universidad de Chile. 1-5p. Obtenido de <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/145950/Prevalencia-de-Trypanosoma-cruzi-en-caprinos-asociados-a-viviendas-rurales-de-la-Region-de-Coquimbo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Zingales, B.; Miles, MA.; Campbell, DA.; Tibayrenc, M.; Macedo, AM.; Teixeira, MG.; Schijman, AG.; Llewellyn, MS.; Lages-Silva, E.; Machado, CR.; Andrade, SG.; Sturm, NR. (2012). The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infection, Genetics and Evolution*. Vol 12. Pp 240–253. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.12.009>