



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL

**ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN DE *Trypanosoma cruzi* EN
LAS HECES DE *Triatoma dimidiata*: VECTOR DE LA
ENFERMEDAD DE CHAGAS**

TESIS

Que presenta:

Darly Guadalupe Cen Pat.

Como requisito parcial para obtener el grado de:

Licenciatura en Biología.

Director externo:

Dr. Julio Vladimir Cruz Chan.

Codirector:

Dr. Irving Jesús May Concha.

Asesor interno:

Dr. Jairo Cristobal Alejo.

Conkal, Yucatán, México
Junio, 2024



TecNM



EDUCACIÓN

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL

**ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN DE *Trypanosoma cruzi* EN
LAS HECES DE *Triatoma dimidiata*: VECTOR DE LA
ENFERMEDAD DE CHAGAS**

TESIS

Que presenta:

Darly Guadalupe Cen Pat.

Como requisito parcial para obtener el grado de:
Licenciatura en Biología.

Director externo:

Dr. Julio Vladimir Cruz Chan.

Codirector:

Dr. Irving Jesús May Concha.

Asesor interno:

Dr. Jairo Cristobal Alejo.

Conkal, Yucatán, México
Junio, 2024



TecNM

DEDICATORIAS

Primeramente, se la dedico a dios, quien me ha dado fuerzas para seguir adelante.

A mis padres, Iván Cen y Lidia Pat, ustedes han sido los pilares fundamentales de mi vida, gracias por apoyarme y permitirme dedicar a lo que más me apasiona, reconozco y valoro profundamente todos los sacrificios que han realizado para que siguiera estudiando, este logro no sólo es mío, también es de ustedes.

A mis hermanos, Pablo Cen y Edgar Cen, hermanos les insisto a seguir persiguiendo sus metas, recordándoles que siempre la perseverancia es la clave para alcanzar el éxito.

A mis amadas abuelas, María del Socorro Castro Cime y María Gumercinda Cen Chalé, gracias por cada palabra de aliento, me impulso a seguir adelante.

A mis abuelitos que se me adelantaron, Esteban Pat Cauich (†) y Celio Hermelindo Cen Chan (†). Se que desde el cielo me están mirando con orgullo y me siento feliz, de haber cumplido mi sueño.

A la Mtra. Karla Sánchez, Dra. Trinidad Sosa y a la Dra. Alejandra González, tuve la dicha de conocerlas y cada una me impulso e inspiro, en este camino de la ciencia.

A mis amigos, quienes fui encontrándolos a lo largo del camino, Dayane Mendoza, Humberto González, Pamela Ricalde, Angélica Dzul y Aracely Euan.

A la familia del Laboratorio de Parasitología CIR-UADY, agradezco por permitirme brindarme la oportunidad de aprender y crecer en este apasionante campo de estudio.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseo expresar mi entera gratitud al Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” por brindarme la oportunidad de llevar la tesis en sus instalaciones.

Al Dr. Julio Vladimir Cruz Chan por brindarme la oportunidad de depositar su confianza en mi persona y habilidades, por sus valiosos consejos, su paciencia y sobre todo por abrirme las puertas al preciado Laboratorio de Parasitología, usted hizo una gran diferencia en mi vida y en lo profesional.

Al Dr. Irving May Concha, su orientación, tolerancia y demostrándome que, frente a los desafíos, nada es imposible. Admiro mucho la forma de su enseñanza, aprendí mucho con usted, y de lo capaz que uno puede llegar lejos si uno se lo propone.

Al cuerpo científico del laboratorio, Dr. Víctor Dzul Huchim, Dr. Pedro Martínez, Dr. Andrés Calderón, Dr. Christian Teh, Dra. Nora Hernández y Dra. Liliana Villanueva, me llevo cada una de sus enseñanzas.

A mis compañeros de laboratorio, a quienes agradezco enormemente por su apoyo en el desarrollo del proyecto: Mirely Franco, Ivette Hernández, Arturo Canche, Ana Castro, Brenda Cruz, Martín Chang, Miguel Góngora, Julieta Varela, Lilibeth Maldonado, Joel Moo y Landy Pech.

Y a mi maestro del Instituto Tecnológico de Conkal, al Dr. Jairo Cristobal Alejo por apoyarme en este proyecto de investigación.

Cuando me encontraba en momentos duros en lo académico, esta frase me fortalecía mucho, por lo que he decidido plasmarlo en esta tesis:

“Todo esfuerzo tiene recompensa”

CONTENIDO

| | |
|--|-----|
| RESUMEN | vi |
| ABSTRACT | vii |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 Antecedentes | 1 |
| 1.2 Planteamiento del problema | 2 |
| 1.3 Justificación | 3 |
| II. OBJETIVOS | 4 |
| 2.1 Objetivo general | 4 |
| 2.2 Objetivos específicos | 4 |
| III. HIPÓTESIS | 5 |
| IV. FUNDAMENTO TEÓRICO | 6 |
| 4.1 Enfermedad de Chagas | 6 |
| 4.1.1 Vectores de <i>Trypanosoma cruzi</i> | 9 |
| 4.2 Generalidades de <i>Triatoma dimidiata</i> | 11 |
| 4.3 Generalidades de <i>Trypanosoma cruzi</i> | 12 |
| 4.4 Ciclo de <i>Trypanosoma cruzi</i> en el vector y hospedero | 15 |
| 4.5 Dinámica de la carga parasitaria en los triatominos | 16 |
| 4.6 Análisis estadístico | 17 |
| V. DESARROLLO DEL PROYECTO | 18 |
| 5.1 Selección y monitoreo de las ninfas de <i>Triatoma dimidiata</i> | 18 |
| 5.2 Infección de ratones BALB/c | 19 |
| 5.3 Exposición de las ninfas y adultos <i>Triatoma dimidiata</i> para la infección | 19 |
| 5.4 Cuantificación de las heces mediante Cámara Neubauer | 21 |
| VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES | 23 |
| 6.1 Carga parasitaria de <i>Trypanosoma cruzi</i> en las heces | 23 |
| 6.2 Capacidad de transmisión <i>Trypanosoma cruzi</i> | 25 |
| 6.3 Correlación la ingesta de sangre y la carga parasitaria (mL) en heces | 26 |
| VII. DISCUSIÓN | 29 |
| VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 31 |
| IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 32 |
| X. ANEXOS | 36 |

| | |
|--|-----------|
| 10.1 Esquema del diseño experimental..... | 36 |
|--|-----------|

ÍNDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|---|-------------|
| Tabla 1. Taxonomía del parásito <i>Trypanosoma cruzi</i> | 13 |
| Tabla 2. Prevalencia de infección por <i>T. cruzi</i> en <i>T. dimidiata</i> | 23 |
| Tabla 3. Resultados de la Prueba de Kruskal Wallis para comparar las cargas parasitarias en <i>T. dimidiata</i> | 24 |
| Tabla 4. Resultados de la Prueba de Kruskal Wallis para comparar los parásitos/mg de heces en <i>T. dimidiata</i> | 26 |

INDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|---|-------------|
| Figura 1. Distribución mundial de personas infectadas..... | 7 |
| Figura 2. Distribución de triatominos en el mundo y en México..... | 10 |
| Figura 3. Ciclo de vida de <i>T. dimidiata</i> | 11 |
| Figura 4. Morfología del protozoo <i>T. cruzi</i> | 14 |
| Figura 5. Ciclo de vida de <i>T. cruzi</i> | 16 |
| Figura 6. Ninfa de quinto recién emergida y marcada para su identificación..... | 18 |
| Figura 7. Ninfas de cuarto alimentándose de un ratón infectado..... | 20 |
| Figura 8. Ninfa de quinto, pesado antes y después de la alimentación con ratón sano..... | 20 |
| Figura 9. Ninfa de quinto estadio extrayéndole las heces..... | 21 |
| Figura 10. Alícuota de heces/solución salina con EDTA 0.05%..... | 22 |
| Figura 11. Tripomastigotes metacíclicos observados en microscopio..... | 22 |
| Figura 12. Comparación de las cargas parasitarias en los estadios ninfales de <i>T. dimidiata</i> | 24 |
| Figura 13. Comparación con el número de parásitos/mg de heces (mg) por cada estadio...25 | |

| | |
|---|----|
| Figura 14. Correlación de la ingesta de sangre (mg) y la carga parasitaria (mL) en las heces de las ninfas de tercer estadio..... | 26 |
| Figura 15. Correlación de la ingesta de sangre (mg) y la carga parasitaria (mL) en las heces de las ninfas de cuarto estadio..... | 27 |
| Figura 16. Correlación de la ingesta de sangre (mg) y la carga parasitaria (mL) en las heces de las ninfas de quinto estadio..... | 28 |
| Figura 17. Correlación de la ingesta de sangre (mg) y la carga parasitaria (mL) en las heces de los tres estadios ninfales..... | 28 |

INDICE DE ANEXOS

| | |
|--------------------------------------|-------------|
| | Pág. |
| Esquema del diseño experimental..... | 36 |

RESUMEN

La enfermedad de Chagas es una enfermedad tropical desatendida, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*. El modo principal de transmisión del parásito es a través de las heces de los insectos triatominos. Debido a la forma de transmisión, es importante analizar la carga parasitaria de *T. cruzi* en las heces de *T. dimidiata*, para conocer si existe una variación. Las ninfas de tercero, cuarto, quinto estadio de *T. dimidiata*, fueron alimentados con ratones infectados con *T. cruzi*. Para la obtención de las heces se presionó el último segmento abdominal del insecto. Las heces obtenidas fueron diluidas en solución salina con EDTA 0.05% y se cuantificó el número de parásitos a través de una Cámara Neubauer con la ayuda de un microscopio a un aumento de 400X. La carga parasitaria fue evaluada 28 días posteriores a la infección del insecto. Se observó una mayor carga en las ninfas de cuarto estadio con una media de 212,500 parásitos/mL. Estos resultados sugieren que las ninfas de *T. dimidiata* podrían tener una mayor competencia vectorial en la transmisión del parásito. Permitiendo crear nuevas líneas de investigación de compleja enfermedad.

Palabras claves: Enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, ninfas, carga parasitaria, *Triatoma dimidiata*.

ABSTRACT

Chagas disease is a neglected tropical disease, caused by the parasite *Trypanosoma cruzi*. The main mode of transmission of the parasite is through the feces of triatomine insects. Due to the transmission, it is important to analyze the parasite load of *T. cruzi* in the feces of *T. dimidiata*, to know if there is a variation. The third, fourth, and fifth instar nymphs of *T. dimidiata* were fed with mice infected with *T. cruzi*. To obtain the feces, the last abdominal segment of the insect was pressed. The feces obtained were diluted in saline solution with 0.05% EDTA and the number of parasites was quantified through a Neubauer Chamber with the help of a microscope at a magnification of 400X. The parasite load was evaluated 28 days after insect infection. A higher load was observed in fourth instar nymphs with an average of 212,500 parasites/mL. These results suggest that fourth instar nymphs could have greater vector competence in parasite transmission. This study allows us to understand the different parasite loads of the parasite in the stages of the *T. dimidiata* vector, allowing us to create new lines of research into complex disease.

Keys words: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, nymphs, parasitic load, *Triatoma dimidiata*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La enfermedad de Chagas ha estado presente desde hace más de 9,000 años. Un estudio reveló la presencia de kDNA del protozooario *Trypanosoma cruzi* en el 41% de los restos de momias del norte de Chile y sur del Perú mediante la técnica reacción en cadena de polimerasa (PCR). Estas momias pertenecían a aborígenes que vivieron desde el 7000 a.C. hasta 1500 d.C. (cultura chinchorro hasta después de la llegada de los españoles). Además, en otras momias se identificaron signos de megacolon y cardiopatía chagásica, correspondientes a los indios wankarani que migraron desde Bolivia hace 3,500 años. Los estudios de la enfermedad de Chagas comenzaron en 1909, cuando el investigador brasileño Carlos Chagas descubrió el parásito *Trypanosoma cruzi* en monos y al vector *Panstrongylus megistus* en Lassance, Minas Gerais, mientras trabajaba en el control de la malaria. Más tarde, observó el parásito en una niña lo que permitió describir el ciclo evolutivo del parásito, así como la patología clínica y epidemiológica de la enfermedad (Chagas, 1911; Aufderheide *et al.*, 2004; Apt, 2009; Apt, 2014; WHO, 2022).

Hoy en día tras los avances científicos se sabe que este parásito se transmite principalmente por el contacto con heces infectadas de insectos hematófagos. Generalmente, estos insectos pican en áreas expuestas de la piel, como la cara y defecan cerca de la picadura, el parásito penetra en el organismo cuando la persona al frotarse introduce las heces en la picadura (OMS, 2024). También puede transmitirse por transfusiones de sangre, de madre a hijo durante el embarazo, por vía oral y mediante accidentes de laboratorio (Secretaría de salud, 2015) es importante destacar que el 90% de las infecciones ocurre a través del contacto con las heces (Ramsey *et al.*, 2022). Según un estudio realizado por Rojo y colaboradores

(2018) resaltan que, en México, aproximadamente dos terceras partes del territorio presentan las condiciones necesarias para que se lleve a cabo la transmisión vectorial, lo que ha llevado a estimar que alrededor de un millón de personas están infectadas, en 2017 los estados que registraron las tasas de incidencia más altas fueron Yucatán (4.0%), Oaxaca (2.4%) y Hidalgo (2.1%).

Para identificar los tripomastigotes metacíclicos presentes en las heces de los insectos se utiliza la técnica de microscopía óptica. Esta técnica, nos permite determinar la presencia o ausencia de *T. cruzi* en las heces de los insectos. Mediante la presión abdominal se recolectan las muestras de heces, luego se colocan en un portaobjetos y se diluyen con soluciones y se observan a 40x en el microscopio (Souza, 2009). Con la técnica de microscopía se ha encontrado que los parásitos también pueden estar presentes en el contenido intestinal o mediante la disección, es un método económico, pero requiere que el insecto esté vivo, ya que resulta difícil detectar los parásitos en las heces una vez que el insecto está muerto (Moser *et al.*, 1989; Pizarro, 1996; Dorn *et al.*, 1999; Barrera, 2017).

1.2 Planteamiento del problema

La enfermedad de Chagas es una zoonosis endémica del continente americano y es considerada un problema de Salud Pública en América Latina. Esta enfermedad es causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* y su principal modo de transmisión es a través de las heces de insectos triatomíneos. Considerando el modo de transmisión, la cuantificación de la carga parasitaria en heces de triatomíneos resulta de importancia para considerar a una especie como vector potencial del parásito. Por lo tanto, si bien todas las especies de triatomíneos son potenciales vectores, la más competentes serán aquellas que presenten el mayor número de parásitos en las heces. Existen pocos estudios sobre la carga parasitaria en diferentes especies

de triatominos, muy pocos trabajos han tratado de asociar la carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* con el estado de desarrollo y por lo tanto no hay hasta el momento estudios que analicen la variación de la carga parasitaria entre los diferentes estados de desarrollo de *Triatoma dimidiata*.

1.3 Justificación

En el mundo existen más de 100 especies de triatominos. Los cuales se clasifican epidemiológicamente de acuerdo con la capacidad que tienen de transmitir el parásito *Trypanosoma cruzi*. En el Estado de Yucatán el vector principal es *Triatoma dimidiata* y dentro de los principales hospederos está incluido el humano, el cual es infectado al momento que el insecto se alimenta y defeca. Hasta el momento no hay estudio sobre la variación de la carga parasitaria en las heces de los diferentes estadios ninfales de *T. dimidiata*. Por lo tanto, es importante conocer la variación de la carga parasitaria en las heces de *T. dimidiata*, este conocimiento permitirá entender el comportamiento de *T. cruzi* a lo largo del ciclo del triatomino, así como en la contribución en el campo de la epidemiología creando nuevas estrategias de control y prevención en áreas endémicas de la enfermedad de Chagas.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Determinar si hay variación en la carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* en las heces de las ninfas de *Triatoma dimidiata* y evaluar su potencial como vector del parásito para la transmisión de la enfermedad de Chagas.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar y comparar la carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* en las heces de las ninfas de *Triatoma dimidiata*.
- Comparar la capacidad de transmisión del parásito *Trypanosoma cruzi* en heces de las ninfas de *Triatoma dimidiata*.
- Correlacionar la ingesta de sangre de las ninfas de *Triatoma dimidiata* con la carga parasitaria en las heces.

III. HIPÓTESIS

La variación de la carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* en las heces está relacionada con los diferentes estadios ninfales de *Triatoma dimidiata*.

IV. FUNDAMENTO TEÓRICO

4.1 Enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas (EC), también conocida como tripanosomiasis americana, solía ser exclusiva de América Latina en un momento dado. Sin embargo, el patrón epidemiológico de esta enfermedad ha evolucionado, pasando de ser predominante rural a tener una presencia considerable en áreas urbanas. Este cambio se debe a la movilidad de la población, la urbanización y la migración. Como resultado de estos factores, en la actualidad se registran casos de la enfermedad en países que incluyen Canadá, Estados Unidos de América, además de varios países europeos, algunas naciones africanas, la región del Mediterráneo oriental y áreas del Pacífico occidental (Figura 1) (WHO, 2018).

La enfermedad de Chagas en Latinoamérica está presente en 21 países y se calcula que entre 6 y 7 millones de personas están infectadas con el parásito *T. cruzi*. Aproximadamente 65 millones de personas corren el riesgo de infectarse y se registra cada año unos 30 mil casos nuevos, con un total de unas 12 mil muertes cada año (OPS, 2023; OMS, 2024). En México, la enfermedad de Chagas no ha sido una prioridad de la política de salud (Ramsey *et al.* 2021). Según el informe de Rojo y colaboradores (2018) en 2018 las entidades con tasas de incidencia más altas se registraron en Yucatán con 0.8%, Quintana Roo 0.8% y Nayarit 0.7%.

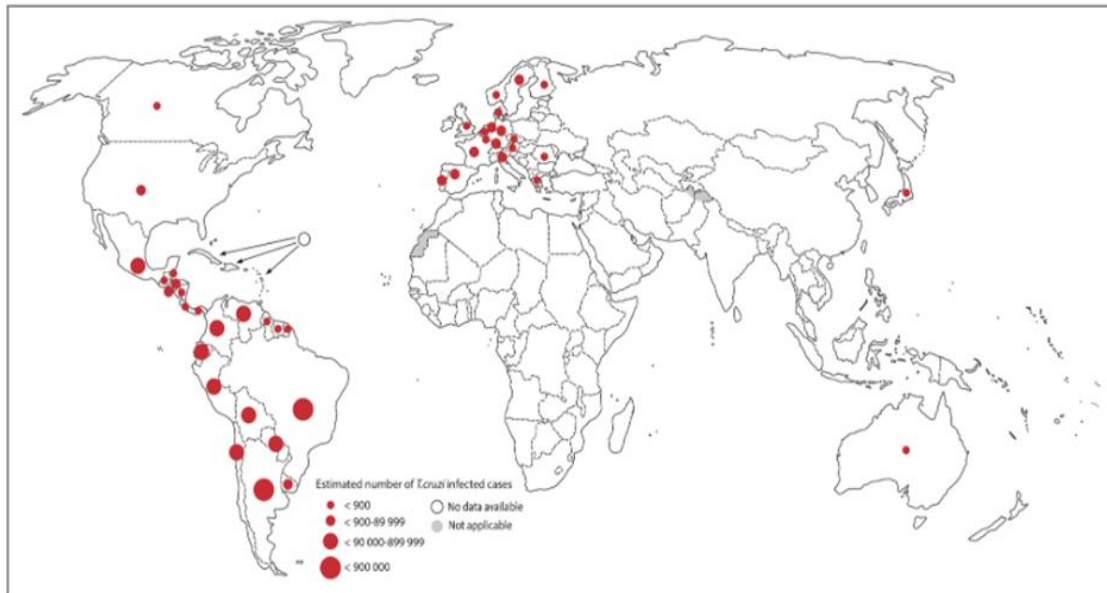


Figura 1. Distribución mundial de personas infectadas. (Tomado de Echeverría *et al.* 2020).

La enfermedad de Chagas es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, es transmitido principalmente a través de triatomíneos de la subfamilia Triatominae (transmisión vectorial) (CDC, 2018). Existen otras formas de infectarse sin la presencia del vector como, por ejemplo, transfusional (es directa, la sangre de donador es puesta al torrente circulatorio de la persona sana), transplacentaria (transmisión de madre a hijo durante el momento del parto), oral (a través de alimentos contaminados con deyecciones de vectores), o accidental (manipulación de animales infectados en el laboratorio) (Carrasco y Antezana, 1988).

La enfermedad de Chagas presenta tres etapas: La fase inicial aguda que tiene una duración aproximada de 2 meses después de la infección. Durante esta etapa, se observa una alta concentración de parásitos en la sangre, pero en la mayoría de los casos los síntomas son inexistentes o leves y no específicos. En menos del 50% de las personas que son picadas por un insecto triatomino, pueden manifestarse signos visibles distintivos como una lesión en la piel o una hinchazón violácea en los párpados de un ojo. Además, pueden experimentar

fiebre, cefalea, aumento de tamaño de los ganglios linfáticos, palidez, dolores musculares, dificultad respiratoria, inflamación y dolor abdominal o torácico. Posteriormente en la fase indeterminada es caracterizada por ser asintomática (MSN, 2012).

En la fase crónica, los parásitos se ocultan principalmente en el corazón y los músculos del sistema digestivo. Después de una a tres décadas, hasta un tercio de los pacientes experimentan trastornos cardíacos, y aproximadamente uno de cada diez presenta alteraciones digestivas, como el agrandamiento del esófago o del colon, así como trastornos neurológicos o una combinación de síntomas. Con el paso de los años, la infección en estos pacientes puede llevar a la destrucción del sistema nervioso y del músculo cardíaco, lo que resulta en arritmias cardíacas, insuficiencia cardíaca progresiva e incluso muerte súbita (WHO, 2023).

Para la detección del parásito *T. cruzi* se emplean diversas técnicas, como la observación directa de tripomastigotes en muestras de sangre (involucra la observación de los tripomastigotes presentes en las muestras de sangre, en sangre fresca o en sangre teñidas con Giemsa a través de un microscopio), prueba de Strout (consiste en la concentración de parásitos a partir de una muestra de sangre sin coagulante mediante la centrifugación, solo es utilizado para infecciones congénitas), técnica del tubo capilar heparinizado o microhematocrito (análisis del movimiento de los parásitos en la interfase entre el paquete de glóbulos rojos y el plasma en tubos capilares), xenodiagnóstico (el uso de triatominos alimentándose de la sangre del paciente) esta técnica se mejorado al paso de los años y actualmente se puede realizar de forma artificial evitando la exposición directa del paciente a los triatominos, cultivo (se cultivan pequeños volúmenes de muestra en un medio NNN tradicional para multiplicar el número de parásitos de una muestra de sangre), ratones

(inoculación de *T. cruzi*), ensayos ELISA (utilizado para el diagnóstico de la infección aguda y congénita) y detección de ADN mediante PCR (permite detectar el ADN del parásito) (Chávez *et al.*, 2007).

Hasta el momento no se ha desarrollado una vacuna para la enfermedad y los dos únicos fármacos para el tratamiento son el benznidazol y nifurtimox, sin embargo, presentan serias limitaciones, como la necesidad de seguir regímenes terapéuticos prolongados, efectos secundarios indeseables y frecuentes fallas clínicas (Vela *et al.*, 2021).

Por lo tanto, el método más eficaz para disminuir la enfermedad es a través del control vectorial. En este sentido existen diferentes métodos de control y prevención vectorial, como es el uso de barreras físicas que permitan que el insecto no pueda entrar al hábitat doméstico (uso de mosquiteros). Por otro lado, está el uso de ingredientes químicos mediante la aplicación de insecticida a las viviendas. Biológico, la utilización de hongos entomopatógenos para controlar al vector. Factores sociales como son el mantener la vivienda limpia lo cual evita que el insecto pueda colonizar las viviendas humanas (Ferral, 2008).

4.1.1 Vectores de *Trypanosoma cruzi*

Los vectores de la enfermedad de Chagas son insectos hematófagos que pertenecen al orden Hemiptera, familia Reduviidae y a la subfamilia Triatominae, comúnmente conocidos como “triatominos” “chinch besuconas” “vinchucas” (Lent y Wygodzinsky, 1979). En la actualidad la subfamilia Triatominae está compuesta por 154 especies, 5 tribus y 18 géneros. Los géneros *Panstrongylus*, *Rhodnius* y *Triatoma*, son de mayor relevancia

epidemiológica, entre ellas hay especies que habitan dentro de las viviendas, lo que aumenta su interacción con los humanos (Justi y Galvao, 2016; Cruz, 2024).

En México, se han identificado 8 géneros y 31 especies de triatominos (Figura 2) (Rojo *et al.*, 2018). En la península de Yucatán, la especie *Triatoma dimidiata* es el principal vector de *T. cruzi* (Cigarroa, 2021). En Yucatán, *T. dimidiata*, infesta las casas de manera estacional desde ecotopos selváticos, sin desarrollar colonias dentro de las casas (Waleckx *et al.*, 2015). Por otro lado, la costumbre de las personas en la región de dormir en hamacas dificulta a los triatominos acceder fácilmente a sus fuentes de alimento dentro de las viviendas (Waleckx *et al.*, 2016).

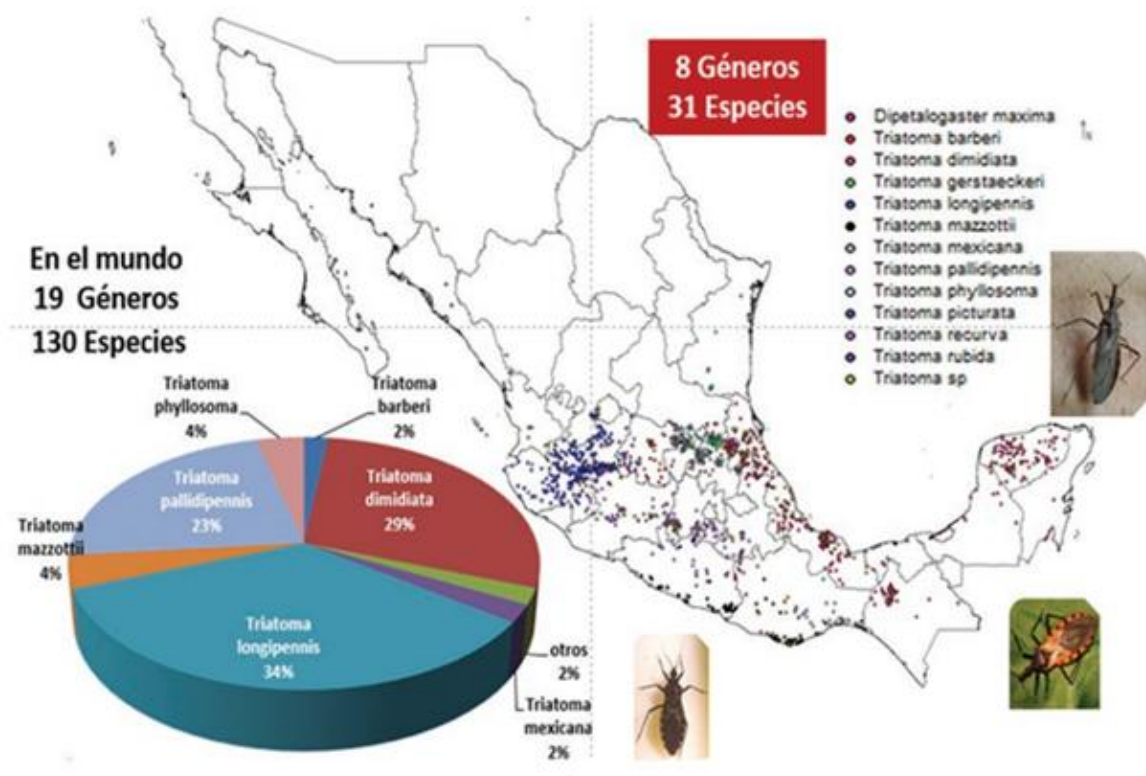


Figura 2. Distribución de triatominos en el mundo y en México. (Tomado de Rojo *et al.* 2018).

4.2 Generalidades de *Triatoma dimidiata*

Triatoma dimidiata es un insecto hemimetábolo. Su ciclo biológico: huevo, cinco estadios ninfales y adultos (Figura 3). Los huevos pueden ser depositados tanto de manera individual como en grupos. Al momento de eclosionar las ninfas pasan por cinco estadios ninfales hasta llegar a la forma adulto. El estado adulto, se distingue de las ninfas por la presencia de alas anteriores y posteriores, además de estar en condiciones de reproducción. (Lent y Wygodzinsky, 1979).

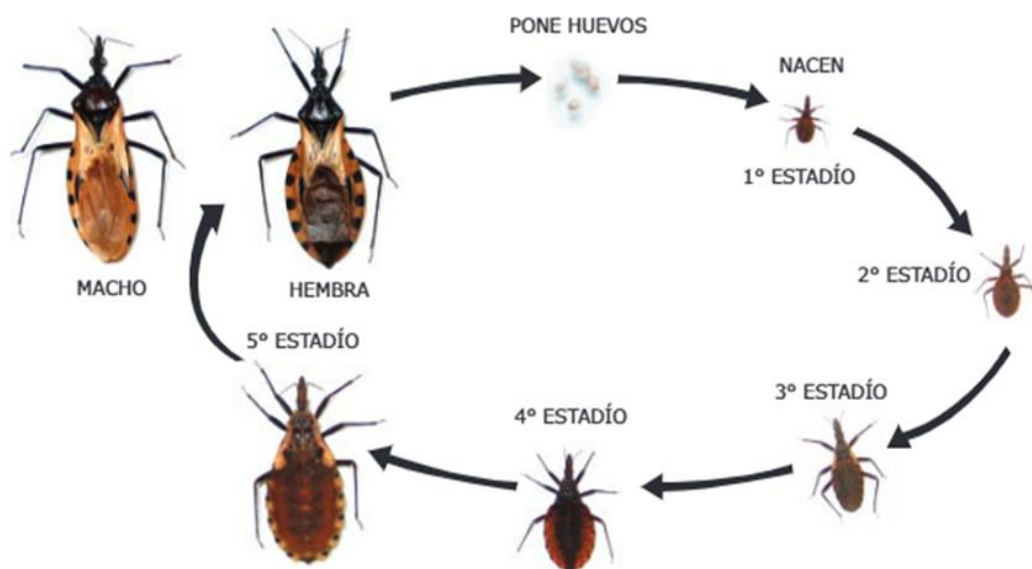


Figura 3. Ciclo de vida de *T. dimidiata*. (Tomado de Escobar, 2016).

Como todo insecto hematófago obligado, los triatominos se alimentan estrictamente de la sangre de hospederos, que en su mayoría son endotermos. Diversos estudios han determinado que los triatominos se alimentan de una alta variedad de vertebrados incluyendo mamíferos, aves y anfibios. En un estudio realizado por Moo-Millan y colaboradores (2019) determinaron que *Triatoma dimidiata* tiene una amplia gama de diversas fuentes de

alimentación. Sin embargo, destacan que las principales fuentes sanguíneas identificadas pertenecían al humano, perro y ganado vacuno.

Esta especie es de hábitats selváticos y se puede encontrar en diferentes tipos de refugios, como nidos de aves, madrigueras de mamíferos, cuevas, agujeros, debajo de rocas, raíces de árboles como son las especies de plantas *Gymnopodium floribundum*, *Enterolobium cyclocarpum* y *Piscidia piscipula*. También es común observarlos en los entornos domésticos y peridomiciliarios en donde están ocultas en las grietas de paredes, apilamiento de maderas, gallineros, muebles, camas y en lugares de descanso de animales domésticos o sinantrópicos (Reyes *et al.*, 2011; Morán, 2013).

El cuerpo del triatomino se divide en tres regiones o tagmas: a) cabeza: se encuentran los órganos sensoriales como antenas, los ojos compuestos y ocelos, además la probóscide. b) tórax: se encuentran apéndices como el pronoto y escutelo, las patas y alas. c) abdomen: presenta marcas en el conexivo (margen lateral), los órganos genitales, en los machos tienen un extremo redondeado, mientras que las hembras presentan una forma puntiaguda (Cruz, 2024).

4.3 Generalidades de *Trypanosoma cruzi*

Es un protozooario intracelular obligatorio, flagelado y digénico que requiere de la célula para sobrevivir y reproducirse. Perteneció al orden Kinetoplastida, que incluye flagelados que poseen una estructura llamada cinetoplasto, que contienen una red de ADN (Peña *et al.*, 2022) como se muestra en la Tabla 1. El investigador y médico Carlos Chagas identificó el parásito y lo nombró *Trypanosoma cruzi* en honor a su maestro Oswaldo Cruz. (Becerril, 2014).

Tabla 1

Taxonomía del parásito Trypanosoma cruzi.

Tomado de Becerril, 2014.

| | |
|-----------------|--------------------------|
| Reino: | Protozoa |
| Filo: | Sarcomastigophora |
| Subfilo: | Mastigophora |
| Clase: | Zoomastigopora |
| Orden: | Kinetoplastida |
| Familia: | Tripanosomatidae |
| Género: | <i>Trypanosoma</i> |
| Especie: | <i>Trypanosoma cruzi</i> |

Durante su desarrollo, el parásito pasa por cuatro formas morfológicas, que alteran según el ambiente y el hospedero vertebrado junto con un insecto vector. **Tripomastigote metacíclico:** es flagelado, alargado con un gran núcleo central, cinetoplasto de gran tamaño y el blefaroplasto posterior de donde surge un flagelo que contornea una membrana

ondulante, que le confiere movimiento. Este estadio presenta deficiente capacidad de reproducción y es la forma que penetra e infecta al hospedero.

Promastigote o tripomastigote sanguíneo: es flagelado, alargado, con el cinetoplasto grande alejado de la parte anterior del núcleo; similar al estadio anterior, puesto que también presenta flagelo y membrana ondulante. Este estadio se encuentra en la sangre y no tiene capacidad para dividirse, pero sí la tiene para invadir otras células.

Epimastigote: es fusiforme, con un flagelo que forma una membrana ondulante que nace del blefaroplasto. El cinetoplasto se encuentra cercano a la parte anterior del núcleo que se encuentra en posición central. Este estadio presenta división binaria longitudinal.

Amastigote: es de forma redondeada llamada leishmanoide, carece de flagelo y por lo tanto de movimiento; tiene un gran núcleo cerca del cual se encuentra el cinetoplasto a manera de disco. Tiene capacidad de replicación, por división binaria simple (Figura 4) (Guzmán *et al.*, 1999; Tay *et al.*, 2002).

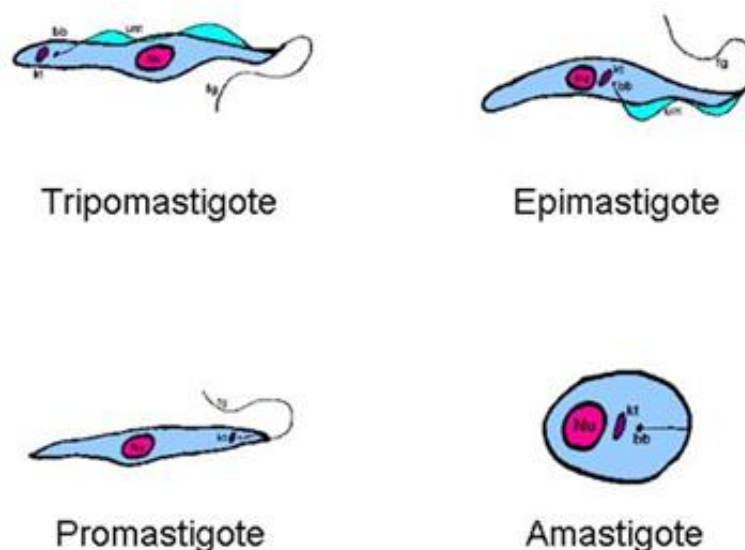


Figura 4. Morfología del protozoo *T. cruzi*. (Tomado de Wiser, 2022).

4.4 Ciclo de *Trypanosoma cruzi* en el vector y hospedero

El ciclo de vida de *T. cruzi* es complejo, para poder desarrollarse se necesita de un triatomino hematófago y un animal o persona. Comienza cuando (1) el vector triatomino se infecta con tripomastigotes presentes en la sangre durante la alimentación de un mamífero infectado. (2) Los tripomastigotes se transforman en epimastigotes para replicarse (Recuadro azul) en la porción más distal del intestino, donde se desprenden de las células intestinales y se convierte en tripomastigotes metacíclicos (Recuadro rosa), la fase infectiva para el hospedero. (3) Cuando el triatomino hematófago defeca después de alimentarse, libera los tripomastigotes metacíclicos junto con las heces cerca de la herida de la picadura, permitiendo que el parásito entre en el torrente sanguíneo por autoinoculación tras rascarse. (4) El tripomastigote metacíclico invade e infecta las células de origen mesenquimal, intestinal y cardíaco, transformándose en amastigotes para iniciar su replicación por fisión binaria. Los amastigotes se convierten luego en tripomastigotes sanguíneos, que son liberados en el torrente sanguíneo, infectando nuevas células y propagando la infección. (5) La lisis de las células infectadas provoca las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Los tripomastigotes sanguíneos son ingeridos por un triatomino durante la alimentación, iniciando nuevamente el ciclo de vida del parásito (Figura 5) (Rassi y Marin, 2010; Secretaría de Salud, 2015; Pérez y Molina, 2018; Pérez, 2024).

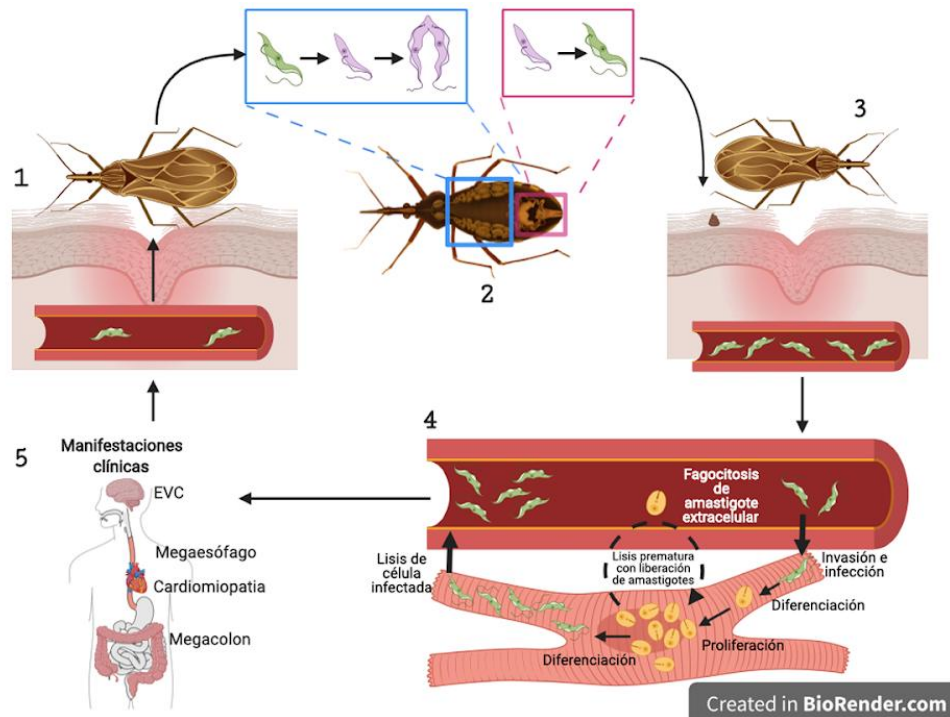


Figura 5. Ciclo de vida de *T. cruzi*. (Tomado de Rassi y Marin, 2010; Secretaría de Salud, 2015; Pérez y Molina, 2018; Pérez, 2024)

4.5 Dinámica de la carga parasitaria en los triatominos

Barrera (2017) investigó la carga parasitaria en el vector silvestre *M. spinolai* a lo largo de su desarrollo. Los resultados indicaron variaciones significativas en la cantidad de parásitos entre los distintos estadios de desarrollo del triatomo. En particular, las ninfas de tercer estadio mostraron diferencias significativas en comparación con otros estadios, en contraste de las ninfas de quinto estadio, en donde no se encontraron diferencias significativas.

Chacón y sus colaboradores (2022) comprobaron que los insectos infectados presentan una mayor hambre en comparación con los no infectados y modifican su patrón de defecación. Una defecación más rápida tras la alimentación aumenta la probabilidad de que

las heces con parásitos entren en contacto con la herida de la picadura, facilitando la transmisión del parásito.

Estudios recientes por Loshouarn y Guarneri (2024) han demostrado que la temperatura afecta la carga parasitaria dentro de *R. prolixus*. Temperaturas más bajas resultan en una menor carga parasitaria, mientras que en condiciones óptimas de temperatura favorecen la proliferación de *T. cruzi*.

Piesman y Sherlock, en 1983, estudiaron cuatro especies de triatomos (*P. megistrus*, *T. infestans*, *R. prolixus* y *T. dimidiata*) para conocer si el volumen de heces producido esta influenciado por la especie el estadio, el sexo y la cantidad de sangre ingerida. Observaron que *T. dimidiata* produce el mayor volumen de heces mientras que *T. infestans* el menor. Además, la cantidad de sangre ingerida estuvo relacionada con el volumen de heces producido en *T. dimidiata*, indicando que la especie de triatomo influye en el volumen de heces producidas.

4.6 Análisis estadístico

Los datos obtenidos durante la evaluación experimental se registraron en una tabla de Microsoft Excel. Para analizar las diferencias significativas y las desviaciones estándar entre los estadios ninfales de *T. dimidiata*, se utilizaron variables como los parásitos totales por estadio ninfal y los parásitos totales por peso de heces (mg) por estadio ninfal, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Se analizó la relación entre la cantidad de sangre ingerida por los triatomos durante la exposición con ratones infectados por *T. cruzi* y los parásitos totales, mediante la prueba de correlación de Spearman. Los análisis estadísticos y la generación de gráficas se realizaron en el software Prism 10.2.0 de GraphPad.

V. DESARROLLO DEL PROYECTO

5.1 Selección y monitoreo de las ninfas de *Triatoma dimidiata*

Se seleccionaron 40 ninfas de segundo, tercero, cuarto y quinto estadio ninfal del Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” situado en la ciudad de Mérida. Cada estadio contaba con 10 ejemplares. Estas ninfas se les dio seguimiento de su desarrollo, no obstante, durante este período de transición no se alimentaron. En un período de 14 días estas ninfas emergieron al estadio tercero, cuarto, quinto y adulto. Cada ejemplar fue depositado en un frasco de plástico, etiquetado y marcado con pintura en la parte dorsal de su cuerpo para su identificación (Figura 6). Fueron mantenidos a temperatura ambiente de 27 °C con una humedad relativa del 75%, siguiendo de un fotoperiodo de 12:12.



Figura 6. Ninfa de quinto recién emergida y marcada para su identificación.

5.2 Infección de ratones BALB/c

Para la infección, se utilizaron cuatro ratones hembra de la cepa BALB/c, con una edad entre 5-6 semanas, provenientes del Bioterio del Centro de Investigaciones “Dr. Hideyo Noguchi”. Cada ratón fue inoculado por vía intradérmica con 5.000 parásitos de la cepa H1 de *Trypanosoma cruzi*. Posterior a la infección, se les proporcionó alimento para roedores y agua *ad libitum*, además de una cama de viruta, enriquecimiento de papel y se llevaron a cabo monitoreos para verificar su estado de salud.

5.3 Exposición de las ninfas y adultos *Triatoma dimidiata* para la infección

Antes de exponer a las ninfas de tercero, cuarto, quinto, así como los adultos a la infección, los ratones BALB/c con 24 días posteriores a la infección, se les llevó a cabo la técnica de parasitemia para cuantificar la cantidad de parásitos presentes en el torrente sanguíneo de estos animales. Los ratones fueron anestesiados con una dosis de xilacina de 10 mg/kg PV + Ketamina de 100 mg/kg PV. Una vez que los ratones quedaron inmovilizados, se colocaron 5 ejemplares de *Triatoma dimidiata* en un tiempo de 15 minutos permitiendo la alimentación *ad libitum* (Figura 7). En este proceso la alimentación se realizó en un cuarto oscuro para facilitar la alimentación natural.



Figura 7. Ninfas de cuarto alimentándose de un ratón infectado.

Después de la alimentación de los insectos, se esperó hasta el día 26 post-infección de las ninfas y adultos para ser alimentados con ratones sanos. En cada alimentación, las ninfas y adultos fueron pesados con la balanza analítica OHAUS Pioneer™, antes y después del proceso para conocer la ingesta de sangre consumida (Figura 8).

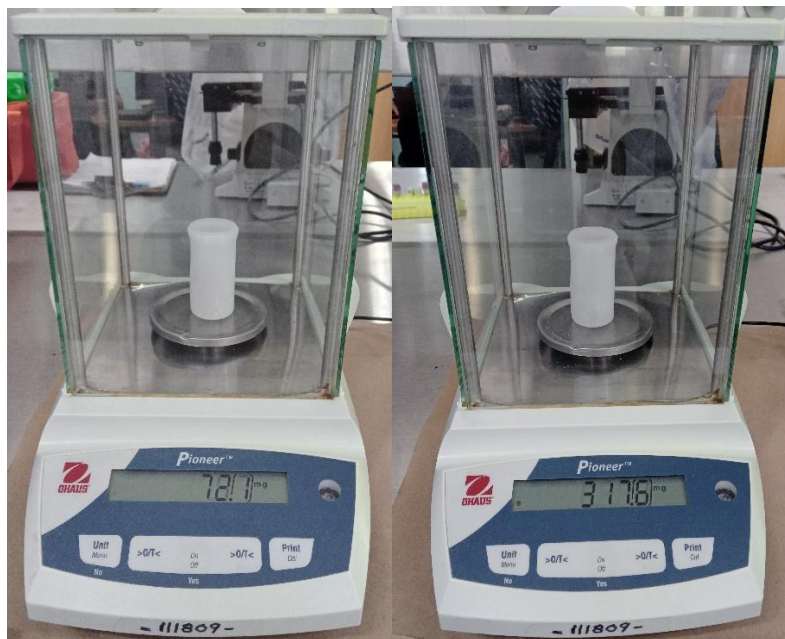


Figura 8. Ninfa de quinto, pesado antes y después de la alimentación con ratón sano.

5.4 Cuantificación de las heces mediante Cámara Neubauer

La extracción de las heces en las ninfas y adultos crónicos se llevó a cabo a partir del día 28 post-infección. Cada insecto se les presionó suavemente el último segmento abdominal (Figura 9). Se tomo todas las heces excretadas por el insecto y se diluyó en 100 microlitros de solución salina con EDTA 0.05% (Figura 10).



Figura 9. Ninfa de quinto estadio extrayéndole las heces.

La muestra se homogenizó y se tomó una alícuota de 10 microlitros, la cual se depositó en la cámara Neubauer, para cuantificar el número de parásitos presentes en las heces, se observó mediante un microscopio 400X (Figura 11). Para calcular la carga parasitaria de *T. cruzi* en las heces de cada ejemplar de *T. dimidiata*, se aplicó la fórmula:

$$\frac{\text{\# de parásitos observados en la cámara Neubauer}}{4} * \text{\textit{factor de dilución}} * 10,000 = \text{\#p/mL}$$



Figura 10. Alícuota de heces/solución salina con EDTA 0.05%.

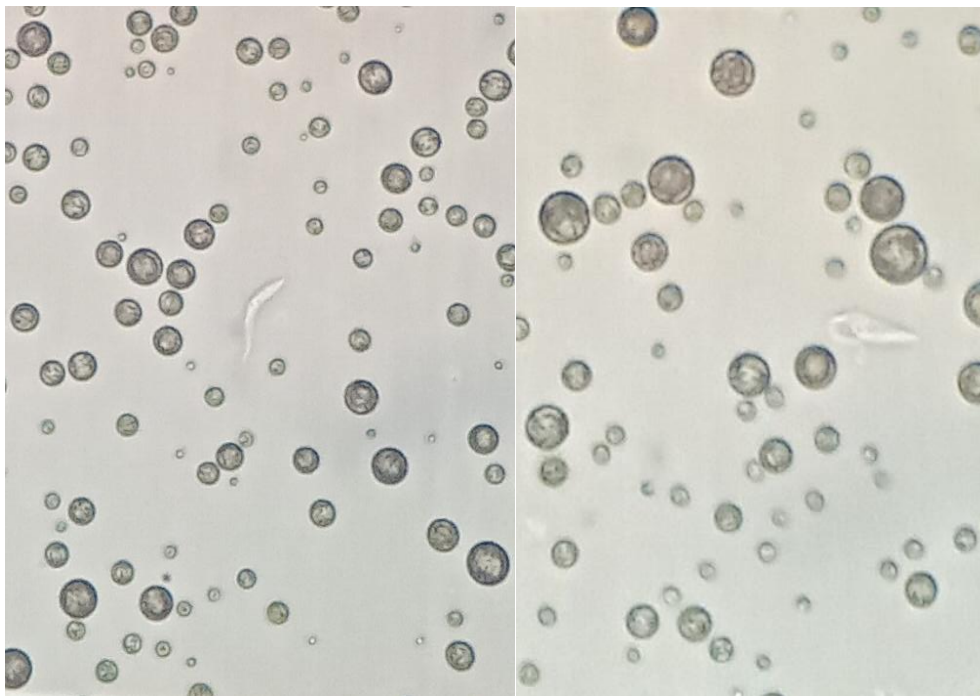


Figura 11. Tripomastigotes metacíclicos observados en microscopio.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

El total de ninfas analizadas fue de 14 ejemplares de *Triatoma dimidiata*. De estos, el 47% presentó infección por *Trypanosoma cruzi*, mientras que el 47% no presentó parásitos en las heces y el 6.6% de mortalidad (Tabla 2).

Tabla 2

Prevalencia de infección por T. cruzi en T. dimidiata

| Estadio | Triatomos | Infectados | Infección % | No infectados | Ausencia de parásitos % | Mortalidad % |
|---------|-----------|------------|-------------|---------------|-------------------------|--------------|
| Ninfa 3 | 10 | 3 | 30 | 7 | 70 | 0 |
| Ninfa 4 | 10 | 6 | 60 | 4 | 40 | 0 |
| Ninfa 5 | 10 | 5 | 50 | 3 | 30 | 20 |
| Total | 30 | 14 | 47 | 14 | 47 | 6.6 |

6.1 Carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* en las heces

Se recolectaron las heces infectadas de las ninfas de *Triatoma dimidiata*. Las observaciones microscópicas llevadas a cabo en el día 28 posterior a la infección revelaron la presencia de tripomastigotes metacíclicos en las heces de los tres estadios. Al realizar el análisis estadístico para comparar las diferentes cargas parasitarias (mL) en los estadios, encontramos que la prueba de Kruskal-Wallis mostró que no se encontraron diferencias significativas ($H=1.884$; $P=0.4137$) (Tabla 3) entre las cargas como se muestra en la Figura 12.

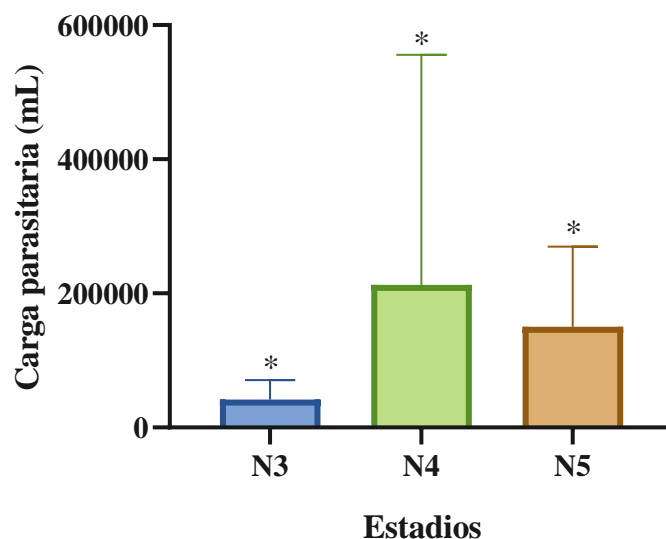


Figura 12. Comparación de las cargas parasitarias en los estadios ninfales de *T. dimidiata*.

El símbolo (*) indica diferencias significativas entre los grupos analizados ($P < 0.05$)

La ninfa de cuarto estadio presentó la mayor media con 212,500 parásitos/mL en comparación con los otros estadios. (Tabla 3).

Tabla 3

Resultados de la Prueba de Kruskal Wallis para comparar las cargas parasitarias en *T. dimidiata*.

| Variable | Estadio | N | Medias | D.E. | Medianas | H | P |
|------------------------|---------|---|--------|--------|----------|-------|--------|
| Carga parasitaria (mL) | Ninfa 3 | 3 | 41667 | 28868 | 25000 | 1.884 | 0.4137 |
| Carga parasitaria (mL) | Ninfa 4 | 6 | 212500 | 343056 | 62500 | | |
| Carga parasitaria (mL) | Ninfa 5 | 5 | 150000 | 119896 | 125000 | | |

6.2 Capacidad de transmisión *Trypanosoma cruzi*

Cuando comparamos la capacidad de cada estadio ninfal de *T. dimidiata* en la transmisión de *T. cruzi* en la prueba de Kruskal-Wallis los resultados entre los estadios no fueron significativos ($H=1.564$; $P=0.4865$) (Figura 13).

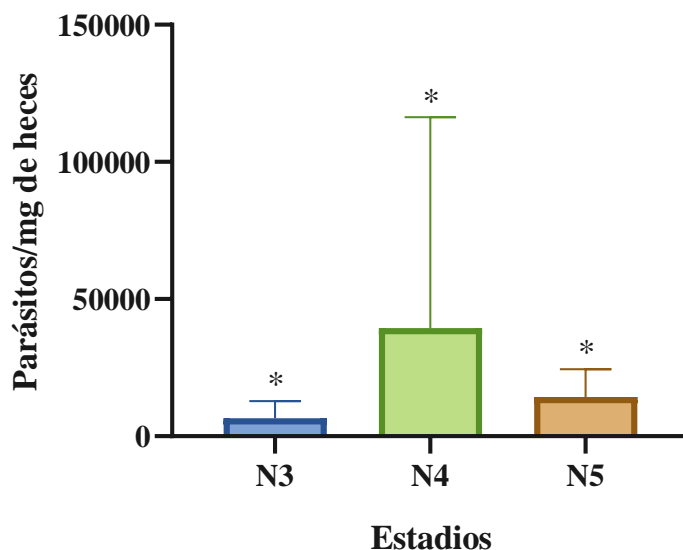


Figura 13. Comparación con el número de parásitos/mg de heces (mg) por cada estadio.

El símbolo (*) indica diferencias significativas entre los grupos analizados ($P<0.05$).

Sin embargo, en la gráfica se observa que en la ninfa de cuarto estadio mostró una desviación estándar alta de 76860 y teniendo una media de 39,450. Para la ninfa de tercer estadio presento una desviación estándar 6,264 y una media de 6,511 mientras que la ninfa de quinto estadio tuvo una desviación estándar de 10,071 y una media de 14322 (Tabla 4).

Tabla 4

Resultados de la Prueba de Kruskal Wallis para comparar los parásitos/mg de heces en T. dimidiata.

| Variable | Estadio | N | Medias | D.E. | Medianas | H | P |
|-----------------------|---------|---|--------|-------|----------|-------|--------|
| Parásitos/mg de heces | Ninfa 3 | 3 | 6511 | 6264 | 4032 | 1.564 | 0.4865 |
| Parásitos/mg de heces | Ninfa 4 | 4 | 39450 | 76860 | 5453 | | |
| Parásitos/mg de heces | Ninfa 5 | 5 | 14322 | 10071 | 10000 | | |

6.3 Correlación la ingesta de sangre y la carga parasitaria (mL) en heces

Las ninfas de tercer estadio presentaron un coeficiente de correlación de Spearman ($r=-0.8660$; $P=0.6667$) indicando que no se encontró significancia. Se puede observar en la Figura 14 que, a menor cantidad de sangre infectada ingerida, menor es la cantidad de parásitos presentes en comparación con los otros estadios.

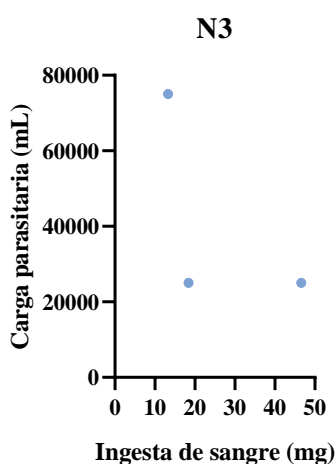


Figura 14. Correlación de la ingesta de sangre (mg) y la carga parasitaria (mL) en las heces de las ninfas de tercer estadio.

Por otro lado, para las ninfas de cuarto estadio, la correlación de Spearman ($r=-0.840$; $P=0.044$) (Figura 15) demostró una correlación negativa, entre la ingesta de sangre y la cantidad de parásitos en las heces.

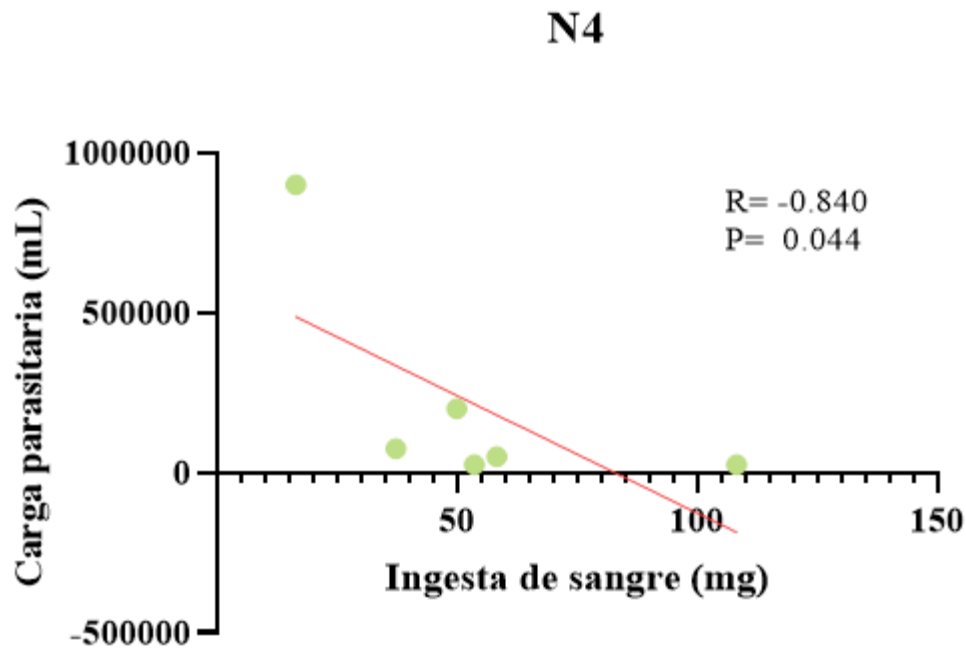


Figura 15. Correlación de la ingesta de sangre (mg) y la carga parasitaria (mL) en las heces de las ninfas de cuarto estadio.

En el caso de las ninfas de quinto estadio, la correlación de Spearman fue de ($r=0.1539$; $P=0.8333$) y no se encontraron diferencias significativas (Figura 16). Las gráficas demuestran que la ingesta de sangre está relacionada con el desarrollo de *T. dimidiata*, ya que, a medida que la ninfa crece, requiere mayor gasto energético y, por ende, ingiere mayor cantidad de parásitos en un hospedero infectado.

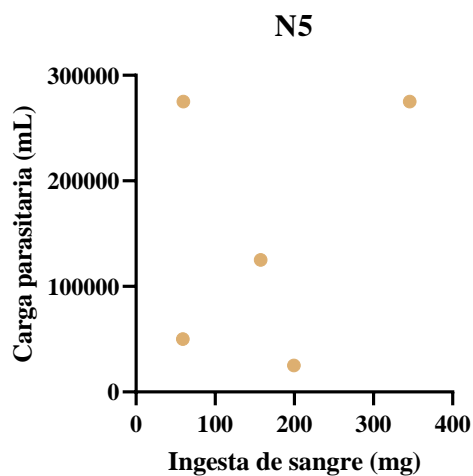


Figura 16. Correlación de la ingesta de sangre (mg) y la carga parasitaria (mL) en las heces de las ninfas de quinto estadio.

No se observó una correlación, en la Figura 17. Sin embargo, se muestra que la mayoría de las ninfas de tercer y cuarto estadio consumieron entre 10 y 60 mg de sangre, logrando una carga parasitaria que oscila entre 25,000 y 900,000 mg/heces.

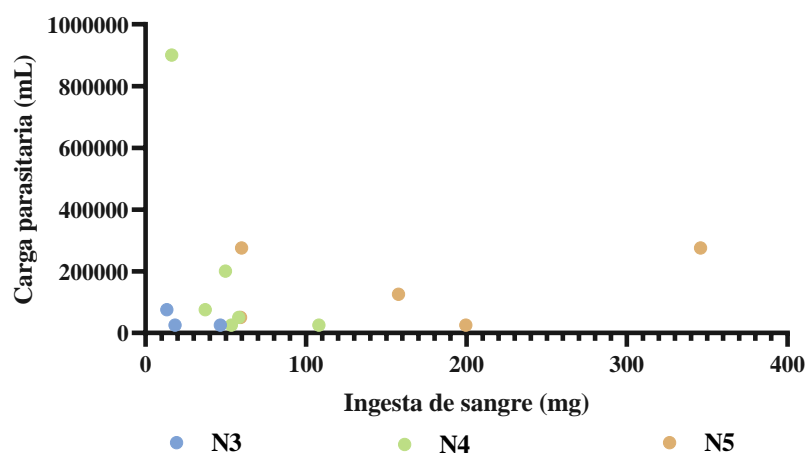


Figura 17. Correlación de la ingesta de sangre (mg) y la carga parasitaria (mL) en las heces de los tres estadios ninfales.

VII. DISCUSIÓN

En total, de los 40 ejemplares expuestos a la infección por *T. cruzi*, 14 mostraron presencia de parásitos, 14 no presentaron parásitos y 12 ninfas y adultos tuvieron mortalidad antes de ser evaluadas por medio de microscopía. Aquellos triatominos que no mostraron presencia del parásito y mortalidad fueron excluidos de las gráficas estadísticas. Cuando *Trypanosoma cruzi* se encuentra en el tracto gastrointestinal del triatomo, para desarrollarse y adherirse al epitelio intestinal, depende de la enzima cisteína peptidasa o cruzaina, la inhibición de esta enzima detiene el desarrollo de *T. cruzi*, así como las interacciones con la membrana perimicrovillar mediadas por proteínas lectinas, todo esto es crucial para el adecuado desarrollo del parásito en el entorno intestinal. Esto nos lleva a considerar que la presencia y ausencia del parasitismo en algunas ninfas pudo haber sido influenciada por esta enzima. La mortalidad observada en los triatominos puede atribuirse a una serie de factores. Por un lado, la infección por el parásito puede afectar la capacidad de los triatominos para resistir la inanición (falta de nutrientes), lo que hace más susceptible a las condiciones ambientales y otros factores estresantes (Guarneri *et al.*, 2021). Además, según Poulin y Thomas (1999), los parásitos tienen la capacidad de manipular varios aspectos del comportamiento y el fenotipo del hospedero, lo que puede llevar a cambios en el movimiento del triatomo hacia diferentes microhabitats, aumentando su vulnerabilidad a la depredación, estos factores combinados pueden influir en la mortalidad de los triatominos durante los ensayos de evaluación. Los estadios ninfales de *T. dimidiata* son capaces de infectarse del parásito *T. cruzi*, observándose sin diferencias significativas (Fuentes *et al.*, 2016), tras la infección de estos triatominos, demostraron que existe una variación en la carga parasitaria de *T. cruzi* en las ninfas de *T. dimidiata*. La relación entre la cantidad de sangre

ingerida de un ratón infectado con *T. cruzi* y la carga parasitaria del triatomo (Neal y Miles, 1977) puede variar lo que permiten entender que la cantidad de heces depositadas por *T. dimidiata* dependen del desarrollo y el hambre de los triatomos (Petana, 1967) lo que también confirmaría nuestra hipótesis “La variación en la carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* en las heces está relacionada con los estadios de *Triatoma dimidiata*”.

VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se mostró que el 47% de las ninfas de *T. dimidiata* presentaron infección por *Trypanosoma cruzi* y una mortalidad del 60%. La frecuencia de parásitos y la carga parasitaria por mg de heces fue mayor en las ninfas de cuarto estadio en comparación con las de tercer y quinto estadio. Las ninfas de cuarto estadio podrían ser más eficientes en la adquisición y mantenimiento del parásito, como resultado se observó una correlación negativa entre la ingesta de sangre y la carga.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Apt, W. (2009). Centenario del Descubrimiento de Carlos Chagas (1909-2009). *Rev Med Parasitol Ibero-Latinoamerican*, 68, 92-94.
- Apt, W. (2014). *Parasitología humana*. McGraw Hill México. pp 282-286
- Aufderheide, A., Salo, W., Madden, M. (2004). A 9 000 year record of Chagas' disease. *Rev. Proc Natl Acad Sci USA*, 101, 2034-2039.
- Barrera, M. (2017). Relación de la carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* con el estado de desarrollo, peso abdominal y tamaño del vector silvestre *Mepraia Spinolai*. Tesis al grado de Magister en Ciencias Animales y Veterinarias Mención Medicina Preventiva Animal.
- Becerril, M. (2014). *Parasitología Médica*. México. Editorial: McGraw Hill México.
- Carrasco, R. y Antezana, G. (1988). Enfermedad de Chagas, Parte I. Recuperado de: <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/21750/CarrascoEnfermedad.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2018). Enfermedad de Chagas. Recuperado: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/resources/es/informativa.pdf>
- Chacón, F., Bacigalupo, A., Álvarez, B., Cattán, P., Solís, R. y Muñoz, C. (2022). The Parasite Load of *Trypanosoma cruzi* Modulates Feeding and Defecation Patterns of the Chagas Disease Vector *Triatoma infestans*. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10051003>
- Chagas, C. (1911). Nova tripanossomiase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo de *Schizotrypanum cruzi* n.g.n.e., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem Int Osvaldo Cruz*, 3, 159-218.
- Chávez, M., de Fuentes, I. y Cañavate, C. (2007). Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas importada, DOI: 10.1157/13111835
- Cigarroa, S. (2021). Caracterización del mitogenoma de los haplogrupos del complejo *Triatoma dimidiata* presentes en México: con énfasis en la identificación de haplotipos y análisis de divergencias filogenéticas. Recuperado: <https://promep.sep.gob.mx/archivospdf/proyectos/Proyecto724416.PDF>
- Cruz, I. (2024). Ecoepidemiología de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) en el Corredor Cerro Mactumatzá-Meseta de Copoya, Chiapas, México. Tesis de Maestra en Ciencias en Biodiversidad y conservación de Ecosistemas Tropicales. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.
- Dorn, P., Engelke, D., Rodas, A., Rosales, R., Melgar, S., Brahney, B., Flores, J. y Monroy, C. (1999). Utility of the polymerase chain reaction in detection of *Trypanosoma cruzi* in Guatemalan Chagas' disease vectors. *Rev. Am. J. Trop. Med. Hyg.* 60: 740-745.
- Ferral, J. (2008). Evaluación de estrategias de control de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) (Hemiptera: Reduviidae) vector de la enfermedad de Chagas en Yucatán, México. Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural. El Colegio de la Frontera Sur. México.
- Fuentes, V., Vidal, D., Gutiérrez, J. y Schlie, M. (2016). Tasa de infección y tiempo de defecación de los estadios ninfales de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) después de la infección experimental con *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Biomed*, 27, 111-117

- Guarneri, A., & Lorenzo, M. (Eds.). (2021). Triatominae - The Biology of Chagas Disease Vectors. Entomology in Focus. DOI:10.1007/978-3-030-64548-9
- Guzmán, E., Zavala, J., Acosta, K., y Rosado, M. (1999). Importancia de la caracterización de cepas de *Trypanosoma cruzi*. Rev Biomed, 10, 177-184.
- Justi, S. y Galvao, C. (2016). The evolutionary tripanoso diversity in Chagas disease vectors, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.11.002>
- Lent, H. y Wygodzinsky. (1979). Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their Levine, N., Corliss, J. Cox, F. Deroux, G., Grain, J., Honigberg, B., Leedale, G., Loeblich, A., Lom, J., Lynn, D., Merinfeld, E., Page, F., Poljansky, G., Sprague, V. y Wallece, F. (1980). A newly revised classification of the protozoa. The Committee on Systematics and Evolution of the Society of Protozoologists. Rev. Journal of Protozoology, 27, 37-58.
- Loshouarn, H., Guarneri, A. (2024). The interplay between temperature, *Trypanosoma cruzi* parasite load, and nutrition: Their effects on the development and life-cycle of the Chagas disease vector *Rhodnius prolixus*. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011937>
- Ministerio de Salud de la Nación. (2012). Guías para la atención al paciente infectado con (*Trypanosoma cruzi*) Enfermedad de Chagas. Ministerio de Salud de la Nación. Recuperado: <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2021/07/chagas.-guia-para-equipos-de-salud.pdf>
- Moo, J., Arnal, A., Pérez, S., Hernandez, A., Ramírez, M., Rosado, M., Dumonteil, E., y Waleckx, E. (2019). Disentangling *Trypanosoma cruzi* tripanosomi cycle dynamics through the identification of blood meal sources of natural populations of *Triatoma dimidiata* in Yucatán, Mexico. Parasites & Vectors, 12, 572. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3819-7>
- Morán, A. (2013). Ficha Técnica de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). En Bioma: 5, 37-39. Recuperado de: https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/3181/1/FichaTecnica_de_Triatoma_dimidiata.pdf.
- Moser, D., Kirchhoff, L. y Donelson, J. (1989). Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 27: 1477-1482.
- Neal, R. y Miles, R. (1977). The number of trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* required to infect *Rhodnius prolixus*. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo 19, 181.
- Organización Mundial de la Salud. La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). (2024). Recuperado de: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-tripanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-tripanosomiasis))
- Organización Panamericana de la Salud. (2023). Enfermedad de Chagas en las Américas: Análisis de la situación actual y revisión estratégica de la agenda regional. Recuperado: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/57882/OPSCDEVT230005_spa.pdf?squence=1&isAllowed=y
- Peña, G., González, J., Jiménez, G., de Fuentes, J., Salazar, P., Bucio, M., Cabrera, M. y Flores, A. (2022). Enfermedad de Chagas: biología y transmisión de *Trypanosoma cruzi*. DOI: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.449>
- Pérez, A. (2024). Identificación y evaluación de péptidos antigénicos, y de antígenos locales de epimastigotes y tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi*, con potencial uso

- diagnóstico. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.
- Pérez, A., y Molina, I. (2018). Chagas disease. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31612-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31612-4)
- Petana W. (1967). American trypanosomiasis in British Honduras. IV. Laboratory observations on *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) and its efficiency as a vector of Chagas' disease in British Honduras. DOI: <https://doi.org/10.1080/00034983.1967.11686507>
- Piesman, J. y Sherlock, I. (1983). Factors controlling the volume of feces produced by triatomine vectors of Chagas' disease. DOI: <http://doi.org/10.5169/seals-313142>
- Pizarro, J. (1996). Estudio parasitológico-entomológico de triatómíneos procedentes de la Provincia Zudañez, Departamento de Chuquisaca. Rev. Arch. boliv. med. 3: 29-33.
- Pizarro, J., Lucero, D. y Stevens, L. (2007). PCR reveals significantly higher rates of *Trypanosoma cruzi* infection than microscopy in the Chagas vector, *Triatoma infestans*: high rates found in Chuquisaca, Bolivia. Rev. BMC infectious diseases. 7: 1.
- Poulin, R. y Thomas, F. (1999). Phenotypic variability induced by parasites: Parasitol. Rev. Today 15, 153-162
- Ramsey, J., Arenas, L., Ortiz, E., Meneses, S., Sánchez, G. y Bravo, I. (2021). Enfermedad de Chagas: omisión u olvido en la salud pública de México. Recuperado: https://insp.mx/assets/documents/webinars/2021/CRISP_Chagas_1nov_2.pdf
- Ramsey, J., Arenas, L., Ortiz, E., Meneses, S., Sánchez, G., y Bravo, I. (2022). Enfermedad de Chagas: omisión u olvido en la salud pública de México. En Síntesis, sobre políticas de salud. Propuestas basadas en evidencia. pp 30-37)
- Rassi Jr, A., Rassi, Anis y Marin, J. (2010). Chagas disease. DOI: 10.1016/s0140-6736(10)60061-x
- Rassi, A. y Marin, A. (2010). Seminar Chagas disease. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60061-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60061-X)
- Reyes, E., Ruiz, H., Escobedo, J. y Barrera, M. (2011). Biología y ecología de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), algunos aspectos de estudio. Revista Dugesiana, 18, 11-16.
- Rojo, G., Valle, J., Guhl, F., & Montenegro, P. (2018). Enfermedad de Chagas en México. Gaceta Médica de México. DOI: 10.24875/GMM.18004515.
- Salazar, P., De Haro, I. y Cabrera, M. (2005). Tres especies de triatóminos y su importancia como vectores de *Trypanosoma cruzi* en México. Medicina Buenos Aires, 65, 63-69. Secretaría de Salud. (2015). Informe sobre la Salud de los Mexicanos. p. 13
- Souza, W. D. (2009). Structural organization of *Trypanosoma cruzi*. Rev. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, pp 89-100.
- Tay, O., Velasco, O., Lara, R., & Gutiérrez, M. (2002). Parasitología Médica (7ª edición). Editorial Méndez. P.124.
- Teixeira, A., Nascimento, R. y Sturm, N. (2006). Evolution and pathology in Chagas disease- A review. DOI: 10.1590/S0074-02762006000500001
- Vela, A. Coral, M., Sereno, D., Costales, J., Bernabé, C. y Breniere, S. (2021). In vitro susceptibility of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units (DTUs) to benznidazole: A systematic review and meta-analysis. PLOS Neglected Tropical Diseases, DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009269>

- Waleckx, E., Camara, J., Ramírez, M., Cruz, V., Rosado, M., Vazquez, S., Najera, R., Gourbiere, S. y Dumontiel, E. (2015). Una intervención innovadora de ecosalud para el control vectorial de la enfermedad de Chagas en Yucatán, México. *Rev. Biomed*, 26, 75-86
- Waleckx, E., Pasos, R., Ramírez, M. y Dumontiel, E. (2016). Sleeping habits affect tripanosoma to host by Chagas disease vector *Triatoma dimidiata*. DOI: 10.1186/s13071-016-1852-3
- Wiser, M. (2022). Kinetoplastids. Recuperado: <http://www2.tulane.edu/~wiser/protozoology/notes/kinet.html#chagas>
- World Health Organization. (2018). Chagas disease (American tripanosomiasis). Recuperado: https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab_1
- World Health Organization. (2022) Control of Chagas disease. Technical Report Series N-905.
- World Health Organization. (2023). Chagas disease (also known as American tripanosomiasis). Recuperado de: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))

X. ANEXOS

10.1 Esquema del diseño experimental

