

ESTABLECIMIENTO DE LA REDTRV EN CHILE



Antonella Bacigalupo

A comienzos del mes de mayo, la Facultad de Cs Veterinarias y Pecuarias de la universidad de Chile, recibió la visita del Dr. Diego Guérin, investigador dedicado al estudio del *virus de Triatoma* (TrV), perteneciente a la Unidad de Biofísica (CSIC-UPV/EHU) situado en las proximidades de la ciudad de Bilbao, en España. TrV es un enemigo natural de los vectores transmisores de la enfermedad de Chagas, y durante las dos conferencias que brindó el visitante expuso la historia y génesis del proyecto denominado “Red Iberoamericana para el estudio del Control Biológico con *Triatoma* virus de triatomos transmisores de Chagas”, financiada por el CYTED (www.cytmed.org).

Como introducción, el Dr. Guérin explicó la situación actual de los estudios de TrV, cuyo aspecto sobresaliente es que infecta a los triatomos (vinchucas), insectos vec-

tores de la enfermedad de Chagas. Se sabe que el virus les provoca alta mortalidad, un desarrollo retardado y una reducción de la fecundidad. Se ha constatado que el virus se desarrolla en el intestino de los triatomos y se transmite entre ellos por: coprofagia (generalmente realizada en los estadios juveniles), canibalismo (algunas vinchucas pican el abdomen de otras), y además por transmisión transovárica.

Para tener una idea del impacto que podría tener la utilización de TrV como controlador biológico de triatomos, podemos mencionar que la enfermedad de Chagas, causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* afecta a unos 8 a 11 millones de personas en Latinoamérica, y se considera la tercera enfermedad parasitaria en importancia mundial, luego de la malaria y la esquistosomiasis. Cabe señalar que no hay vacuna que la prevenga, y su tratamiento generalmente es ineficaz en etapas avanzadas de la enfermedad. La enfermedad de Chagas está asociada a la pobreza, ya que las casas construidas con materiales precarios crean las condiciones propicias para el desarrollo de triatomos en las grietas

de los muros y en techumbres de material ligero; además, la convivencia dentro de los domicilios con gallinas y otros animales domésticos aumenta el riesgo. Actualmente el control de los triatomos se basa en campañas de rociado de piretroides en las viviendas y en sectores del peridomicilio cercano. Los piretroides no tienen acción selectiva contra los triatomos; es decir, otras especies de insectos también se ven afectadas, y su uso reiterado y/o mal uso puede provocar resistencia. Además, sólo se ataca las poblaciones de insectos domiciliarios, por lo que las colonias silvestres ingresan a las viviendas cuando el insecticida pierde su acción residual (reinfestación). Con el calentamiento global se espera que los vectores aumenten sus poblaciones, aumentando así la posibilidad de hallarlos en los domicilios.

Las prioridades en investigación que la Organización Mundial de la Salud ha establecido para el control de triatomos transmisores de la enfermedad de Chagas son dos: primero, el desarrollo de nuevas estrategias de control, especialmente para sectores donde los triatomos no están domiciliados, donde se enmarcaría el trabajo con TrV; y segundo, el desarrollo de un tratamiento efectivo y rentable para las miles de personas infectadas.

Los resultados más importantes obtenidos en la investigación de TrV han sido: primero, su descubrimiento, realizado por el Dr. Oscar Muscio en la especie *Triatoma infestans* en Argentina en el año 1986, estableciéndose inicialmente - a partir de su caracterización bioquímica - que era un virus del tipo “Picorna-like”. En el año 2002 y luego de



Dr. Diego Guérin; M. V. Ricardo Campos; Lic. Med. Vet. Verónica Segovia; M. V. Paola Correa; Lic. Med. Vet. Mariela Puebla; Tec. Méd. Alejandro García; Dr. Pedro Cattán. M. V. Carolina Marchant y M. V. Rodrigo Villarroel (de espaldas).

secuenciar su genoma, se le cataloga como Dicistrovirus, en conjunto con otros virus aislados de insectos. Además, se probó su infectividad en otras especies de triatominos: *Triatoma pallidipennis*, *T. platensis*, *T. delpontei*, *T. rubrovaria*, *T. patagonica*, *T. guasayana* y *Rhodnius prolixus*. Otros resultados han sido la determinación sus efectos patógenos en triatominos, provocando en algunos casos hasta un 97% de mortalidad, y un retraso en la muda. En Argentina se determinó que su prevalencia en 8 de un total de 13 provincias estudiadas era de aproximadamente 10%. Hasta ahora, no se han realizado estudios de campo tendientes a encontrar el virus naturalmente otras especies de triatominos ni tampoco en otro país fuera de Argentina. Respecto al diagnóstico de la infección viral, se elaboró un protocolo de Elisa y de PCR, que se espera sean herramientas muy útiles para establecer la eventual existencia y prevalencia de TrV en colonias del resto de los países latinoamericanos.

En los últimos años, se ha logrado resolver la estructura atómica del TrV, a baja y a alta resolución; se describió la resistencia del TrV a bajos pH y la composición proteica de las cápsides vacías de TrV, es decir, sin ARN. Además, se empezó a experimentar con el virus en México, Costa Rica y Colombia, estableciéndose la susceptibilidad a TrV en condiciones de laboratorio de varias especies de triatominos. Durante los últimos años se ha contactado a unos 40 grupos de investigación tanto en Europa como en América que han mostrado interés en estudiar al TrV. Por otra parte, se interesó a empresas en el desarrollo tecnológico del virus como método de control biológico de triatominos, y gracias a los contactos y colaboraciones realizadas se constituyó el consorcio que recibió el apoyo económico de la organización internacional CYTED. Los países que en la actualidad realizan experiencias en la búsqueda de nuevas

especies de triatominos infectados con TrV son: Argentina, México, Costa Rica y Colombia. Los aspectos biológicos y epidemiológicos se están estudiando en Argentina y Bolivia. La filogenia del virus y la infectividad en líneas celulares está centralizada en La Universidad de La Plata en Argentina. Respecto al análisis de los aspectos vinculados al desarrollo tecnológico, son los grupos en Cuba, Uruguay, Argentina y España quienes abordan esa temática.

En la Unidad de Biofísica de España continuarán los estudios de TrV para

Estructura Atómica de TrV. Squires, Pous et al (2009).

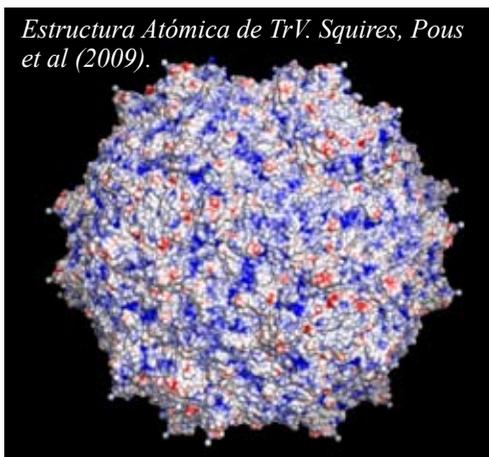
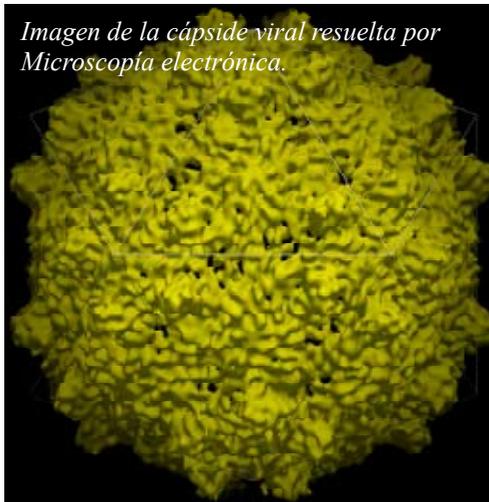


Imagen de la cápside viral resuelta por Microscopía electrónica.



obtener mayor información sobre aspectos bioquímicos y estructurales del virus. Específicamente, se estudiará su interacción con membranas lipídicas, sus propiedades electrostáticas y mecánicas, la estructura de su ARN, la estabilidad a entornos con pH bajo y su resistencia a los rayos UV, el desensamblaje de las cápsides y

la estructura de la ARN-polimerasa, entre otros temas. Además, la UB estará a cargo de la coordinación de todo el proyecto, y deberá supervisar el desarrollo de las actividades de RedTrV durante los próximos 4 años. Los objetivos de la RedTrV son: 1) Potenciar las tareas de investigación, cooperación y capacitación de sus grupos integrantes y 2) Potenciar la cooperación para el lanzamiento de un proyecto tecnológico de un nuevo pesticida contra triatominos, que posea como agente activo a TrV.

Actualmente la RedTrV está compuesta por 15 países miembros del CYTED y dos grupos de Francia. Lo integran 26 grupos de investigación y 3 empresas. En Chile, el único grupo miembro de este proyecto es encabezado por el Dr. Pedro Cattán, académico de nuestra Facultad. Sin embargo, se espera que en un futuro próximo otras instituciones chilenas se sumen a la propuesta, puesto que durante la reunión realizada el día miércoles 13 de mayo con el Dr. Guérin, otros académicos e investigadores manifestaron su interés en formar parte de la RedTrV. Destacamos la participación en la reunión, entre otros, de miembros del Ministerio de Salud, tanto a nivel de Control de la Enfermedad de Chagas (Autoridad Sanitaria) como de su Detección (Instituto de Salud Pública de Chile), aportando a la discusión con la visión de país respecto al control de vectores realizado en Chile.

Como resultado de la reunión se establecieron los estudios que serán llevados a cabo por el grupo de Chile, que en un principio aportará con muestras de triatominos tanto de insectos provenientes de colonias de laboratorio, como de vinchucas capturadas en el medio silvestre. Estas muestras servirán para determinar si existe infección natural con TrV en alguna de las 3 especies de triatominos presentes en el país: *Triatoma infestans*, *Mepraia spinolai* y *Mepraia gajardoi*. En caso de obtener resultados positivos, se procederá a establecer la distribución de la



Su formación universitaria (entre 1973 y 1985) la realizó en la Universidad Nacional de La Plata, en Argentina, donde obtuvo el grado de Doctor en Física en 1985 realizando su tesis en Teoría de la Difracción de Rayos X en Pequeños Cristales.

Luego se especializó en Cristalografía de virus en la Universidad de Purdue, en Estados Unidos (1986-1987), trabajando en estructuras virales. En 1987 continuó especializándose en el Instituto Pasteur de París, Francia, modelando los epítopes del virus Polio Mahoney 1.

Entre los años 1988 y 2002 se radicó en Argentina, donde trabajó como investigador del Conicet y como profesor en la Universidad Nacional del Sur, en Bahía Blanca. Durante ese periodo estuvo como profesor visitante en:

- el Frederic Cancer Res. Center, en Estados Unidos (1994), colaborando en el diseño

de inhibidores para la proteína aspártica del VIH.

- el Instituto Pasteur de París, Francia, donde contribuyó a la resolución de la estructura de la Celulosa A (1998).

- el Institut de Biología Molecular de Barcelona, donde trabajó en la resolución de la estructura de Rubisco a partir de datos de difracción twineados en 2002.

Desde abril de 2003 trabaja como profesor en la Universidad del País Vasco (UPV/EHU), y como investigador de la Fundación Biofísica Bizkaia para desempeñarse como jefe del grupo de Cristalografía de Proteínas y Virus de la Unidad de Biofísica (CSIC-UPV/EHU). Sus líneas actuales de investigación son el estudio de los canales iónicos y los aspectos estructurales del virus de Triatoma (TrV).

Ha publicado unos 35 trabajos en variados temas, tales como Física Teórica y Experimental, Biología Estructural y estudios relacionados con TrV. Desde 2007 es Peer Review Evaluator del European Research Council.

J.; NAVAZA, J.; REY, F. A.; GUÉRIN, D. M. A. (2004). "Purification, crystallization, and preliminary X-ray analysis of Triatoma virus (TrV) from Triatoma infestans". *Acta Cryst.* 60: 1647-1650.

CZIBENER, C.; ALVAREZ, D.; SCODELLER, E. (2005).

"Characterization of internal ribosomal entry sites of Triatoma virus". *J. Gen. Virol.* 86: 2275-2280.

MARTI, G. A. (2005). "Parásitos, patógenos y flora fúngica intestinal de triatominos (Hemiptera: Reduviidae) de la Argentina, con énfasis en Triatoma infestans (Klug)". Tesis para optar al Título de Doctor de la Universidad Nacional de La Plata.

MARTI, G. A.; GONZÁLEZ, E. T.; GARCÍA, J. J.; VIGUERA, A. R.; GUÉRIN, D. M. A.; ECHEVERRÍA, M. G. (2008). "AC-ELISA and RT-PCR assays for the diagnosis

of triatoma virus (TrV) in triatomines (Hemiptera: Reduviidae) species". *Arch. Virol.* 153(8): 1427-1432.

ESTROZI, L. F.; NEUMANN, E.; SQUIRES, G.; ROZAS-DENNIS, G.; COSTABEL, M.; REY, F. A.; GUÉRIN, D. M. A.; NAVAZA, J. (2008). "Phasing of the Triatoma virus diffraction data using a cryo-electron microscopy reconstruction". *Virology.* 375: 85-93

2.-Control Biológico Con Virus

A. HUGER (2005). *Oryctes* virus against coconut palm rhinoceros beetle. Samoa (95% reduction in palm damage), South Pacific islands, New Guinea, Oman, Seychelles and Tanzania. *J. Inv. Pathology* 89, 78-94.

YIN, K.S., ET AL., (2003). Ectropis obliqua Nucleopolyhedrosis virus against tea looper. East China. *Virologica Sinica* 18, 492-495.

C. LUCAROTTI, (Personal communication, 2004). Balsam Fir Sawfly Nucleopolyhedrosis virus against the Balsam Fir Sawfly. Canadian Forest Service-Canada REV.FR.S.IGNACIMUTHU, S.J. & PROF. S. JAYARAJ (2003). "Biological control of insect pest", Eds. Phoenix Publishing House PVD LTD, New Deli.

YEARIAN, W.C. AND YOUNG, S.Y. (1982). "Control of insect pest of agricultural importance by viral insecticides". pp387. In: *Microbial and viral pesticides*, (E Kurstak, Ed). M. Dekker, Inc., New York.

infección en colonias de triatominos de nuestro país.

Nota: Para mayor información consultar www.redtrv.org (actualmente en construcción) o dirigirse a los doctores Pedro Cattán (pcattan@uchile.cl) o Diego Guérin (diego.guerin@ehu.es).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1.- TrV

MUSCIO, O.A., LA TORRE, J.L., SCODELLER, E.A. (1987). "Small nonoccluded viruses from triatomine bug Triatoma infestans (Hemiptera: Reduviidae)". *J. Invert. Pathol.* 49: 218-220.

MUSCIO, O.A.; LA TORRE, J.L.; SCODELLER, E.A. (1988). "Characterization of Triatoma virus, a picorna-like virus isolated from the triatomine bug Triatoma infestans". *J. Gen. Virol.* 69: 2929-2934.

MUSCIO, O.A., LA TORRE, J.L., BONDER, M.A., SCODELLER, E.A. (1997). "Triatoma virus pathogenicity in laboratory colonies of T. infestans (Hemiptera: Reduviidae)". *J. Med. Entomol.* 34(3): 253-256

CZIBENER, C., LA TORRE, J.L., MUSCIO, O.A., UGALDE, R.A., AND SCODELLER, E.A. (2000). "Nucleotide sequence analysis of Triatoma virus shows

that it is a member of a novel group of insects RNA viruses". *J. Gen. Virol.* 81: 1149-1154.

MUSCIO, O.; BONDER, M. A.; LA TORRE, J. L.; SCODELLER, E. A. (2000). "Horizontal transmission of Triatoma virus through the fecal-oral route in Triatoma infestans". *J. Med. Entomol.* 37(2), 271-275.

ROZAS-DENNIS G. S. Y CAZZANIGA, N. J. (2000). "Effects of Triatoma virus (TrV) on the fecundity and molting of Triatoma infestans (Hemiptera: Reduviidae)". *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 94(6): 633-641.

ROZAS-DENNIS G. S.; LA TORRE, J. L.; MUSCIO, O. A.; GUÉRIN, D. M. A. (2000). "Direct methods for detecting Picorna-like virus from dead and alive triatomine insects". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 95(3): 323-327.

ROZAS-DENNIS G. S.; CAZZANIGA, N. J.; GUÉRIN, D. M. A. (2002). "Triatoma patagonica (Hemiptera: Reduviidae), a new host for Triatoma virus". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97(3): 427-429.

VIRUS TAXONOMY – HOUSTON 2002. (2002) *Arch. Virol.* 147(5).

CZIBENER, C. (2003). "Caracterización molecular del Virus de Triatoma (TrV)". Tesis para optar al Título de Doctor en Biología Molecular y Biotecnología de la Universidad Nacional de Gral. San Martín.

ROZAS-DENNIS, G. S.; SQUIRES, G.; POUSS, J.; COSTABEL, M. D. ; LEPAULT,

Antonella Bacigalupo

Asistente de Investigación Proyecto Fondecyt #1070960, Universidad de Chile

antobacigalupo@gmail.com