



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL

**COMPORTAMIENTO DE AGREGACIÓN DE *Triatoma*
dimidiata A HECES INFECTADAS Y NO INFECTADAS CON
Trypanosoma cruzi.**

TESIS

Que presenta:

Mirely del Carmen Franco Sosa

Como requisito parcial para obtener el grado de:

Licenciatura en Biología

Director externo:

Dr. Irving Jesús May Concha

Codirector:

Dr. Joel Israel Moo Millan

Asesor interno:

M. en C. Francisco Javier Nava Guizar

Conkal, Yucatán, México.

Agosto, 2024



TecNM



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL**

COMPORTAMIENTO DE AGREGACIÓN DE *Triatoma dimidiata* A HECES INFECTADAS Y NO INFECTADAS CON *Trypanosoma cruzi*.

TESIS

Que presenta:

Mirely del Carmen Franco Sosa

Como requisito parcial para obtener el grado de:

Licenciatura en Biología

Director externo:

Dr. Irving Jesús May Concha

IRVING J. MAY CONCHA
DR. EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Codirector:

Dr. Joel Israel Moo Millan

Asesor interno:

M. en C. Francisco Javier Nava Guizán

Conkal, Yucatán, México.

Agosto, 2024



TecNM

DEDICATORIAS

Gracias Dios, porque solo tú sabes todo lo que he pasado (lo bueno y lo malo) para poder terminar satisfactoriamente este proyecto. De igual manera, creo que es necesario agradecerme a mí misma por nunca desistir y creer siempre en mí, ya que a lo largo de realizar esta tesis rectifique que todo pasa por algo.

Le dedico el resultado de este proyecto a toda mi familia por acompañarme en cada paso que doy en la búsqueda de mi crecimiento personal y profesional. Principalmente, a mis padres que me apoyaron en todo momento. Me han enseñado a ser la persona que soy hoy, con principios y valores, así como a tener perseverancia, empeño y dedicación en mi día a día para terminar todo lo que me propongo. Todo esto con una enorme dosis de amor.

A mi madre Ligia Sosa por ser un pilar fundamental en mi vida, por darme todo sin esperar nada a cambio, gracias por apoyarme en todas y cada una de las decisiones que tomo y también por enseñarme a afrontar las dificultades y responsabilizarme de mis actos.

A mi padre Alberto Franco que a pesar de ser un poco reservado referente a mis cosas siempre me ha escuchado y me ha apoyado cuando lo he necesitado.

A mi hermano Alberto por siempre estar ahí para mí sin importar nada. Esos días llenos de risas que hacían que todo lo demás pasara a segundo plano. Gracias por tu amor incondicional y por tener esa conexión tan mágica de hermanos que pocos entienden.

A mis amigos que en esas noches de incertidumbre siempre tenían unas palabras de aliento para brindarme.

Por último, una dedicación muy especial y llena de amor a mis abuelitos, Ana María y Alfredo Sosa, que ambos desde el cielo son esa luz resplandeciente que me guía en todo momento.

«Equipado con sus cinco sentidos, el hombre explora el universo que lo rodea
y a sus aventuras las llama ciencia».

-Edwin Powell Hubble

AGRADECIMIENTOS

Detrás de un trabajo de investigación hay todo un equipo multidisciplinario compuesto por grandes científicos haciendo lo que más les gusta: dilucidar el mundo que les rodea. Por ello quiero agradecer al Centro de Investigación Regional Dr. Hideyo Noguchi CIR-UADY por abrirme las puertas para desarrollar mi tesis ahí. A todo el personal del laboratorio de Parasitología por recibirme con la calidez de un hogar y apoyarme en todo momento.

Mi sincero agradecimiento a mi director general de Tesis, el Dr. Irving May Concha por guiarme en todo momento en este largo camino y tenerme mucha paciencia. Gracias por involucrarme en sus proyectos y conferencias útiles para mi crecimiento académico. Al Dr. Joel Moo Millan por todo el ánimo y apoyo brindado, sobre todo por los cursos y asesorías de Bioestadística para el óptimo análisis de datos de esta tesis. De igual forma al Dr. Etienne Waleckx por su asesoramiento y financiamiento del equipo proporcionado para la realización de este proyecto, pero sobre todo por su tiempo y amistad.

Me gustaría agradecer al M. en C. Pedro Martínez Vega por su ayuda en el manejo óptimo de los animales de experimentación utilizados en esta tesis de acuerdo con los principios de bioética. Asimismo, a mi colega y amiga, Ivette Hernández Bolio, por acompañarme en esta aventura desde la residencia y apoyarme en la realización de los ensayos experimentales junto con Luis González.

Expreso mi gratitud al Tecnológico Nacional de México Campus Conkal, por haberme brindado una formación integral y las herramientas necesarias para mi desarrollo profesional. A los profesores, M. en C. Omar Julián Argáez Quijano, M. en C. Francisco Javier Nava Guízar y

Dr. José María Tun Suárez cuyas enseñanzas y guía fueron fundamentales en mi camino académico. Gracias por su dedicación y compromiso.

Mi más profundo agradecimiento al profesor José Andrés Trejo (†), cuya pasión por la enseñanza trascendía las aulas y dejó una huella imborrable en mi formación. Su entusiasmo por la entomología no solo despertó en mí un interés genuino por este fascinante mundo, sino que también me inspiró a seguir explorando con curiosidad y rigor científico. Aunque hoy no está físicamente con nosotros, su legado perdura en cada uno de los que tuvimos el privilegio de aprender de él. Esta tesis es, en parte, un reflejo de su influencia y de la semilla de conocimiento que sembró en mí.

Finalmente, a todos aquellos con quienes me crucé en este camino, gracias. De una u otra forma, cada encuentro dejó en mí una enseñanza.

I RESUMEN

La enfermedad de Chagas es ocasionada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, transmitido principalmente por las heces infectadas de chinches hematófagas llamadas triatomíneos. *Triatoma dimidiata* es el principal vector en la Península de Yucatán, y al igual que otros triatomíneos, estos insectos utilizan el refugio como un recurso fundamental dado que, mientras permanecen agregados dentro del mismo durante el día, obtienen protección contra posibles predadores, acceso a la transferencia de simbiosis y búsqueda de pareja. Diversos autores han demostrado que las deyecciones de triatomíneos contienen compuestos químicos volátiles que promueven la agregación intra e interespecífica, así como la atracción de triatomíneos inmaduros y adultos. Sin embargo, hasta el momento, ningún estudio, en esta especie en particular, ha analizado el efecto de la infección por *T. cruzi* sobre el comportamiento de agregación. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es determinar las posibles diferencias entre *T. dimidiata* infectados y no infectados con *T. cruzi* en el comportamiento de orientación a señales químicas emitidas por heces infectadas con *T. cruzi* y no infectadas. La respuesta comportamental de ninfas de cuarto estadio infectadas y no infectadas con *T. cruzi*, fue evaluada en una arena experimental circular de vidrio, que tenía en su interior como sustrato un papel filtro dividido en dos áreas iguales donde fueron dispuestos los estímulos. En este estudio se realizaron dos series experimentales: 1) ensayo de una vía donde se comparó un control (sin estímulo químico) vs un tratamiento: heces infectadas, heces no infectadas; 2) ensayo de doble vía donde se compararon dos tratamientos: heces infectadas vs heces no infectadas. Los resultados mostraron que las heces infectadas atraen significativamente más a insectos infectados y no infectados que las heces no infectadas, sugiriendo que este efecto podría ser una estrategia del parásito para asegurar su transmisión, teniendo un impacto importante en la epidemiología de la enfermedad.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, Ecología química, Comportamiento de agregación, *Triatoma dimidiata*, *Trypanosoma cruzi*.

ABSTRACT

Trypanosoma cruzi is the etiologic agent of Chagas disease, mainly transmitted by the infected feces of hematophagous bugs called triatomines. *Triatoma dimidiata* is the main vector in the Yucatan Peninsula. As other triatomines, *T. dimidiata* may use shelter as a fundamental resource since, while remaining aggregated inside the shelter during the day, they obtain protection against possible predators, access to symbiont transfer and mating search. Several authors have shown that triatomine feces contain volatile chemical compounds that promote intra- and interspecific aggregation, as well as the attraction of immature and adult triatomines. However, so far, no study has evaluated the effect of *T. cruzi* infection on aggregation behavior for this particular species. Therefore, the objective of the present study is to determine the possible differences between *T. cruzi* -infected and non-infected *T. dimidiata* in the orientation behavior to chemical signals emitted by *T. cruzi*-infected and -uninfected feces. The behavioral response of fourth instar nymphs infected with *T. cruzi* and non-infected nymphs was evaluated in a circular glass experimental arena with a filter paper substrate divided into two equal areas where the stimuli were placed. We performed two experimental series: 1) one-way test where a control (no chemical stimulus) was compared with a treatment: infected feces, uninfected feces; 2) Two-way test where we compared the two treatments: infected feces vs uninfected feces. The results showed infected feces attracted significantly more infected and non-infected insects than uninfected feces. This suggests that this effect could be a strategy of the parasite to ensure its transmission, having an important impact on the epidemiology of the disease.

Key words: Chagas disease, Chemical ecology, Aggregation behavior, *Triatoma dimidiata*, *Trypanosoma cruzi*.

II ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIAS	4
AGRADECIMIENTOS.....	6
I RESUMEN.....	8
ABSTRACT	10
II ÍNDICE DE CONTENIDO	11
ÍNDICE DE TABLAS	14
ÍNDICE DE FIGURAS	15
ÍNDICE DE ANEXOS.....	16
1 INTRODUCCIÓN	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo general	19
2.2 Objetivos específicos	19
3 HIPÓTESIS	20
4 FUNDAMENTO TEÓRICO	21
4.1 Epidemiología de la enfermedad de Chagas	21
4.2 Descripción biológica del agente etiológico <i>Trypanosoma cruzi</i>	23
4.2.1 Anatomía y morfología.....	23
4.2.2 Transmisión y ciclo biológico de <i>T. cruzi</i>	24

4.3 Vectores del parásito <i>T. cruzi</i>	26
4.4 Reservorios y hospederos de <i>T. cruzi</i>	27
4.5 Descripción Biológica de <i>Triatoma dimidiata</i> (Hemíptera: Reduviidae).....	29
4.5.1 Anatomía y Morfología	29
4.5.2 Reproducción	30
4.5.3 Etología y ecología.....	31
4.6 Infección de <i>T. cruzi</i> en <i>T. dimidiata</i>	32
4.7 Comunicación química	34
4.8 Agregación de triatomíneos	35
5 DESARROLLO DEL PROYECTO	37
5.1 Determinación del universo y obtención de la muestra	37
5.1.1 Área de estudio y selección de la localidad	37
5.1.2 Obtención de la muestra	37
5.2 Determinación del tipo de estudio (tipo de investigación)	37
5.3 Infección de <i>T. dimidiata</i> con <i>T. cruzi</i>	38
5.3.1 Estatus de la infección de <i>T. dimidiata</i> por <i>T. cruzi</i>	38
5.4 Obtención de las heces	39
5.5 Ensayos comportamentales de agregación.....	39
5.6 Análisis de datos.....	42
6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43

6.1 Infección de triatominos.....	43
6.2 Comportamiento de agregación a heces infectadas y no infectadas con <i>T. cruzi</i>	44
6.2.1 Análisis de primera elección en <i>T. dimidiata</i>	44
6.2.2 Análisis del tiempo de permanencia en <i>T. dimidiata</i>	47
6.2.2.1 Insectos de <i>T. dimidiata</i> infectados y no infectados a heces infectadas vs control	47
6.2.2.2 Insectos de <i>T. dimidiata</i> infectados y no infectados a heces no infectadas vs control	48
6.2.2.3 Insectos de <i>T. dimidiata</i> infectados y no infectados a heces infectadas vs heces no infectadas	50
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
ANEXOS.....	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje del número de Insectos No Infectados (n=90) atraídos a los tratamientos respecto a la primera elección. 45

Tabla 2. Porcentaje del número de Insectos Infectados (n=90) atraídos a los tratamientos respecto a la primera elección. 46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Patrones de propagación mundial de la enfermedad de Chagas en la última década. (Liu <i>et al.</i> , 2020).	22
Figura 2. Formas celulares de los Trypanosomatida. Por Richard Wheeler (Zephyris) 2006.	24
Figura 3. Descripción morfológica de <i>Triatoma dimidiata</i> . (Tomado de Menes, 2004).	29
Figura 4. Ciclo de vida de <i>Triatoma dimidiata</i> . (Elaboración personal: Franco-Sosa y Hernández-Bolio, 2023).	30
Figura 5. Sistema olfativo de los triatominos. (Tomado de Alavez-Rosas <i>et al.</i> , 2023).	35
Figura 6. Esquematización de la estrategia experimental. (Elaboración personal Franco-Sosa, 2023).	41
Figura 7. Comparación en la primera elección de insectos infectados y no infectados con <i>T. cruzi</i> hacia diferentes tratamientos: heces infectadas (HI), heces no infectadas (HNI) y control (C).	46
Figura 8. Tiempo de permanencia de <i>T. dimidiata</i> infectados y no infectados en heces infectadas (HI) vs control (C).	48
Figura 9. Tiempo de permanencia de <i>T. dimidiata</i> infectados y no infectados en heces no infectadas (HNI) vs control (C).	49
Figura 10. Comparación del tiempo de permanencia de insectos infectados y no infectados de <i>T. dimidiata</i> a heces infectadas (HI) vs heces no infectadas (HNI).	51

ÍNDICE DE ANEXOS

Foto 1. Alimentación de <i>T. dimidiata</i> con palomas.	72
Foto 2. Mantenimiento de la colonia de <i>T. dimidiata</i> .	73
Foto 3. Separación de ninfas del II estadio de <i>T. dimidiata</i> para realizar los bioensayos.	74
Foto 4. Cría de ratones infectados con <i>T. cruzi</i> .	75
Foto 5. Alimentación de <i>T. dimidiata</i> con ratones infectados con <i>T. cruzi</i> .	76

1 INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*. Esta enfermedad, es endémica del Continente Americano y ocupa el tercer lugar entre las enfermedades infecciosas de Latinoamérica, después del VIH-SIDA y la tuberculosis. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, cerca de 100 millones de personas están en riesgo de infectarse, y entre seis y siete millones están infectadas con el parásito (OMS, 2023).

En México se estima que existen cerca de dos millones de personas infectadas, con un incremento de 69 mil casos por año. El 65% de esta población reside en áreas rurales y suburbanas (Ramsey *et al.*, 2003). En Yucatán se estima que hay 62 mil personas infectadas con una prevalencia del 3% (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

En México, la enfermedad de Chagas en el 96 % de los casos es por transmisión vectorial y se da principalmente por las heces contaminadas de triatominos de la subfamilia Triatominae (Ramsey *et al.*, 2003). En la península de Yucatán, *Triatoma dimidiata* es el vector principal de la enfermedad de Chagas (Waleckx *et al.*, 2015). Se considera que la importancia epidemiológica de *T. dimidiata*, en esta región, se basa en su amplio grado de adaptabilidad debido a que habita diversos ecosistemas, incluyendo selvas húmedas y secas (Zeledón *et al.*, 2001).

En triatominos al igual que en otros insectos, las señales químicas desempeñan un papel importante en casi todos los aspectos del ciclo de vida, como por ejemplo la agregación entre conoespecíficos, la emisión de mensaje de alarma y defensa, la búsqueda y selección de hospederos, la búsqueda de pareja y el comportamiento sexual (May-Concha *et al.*, 2013).

Diversos autores han demostrado que las deyecciones de triatominos promueven agregación intra e interespecífica y que contienen compuestos químicos volátiles que atraen triatominos inmaduros y adultos (Lorenzo-Figueiras y Lazzari, 2002; Galvez-Marroquin *et al.*, 2017; May-Concha *et al.*, 2018a) y este comportamiento es relevante en la ecoepidemiología de la enfermedad de Chagas.

Existe mucho conocimiento sobre el comportamiento de agregación y la ecología química de los triatominos; sin embargo, hay aspectos que aún no han sido estudiados, sobre el comportamiento de agregación, y las posibles modificaciones en los componentes del sistema de comunicación por diferentes factores. En este contexto, es de interés particular estudiar el factor vinculado directamente con su rol como vector (p. ej., la infección por *T. cruzi*). Además, este tipo de investigación adquiere aún más relevancia al considerar la importancia epidemiológica que tienen los triatominos vectores del *T. cruzi* (el agente causal de la enfermedad de Chagas) en Yucatán. Por lo tanto, analizar el efecto que tiene *T. cruzi* sobre el comportamiento de agregación, profundiza el conocimiento sobre la capacidad vectorial y de manera más general, sobre la epidemiología de la enfermedad. Finalmente, esta investigación pretende hacer un aporte directo a nuevas estrategias de control y monitoreo utilizando métodos que sean seguros y sustentables, que integren la ecología y biología del vector y, por ende, permita la disminución de riesgo en la transmisión vectorial.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Determinar las diferencias entre *T. dimidiata* infectados y no infectados con *T. cruzi* en el comportamiento de orientación a señales químicas emitidas por heces infectadas y no infectadas con *T. cruzi*.

2.2 Objetivos específicos

- Analizar el comportamiento de agregación de insectos infectados y no infectados hacia heces infectadas con *T. cruzi*.
- Analizar el comportamiento de agregación de insectos infectados con *T. cruzi* y no infectados hacia heces no infectadas.
- Comparar el comportamiento de agregación de insectos infectados y no infectados hacia heces infectadas y no infectadas con *T. cruzi*.

3 HIPÓTESIS

La infección de *Triatoma dimidiata* con *Trypanosoma cruzi* modifica el comportamiento de agregación.

4 FUNDAMENTO TEÓRICO

4.1 Epidemiología de la enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana es una antropozoonosis característica de América. Es ocasionada por el protozooario *Trypanosoma cruzi* y es transmitida principalmente por las heces infectadas de chinches hematófagas de la subfamilia Triatominae. Actualmente, se calcula que en el mundo hay entre seis y siete millones de personas infectadas (OMS, 2023).

La enfermedad de Chagas y su vector, se conocen desde los escritos de Fray Bernardino de Sahagun, quien en su obra «Historia General de las Cosas de la Nueva España» (1830) describe a los triatominos como cucarachillas pardas, ponzoñosas y donde pican presentan comezón e hinchazón. Posteriormente en 1811, Latreille describió científicamente la especie *T. dimidiata*, y en 1909, el médico brasileño Carlos Chagas descubrió la enfermedad que lleva su apellido y que se vincula al parásito con los triatominos.

México, es un país endémico para la enfermedad de Chagas, donde dos terceras partes del territorio pueden ser consideradas en riesgo de transmisión vectorial (Salazar *et al.*, 2016). Sin embargo, en la última década, el perfil epidemiológico de esta enfermedad ha sido modificado y la han convertido en un riesgo mundial por la globalización y el aumento de los movimientos poblaciones, por ejemplo, se está extendiendo a áreas no endémicas como los Estados Unidos de América, Canadá, Europa y algunos países del Mediterráneo oriental y del Pacífico occidental (Figura 1) (Liu *et al.*, 2020).

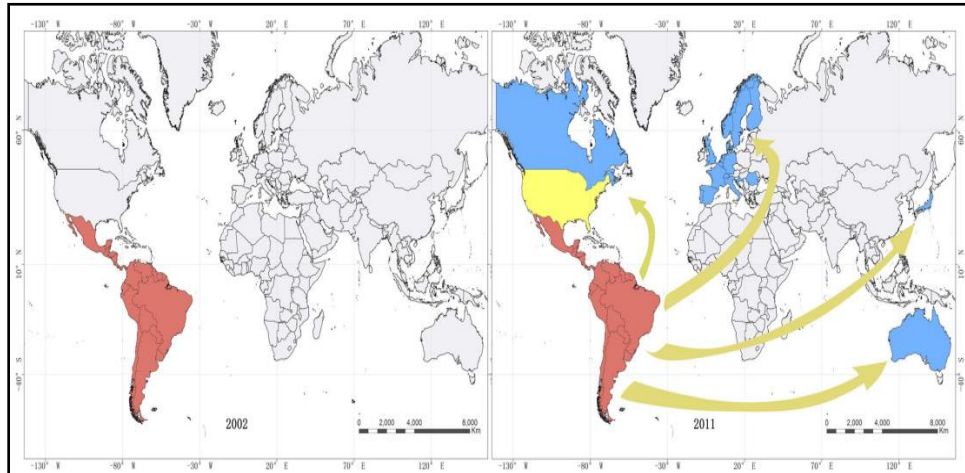


Figura 1. Patrones de propagación mundial de la enfermedad de Chagas en la última década. Rojo: Zona endémica de la enfermedad de Chagas transmitida por vectores locales. Amarillo: Zona endémica de la enfermedad de Chagas transmitida ocasionalmente por vector local. Azul: áreas no endémicas de la enfermedad de Chagas introducidas por casos importados con transmisión no vectorial (Liu *et al.*, 2020).

Las zonas de riesgo para la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas, en la mayoría de los países de América Latina, se ubican en las áreas rurales donde existe una alta proporción de viviendas en condiciones precarias y una convivencia estrecha con los ambientes silvestres del vector-reservorio (Ramsey *et al.*, 2003). Sin embargo, se ha evidenciado que los patrones de infestación dependen principalmente y en gran medida de la ecología local de los vectores (Waleckx *et al.*, 2015).

4.2 Descripción biológica del agente etiológico *Trypanosoma cruzi*

4.2.1 Anatomía y morfología

Trypanosoma cruzi es un protista de la clase Kinetoplastea, familia Trypanosomatidae, caracterizado por la presencia de un solo flagelo y una sola mitocondria, cuyo genoma se encuentra ordenado en una compleja y compacta región dentro de la propia mitocondria, denominada cinetoplasto (Goldenberg y Ávila, 2011).

T. cruzi presenta cuatro formas distintas de involución: amastigote, promastigote, epimastigote y tripomastigote (Figura 2). Las diferentes formas se distinguen entre sí por la posición del cinetoplasto en relación con el núcleo y por la presencia o ausencia de una membrana ondulante (Goldenberg y Ávila, 2011). A continuación, se describen las formas del parásito:

- Amastigote: Es más esférico y no tiene flagelo libre. El cinetoplasto se ve como un cuerpo oscuro cerca del núcleo. Es la forma reproductiva en el interior de las células mamíferas (principalmente en células musculares y nerviosas).
- Promastigote: Tiene el cinetoplasto en la parte anterior y un flagelo libre sin membrana ondulante.
- Epimastigote: El cinetoplasto se encuentra localizado en la parte media del organismo justo por delante del núcleo. El flagelo emerge de la parte media del parásito y forma una membrana ondulante más pequeña que la observada en los tripomastigotes. Es la forma reproductiva en el tracto digestivo de los invertebrados (triatominos vectores) y en medio de cultivos.
- Tripomastigote metacíclico: El cinetoplasto se encuentra localizado posterior al núcleo, usualmente en la porción más posterior del parásito. El flagelo sale del extremo posterior

y se dobla hacia delante a lo largo del cuerpo del parásito, formando una membrana ondulante a lo largo de todo el parásito y emerge en forma libre en su extremo anterior. Se encuentra en la sangre de los mamíferos y es la forma infectante que contienen las heces de los triatomíneos. Esta forma no se divide.

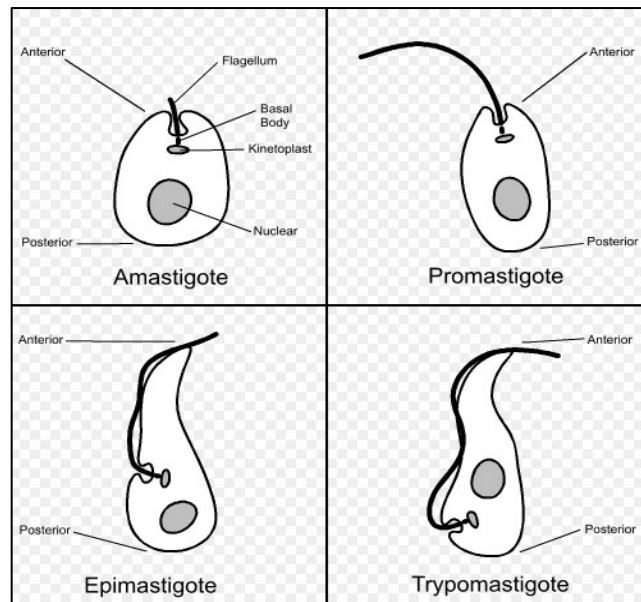


Figura 2. Formas celulares de los Trypanosomatida. Por Richard Wheeler (Zephyris) 2006.

4.2.2 Transmisión y ciclo biológico de *T. cruzi*

La principal ruta de transmisión de *T. cruzi* es la vectorial, el ciclo de transmisión comienza cuando un triatómino hematófago infectado con el parásito se alimenta de los mamíferos (incluido el humano) y posterior a la alimentación, el triatómino excreta las heces sobre la piel lacerada por la picadura y de esta forma, el hospedero, al rascarse, inocula dentro de la herida las formas infectivas del parásito (tripomastigotes metacíclicos). Los tripomastigotes metacíclicos se convierten en amastigotes cuando son fagocitados por los glóbulos blancos. Esta es una etapa

donde el parásito se reproducirá por fisión binaria. Después de la reproducción, una gran cantidad de amastigotes se encontrarán dentro de la célula infectada. El amastigote se convertirá de nuevo en tripomastigote metacíclico para romper la célula e infectar otras células nuevas. (Carrada, 2004).

El 85% de los casos de enfermedad de Chagas es por la vía vectorial. Sin embargo, también existen las infecciones por transfusión de sangre o productos sanguíneos de donantes infectados, por la transmisión de la madre infectada a su hijo durante el embarazo o el parto (vía congénita), trasplante de órganos, oral (por consumir alimentos contaminados con heces de triatomíneos) y por accidentes de laboratorio (Ramsey *et al.*, 2003; OMS, 2023).

Clínicamente, la enfermedad de Chagas presenta dos fases principales llamadas fase aguda y fase crónica. La primera fase (aguda), dura entre cuatro y ocho semanas después de la infección inicial, y se caracteriza por la presencia de una alta cantidad de parásitos circulando en el torrente sanguíneo de los pacientes (Ballesteros-Rodea *et al.*, 2018). Durante esta fase el paciente puede no presentar síntomas o estos ser leves y no específicos. Posteriormente, empieza la fase crónica. Al inicio de esta etapa, los parásitos se encuentran en forma de amastigotes en tejido cardíaco y no se presentan signos clínicos. Sin embargo, con el paso de los años, aproximadamente 30-40% de los pacientes desarrollan síntomas, siendo generalmente alteraciones cardíacas, las cuales pueden resultar en muerte súbita por arritmias o insuficiencias cardíacas progresivas por destrucción del músculo cardíaco y sus inervaciones (OMS, 2023).

Actualmente no se cuenta con una vacuna eficaz, y los medicamentos existentes (Benznidazol y Nifurtimox) son parcialmente eficaces, siendo poco efectivos en la fase crónica (60%) y se encuentran contraindicados para algunos pacientes (Secretaría de Salud, 2016; Murillo-

Godínez, 2018; Villanueva-Lizama *et al.*, 2018). Por lo tanto, el control vectorial es el método más utilizado para la prevención de la transmisión del parásito.

El principal objetivo de los programas de control de vectores en países endémicos se ha centrado en la eliminación de las poblaciones domésticas de triatominos mediante la aplicación de insecticidas residuales para reducir la incidencia de la enfermedad (Lobbia, 2019). Sin embargo, esta estrategia tiene como inconveniente su insostenibilidad a mediano plazo, generación de resistencia y daños al medio ambiente por lo que actualmente se reconoce la importancia de desarrollar estrategias de control basadas en una comprensión integral de la ecología del vector (Waleckx *et al.*, 2015).

4.3 Vectores del parásito *T. cruzi*

Todas las especies de triatominos se consideran vectores potenciales de *T. cruzi*, siendo los géneros *Triatoma* y *Rhodnius* los más abundantes y relevantes en la eco-epidemiología de la enfermedad. Dentro de estos dos géneros, las especies más reconocidas son *Triatoma infestans*, principalmente confinados en los países del extremo sur de Sudamérica, *Rhodnius prolixus* con una amplia distribución por América Central hasta países localizados en el norte del Amazonas y Brasil y *T. dimidiata* principalmente distribuida desde México hasta el norte de Perú (Dulbecco *et al.*, 2015).

La riqueza de triatominos en México es abundante, con 32 especies autóctonas descritas, de las cuales todas, excepto *Belminus costaricensis*, *Triatoma bassolsae*, *Triatoma bolivari* y *Triatoma gomeznunezi*, se han identificado naturalmente infectadas con *T. cruzi* (Ryckman, 1962; Zárate y Zárate, 1985; Tay *et al.*, 1992; Vidal *et al.*, 2000; Magallón-Gastélum *et al.*, 2001; Ibarra-Cerdeña *et al.*, 2009).

Las especies mexicanas de *Triatoma* pertenecen a dos subgrupos: *protracta* y *rubrofasciata* (Lent & Wygodzinsky, 1979). El primero incluye el complejo *protracta*, con seis especies y cuatro subespecies de *T. protracta* en México y el complejo *lecticularia* (principalmente *Triatoma lecticularia*, con un registro para *Triatoma incrassata* y dos para *Triatoma indictiva* en México) (Ryckman, 1962; Galvão *et al.*, 2003; Kjos *et al.*, 2009). El subgrupo *rubrofasciata* incluye el complejo *rubida* (5 subespecies de *T. rubida*) del norte de México y el sur de Estados Unidos (Field-Cortázares *et al.*, 2019), el complejo *Phyllosoma*, que se encuentra sólo en México (11 especies incluyendo *Triatoma recurva*) y el complejo *dimidiata*: 3 haplogrupos (hg) de *Triatoma dimidiata* (Ibarra-Cerdeña *et al.*, 2009).

4.4 Reservorios y hospederos de *T. cruzi*

Más de 180 especies domésticas, sinantrópicas y silvestres de mamíferos, incluido el humano, pueden infectarse con el parásito *T. cruzi* y estar involucrados en el ciclo de transmisión del parásito (OMS, 2023, Ramsey *et al.*, 2015). Los mamíferos domésticos son hospederos relevantes para el parásito porque pueden desempeñar varios papeles en la transmisión de *T. cruzi*, y pueden actuar como un vínculo entre los ecotopos silvestres, peridomésticos y domésticos (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

En Yucatán, se ha documentado que los perros y gatos son importantes reservorios domésticos (Cruz-Reyes y Pickering-Lopez, 2006). Por otro lado, los mamíferos silvestres con registro de infección por *Trypanosoma cruzi* en la Península de Yucatán son: *Didelphis marsupialis*, *D. virginiana*, *Ototylomys phyllotis*, *Heteromys gaumeri*, *Peromyscus yucatanicus*, *Liomys irroratus*, *Neotoma mexicana*, *Paramelomys levipes*, *Sigmodon hispidus*, *Artibeus jamaicensis*, *Choeronycteris mexicana*, *Glossophaga soricina*, y *Sturnira lilium* (Zavala-

Velázquez *et al.*, 1996; Villegas-García y Santillan-Alarcón, 2001; Ruíz-Piña y Van-Wynsberghe 2002; Ramsey *et al.*, 2012). Los mamíferos sinantrópicos hallados frecuentemente infectados son la zarigüeya (*Didelphis marsupialis*), los roedores (*Mus musculus* y *Rattus rattus*), y los murciélagos (Quiropteros).

En un estudio realizado por Moo-Millán y colaboradores (2019) en Yucatán, mencionan que el perro, el humano y el ganado vacuno, son identificados como los principales mamíferos involucrados en la conexión de los ciclos de transmisión silvestre y doméstico. Siendo el perro el hospedero que apareció como el animal más importante en la vía de transmisión de *T. cruzi* a los humanos. Además, en este trabajo se evidenciaron otras especies domésticas como gatos y cerdos, así como especies sinantrópicas como los ratones, que previamente han sido reportados como hospederos importantes de *T. cruzi* en la región.

4.5 Descripción Biológica de *Triatoma dimidiata* (Hemíptera: Reduviidae)

4.5.1 Anatomía y Morfología

Triatoma dimidiata es una especie con un colorido distintivo en el cuerpo, que generalmente va desde píceo a negro, y en el conexivo y corium desde amarillo pálido hasta amarillo naranja. El macho mide entre 24.5 a 32.0 mm, mientras que la hembra mide entre 24.5 a 35.0 mm (Figura 3) (Menes, 2004). Esta especie pertenece al Orden Hemíptera y se caracterizan por poseer alas anteriores con la porción basal engrosada y coriácea, y la apical membranosa (denominada Hemélitros). Las alas posteriores son membranosas. Las partes bucales son del tipo picador chupador y la probóscide está segmentada; presentan ojos compuestos bien desarrollados (Borror *et al*, 1989).

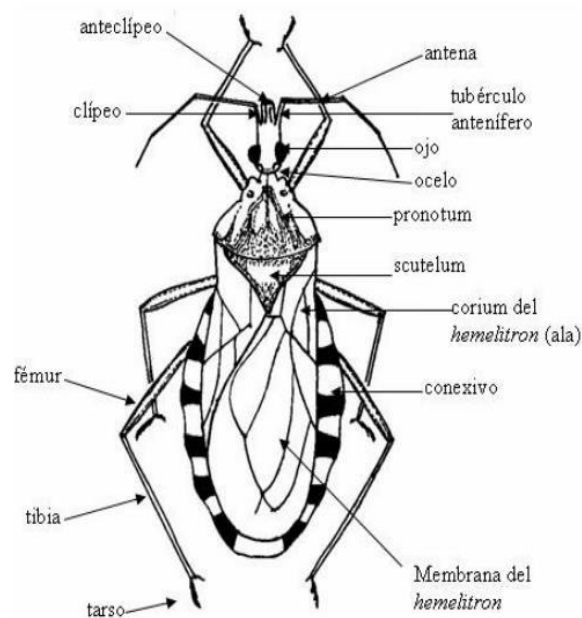


Figura 3. Descripción morfológica de *Triatoma dimidiata*. (Tomado de Menes, 2004).

Estos insectos tienen una metamorfosis hemimetábola cuyo ciclo biológico pasa por cinco estadios ninfales hasta llegar al estado adulto (Figura 4). Cuando eclosionan del huevo lo hacen con un aspecto muy similar a los adultos y se diferencian de los mismos por la ausencia de alas y el aparato reproductor no desarrollado (Castillo y Wolff, 2000). Ambos sexos, así como todos sus estadios ninfales se alimentan de sangre (hematófagos estrictos) (Obed y Rabinovich, 2010).

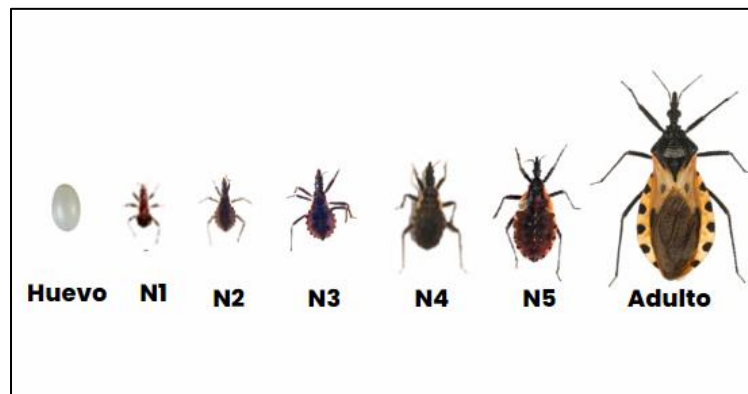


Figura 4. Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata*. (Elaboración personal: Franco-Sosa y Hernández-Bolio, 2023).

4.5.2 Reproducción

En general, en los triatominos, la oviposición comienza a los 10-20 días siguientes de la primera cópula. Cada hembra puede depositar entre 100 y 600 huevos durante su vida adulta (3-4 meses), dependiendo de la especie y de la cantidad de alimento ingerido (Castillo y Wolff, 2000). Se ha observado que aquellas hembras que no copulan, aunque se alimenten tienen vida corta (115 días en promedio), mientras que aquellas que copulan pueden vivir 630 días en promedio (Reyes-Novelo *et al.*, 2011). Los machos son llamados por las hembras para la cópula a través de las feromonas sexuales. Esta feromona sexual es producida por la glándula metasternal, la cual, solo se encuentra en los estados adultos machos y hembras de los triatominos (May-Concha *et al.*, 2013).

4.5.3 Etología y ecología

Los triatomíneos presentan hábitos nocturnos para desarrollar diversos comportamientos entre ellos la alimentación y la reproducción (Castillo y Wolff, 2000). De acuerdo con Schofield (1994), la regulación natural del tamaño de la población de triatomíneos depende de la densidad de sus hospederos vertebrados. Generalmente, los triatomíneos tardan entre 10 y 20 minutos en alimentarse a repleción. La mayoría de las especies de triatomíneos se alimentan de noche, cuando sus hospederos vertebrados están dormidos (Peña-Callejas *et al.*, 2022).

La importancia ecológica que presenta la especie *T. dimidiata*, es la capacidad que tiene de habitar tanto en ambientes silvestres como en aquellos modificados por la acción humana (peridomiciliares y domiciliarios) (Gómez-Palacio *et al.*, 2015). En este sentido, en Guatemala, se le ha encontrado dentro de cuevas y refugios de animales (marsupiales, murciélagos, y otros mamíferos), huecos y raíces de árboles, cercas y pilas de piedras y en los domicilios (Sasaki *et al.*, 2003; Ramos-Ligonio *et al.*, 2012; Cazorla-Perfetti, 2016; Guzmán-Gómez *et al.*, 2021; Murillo-Solano *et al.*, 2021).

En Yucatán esta especie vive principalmente en ecotopos selváticos y en menor medida en hábitats peridomésticos, sin embargo, presenta un comportamiento intrusivo, es decir, ingresa al interior de las viviendas de forma estacional durante la estación de secas (marzo-julio), sin establecer colonias sustentables dentro de los hogares (Gourbiere *et al.*, 2008; Dumonteil *et al.*, 2009; Waleckx *et al.*, 2016).

4.6 Infección de *T. cruzi* en *T. dimidiata*

La presencia del parásito en el interior del vector puede modificar una amplia gama de procesos fisiológicos, comportamentales y morfológicos en el insecto, lo que resulta en una mayor probabilidad de que el parásito pase de un hospedero intermedio a su hospedero definitivo (Poulin, 2010; Herbison *et al.*, 2018).

Estas modificaciones podrían ser consecuencias necesarias de la infección o interpretarse como manipulación adaptativa del hospedero por parte de la infección. Varios estudios han interpretado como manipulación adaptativa diferentes modificaciones en la fisiología o el comportamiento de insectos vectores infectados con los parásitos que transmiten (Heil, 2016). Por ejemplo, mosquitos *Anopheles gambiae* infectados con *Plasmodium falciparum* tienden a ingerir poca sangre de varios mamíferos además que muestran una mayor atracción a olores emitidos por humanos con respecto a los mosquitos no parasitados (Smallegange *et al.*, 2013). Por otro lado, *Aedes aegypti* infectados con virus Dengue 2 mostraron mayor actividad locomotora en comparación a los no infectados (Lima-Camara *et al.*, 2011). *Phlebotomus dobocki* infectados con *Leishmania major* tendieron a picar repetidamente a sus hospederos ratones (Beach *et al.*, 1985).

Aunque hay muchos estudios que determinan los cambios en insectos vectores infectados con los parásitos que transmiten, hasta el momento *T. cruzi* se considera históricamente como no patógeno o sub-patógeno para sus vectores (Schaub, 2009; Marlière *et al.*, 2015). Sin embargo, diversos estudios han demostrado que *T. cruzi* tiene efectos sobre la supervivencia, el desarrollo ontogenético, el comportamiento y diferentes procesos fisiológicos en diferentes especies de triatomíneos probablemente por una manipulación metabólica (Schaub, 1992; Eichler y Schaub,

2002; Schaub, 2006; Schaub 2009; Vallejo *et al.*, 2009; Elliot *et al.*, 2015; Marlière *et al.*, 2015; Ramírez-González *et al.*, 2019; Depickère *et al.*, 2019). Por ejemplo, *Rhodnius prolixus* infectado con *T. cruzi* y *T. rangeli* mostraron un retraso en el tiempo de muda, la disminución del potencial reproductivo, el incremento en la actividad locomotora y la disminución de la fototaxia positiva (Fellet *et al.*, 2014; Elliot *et al.*, 2015; Marlière *et al.*, 2015). En *Mepraia spinolai* infectados con *T. cruzi*, mostraron una disminución en el peso de las gónadas, en el tamaño corporal, en el tiempo de detección del hospedero y en el tiempo de la primera deyección comparado con los insectos no infectados (Botto-Mahan *et al.*, 2006; 2008).

En *Triatoma infestans* se observó que los insectos infectados con *T. cruzi*, comenzaron a defecar tempranamente y en mayor cantidad en comparación con los insectos no infectados (Pereyra *et al.*, 2019). Otra modificación en la etología de este vector es que los insectos infectados presentan un mayor comportamiento de agregación hacia las heces de insectos infectados (Depickère *et al.*, 2019). Por otro lado, *Triatoma pallidipennis* y *Triatoma longipennis* infectados con *T. cruzi* mostraron un aumento en su actividad locomotora y además refinan su respuesta comportamental hacia olores de humano (Marlière *et al.*, 2015; Ramírez-González *et al.*, 2019; Marlière *et al.*, 2021).

Estudios recientes con la especie *T. dimidiata* han demostrado el efecto de *T. cruzi* en su biología sensorial (Escalante-Talavera, 2021; May-Concha *et al.*, 2022) y en la búsqueda y selección de hospederos (Úc-Díaz, 2021). Estos últimos trabajos, han demostrado el efecto de *T. cruzi* sobre el comportamiento y la plasticidad fenotípica del vector, concluyendo que estas modificaciones en el vector podrían tener profundas consecuencias epidemiológicas para la transmisión de la enfermedad de Chagas.

4.7 Comunicación química

Todos los organismos se comunican por medio de señales químicas para transmitir información. Existe una rama de la ciencia, llamada ecología química, que se encarga de la identificación y síntesis de las sustancias que transportan información (semioquímicos), así como de los mecanismos de percepción de los organismos y de las consecuencias ecológicas, conductuales y de desarrollo que generan estos compuestos en los seres vivos (Alavez-Rosas *et al.*, 2023).

En insectos la comunicación química permite las interacciones intra e interespecíficas mediante señales quimiosensoriales para impulsar una multitud de comportamientos. Hay tres elementos importantes en esta interacción: un emisor, una señal y un receptor. Las señales químicas a menudo se denominan semioquímicos (del griego *semeion*, señal), y están divididos en feromonas (actúan entre miembros de la misma especie) y aleloquímicos (actúan entre diferentes especies) (Alavez-Rosas *et al.*, 2023).

Las feromonas pueden clasificarse con base en su función: sexual, agregación, alarma y búsqueda de alimento. Por ello, en los insectos sirven para encontrar pareja, permanecer juntos, enviar señales a miembros de su misma especie indicando la locación de alimento y para protegerse de predadores, entre otras funciones (Klowden y Palli, 2022). Por su parte, los aleloquímicos se dividen en: alomonas (compuestos que benefician al emisor), kairomonas (benefician al receptor), y sinomonas (benefician a ambos).

Para detectar estos semioquímicos, los triatominos utilizan sus antenas, las cuales poseen unos diminutos órganos especializados llamados sensilas, que parecen pelos muy pequeños (Figura 5). Dentro de las sensilas existe todo un mecanismo de reconocimiento y procesamiento

de las moléculas que desencadena un impulso nervioso que es procesado en el cerebro para generar una respuesta comportamental (Barrozo *et al.*, 2017; Alavez-Rosas *et al.*, 2023).

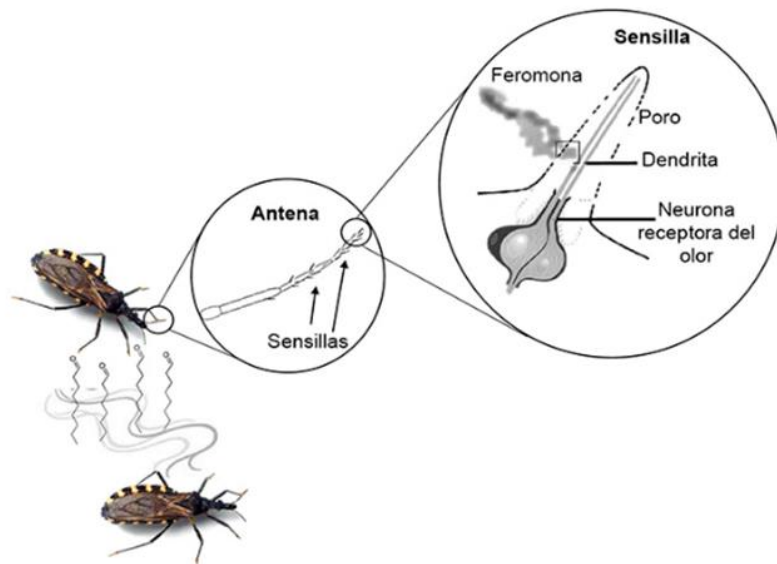


Figura 5. Sistema olfativo de los triatominos. (Tomado de Alavez-Rosas *et al.*, 2023).

4.8 Agregación de triatominos

Los semioquímicos juegan un papel importante en los triatominos para llevar a cabo sus funciones y procesos biológicos naturales y una de las feromonas más importantes son las feromonas de agregación, que son señales que inducen la formación de grupos de conespecíficos, conduciendo a sitios de alimentación y/o de reproducción (Cardé, 2014; McKinney *et al.*, 2015). Por ello, diversos autores han demostrado que las deyecciones de triatominos promueven agregación intra e interespecífica y que contienen compuestos químicos volátiles que atraen insectos inmaduros y adultos (Lorenzo-Figueiras y Lazzari 2002; Galvez-Marroquin *et al.*, 2017; May-Concha *et al.*, 2018a). Esta señal estaría asociada a la búsqueda y encuentro del refugio óptimo mediante el patrón

de deyecciones en los alrededores del ingreso al refugio que dejan los individuos que ya lo habitan, Además, se sugiere que estas señales podrían indicar una fuente de alimento adecuada para los triatominos (Lorenzo-Figueiras y Lazzari, 1996; Lorenzo-Figueiras *et al.*, 1994). Es importante resaltar que los refugios moderan la variación climática y la vulnerabilidad a los depredadores, y facilitan la transferencia de simbiosis a conespecíficos, también podría facilitar la adquisición de *T. cruzi* (Lazzari *et al.*, 2013; Beard *et al.*, 2002). La estrecha interacción de las ninfas con los adultos conespecíficos dentro de los refugios facilita el canibalismo, la hemolinfagia y la coprofagia (Schaub, 1989), este último comportamiento podría ser un factor preponderante en el contexto de infección horizontal con *T. cruzi* en estados inmaduros (Schofield, 1979; Schaub y Lösch, 1988).

Como se ha descrito anteriormente, existe mucho conocimiento sobre la comunicación y ecología química de los triatominos. A partir de los estudios pioneros realizados por May-Concha (2010), *T. dimidiata* empezó hacer objeto de estudios en ecología química y fisiología sensorial (May-Concha *et al.*, 2013, 2015, 2018b; Galvez-Marroquin *et al.*, 2017). Sin embargo, hasta el momento, ningún estudio, en esta especie en particular, ha analizado el efecto de la infección de *T. cruzi* sobre el comportamiento de agregación, ya sea como efecto patológico o bajo el concepto de manipulación adaptativa. Por tal razón, el presente trabajo de investigación es pionero en esta rama.

5 DESARROLLO DEL PROYECTO

5.1 Determinación del universo y obtención de la muestra

5.1.1 Área de estudio y selección de la localidad

El estudio se realizó en las instalaciones de la Unidad de Experimentación Animal (U.E.A.) y en el laboratorio de Parasitología del Centro de Investigaciones Regionales Dr. Hideyo Noguchi (CIR), dependencia de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY); con la dirección calle 43 No. 613 x 90, Col. Inalámbrica C. P. 97069, Mérida, Yucatán.

5.1.2 Obtención de la muestra

Se utilizaron ejemplares ninfales del II estadio de *Triatoma dimidiata* haplogrupo 1 (Pech-May *et al.*, 2019) obtenidos a partir de colonias del laboratorio de Parasitología. Todos los insectos fueron mantenidos bajo condiciones controladas de temperatura ($27^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$), humedad relativa ($70 \pm 10\%$) y un fotoperiodo de 12:12 h dentro del insectario de la U.E.A, CIR-UADY y alimentados cada siete días con sangre de palomas (*Columba livia*) (Foto 1 y 2 Anexos).

5.2 Determinación del tipo de estudio (tipo de investigación)

Este proyecto de investigación fue del tipo investigación cuantitativa ya que se realizó por medio de un método estructurado y lineal, siguiendo una serie de etapas. Éste se caracteriza por usar herramientas de análisis matemáticos y estadísticos para poder explicar, describir y predecir el problema de investigación.

5.3 Infección de *T. dimidiata* con *T. cruzi*

Para la infección de triatominos (n=200), se usó la «cepa H1», una cepa TcI de *T. cruzi* mantenida en el laboratorio por transmisiones cíclicas de manera estandarizada por inoculación intraperitoneal (IP) en ratones adultos (hembras) cepa BALB/c. (Foto 3 Anexos).

Se utilizaron 4 ratones con una carga parasitaria entre 750,000 y 1,375,000 p x mL aproximadamente. Durante la alimentación, se colocó a cada uno de los ratones anestesiados con Xilazyna-Ketamina (10 mg-100 mg x kg) por vía intramuscular (IM) dentro de una jaula de 30 cm por 20 cm, posteriormente se liberaron a 50 ninfas del II estadio de *Triatoma dimidiata* haplogrupo 1. El tiempo de alimentación de las ninfas *ad libitum* con el ratón infectado fue de aproximadamente 30 minutos. La caja fue tapada con tela tipo malla fijada con una liga de hule para evitar que las ninfas se salieran de la caja (Foto 4 Anexos).

Después de la infección con *T. cruzi* los insectos fueron alimentados cada siete días con sangre de palomas (*Columba livia*) para su muda hasta alcanzar el cuarto estadio ninfal y con estos ejemplares se realizaron los ensayos comportamentales de agregación (Foto 5 Anexos).

5.3.1 Estatus de la infección de *T. dimidiata* por *T. cruzi*

Para determinar si las ninfas se infectaron con *T. cruzi*, después de 20 días *post* alimentación, se evaluó la infección de los insectos mediante análisis microscópico de las heces (May-Concha *et al.*, 2022). Para ello, por compresión abdominal se colectó una alícuota de las heces aproximadamente entre 5 a 10 µl. Después, fueron colocadas en un portaobjetos y se observó en un microscopio óptico con un aumento de 400x. Aquellos triatominos que resultaron positivos a la infección formaron parte del grupo infectado, mientras los insectos del grupo control fueron

aquellos triatominos que no estaban infectados con el parásito. De esta manera se conformaron dos grupos experimentales: Insectos Infectados (II) e Insectos No Infectados (INI). El número total de insectos analizados fue de 180 individuos, 90 Insectos Infectados y 90 Insectos No Infectados.

5.4 Obtención de las heces

Se obtuvieron las heces de 15 ninfas de quinto estadio infectadas y no infectadas (emisores de señales), comprimiendo suavemente la última sección del abdomen con pinzas durante más de 5 segundos para cada insecto, haciendo fluir gotas del contenido rectal. Se formaron dos tratamientos experimentales: heces infectadas (HI) y heces no infectadas (HNI) con *T. cruzi*. Las heces se recogieron y se mantuvieron en tubos Eppendorf cerrados de 1,5 ml y se utilizaron 24h después de su recogida mientras aún estaban en estado líquido. Antes de cada ensayo, las heces se mezclaron durante 3s.

Durante la recogida de las gotas fecales, no se permitió el contacto de las heces con ninguna parte del cuerpo del insecto, esto se debe a que investigaciones previas han demostrado un aumento en el comportamiento de agregación cuando las heces se encuentran con cualquier parte del cuerpo, como las patas (May-Concha *et al.*, 2018a).

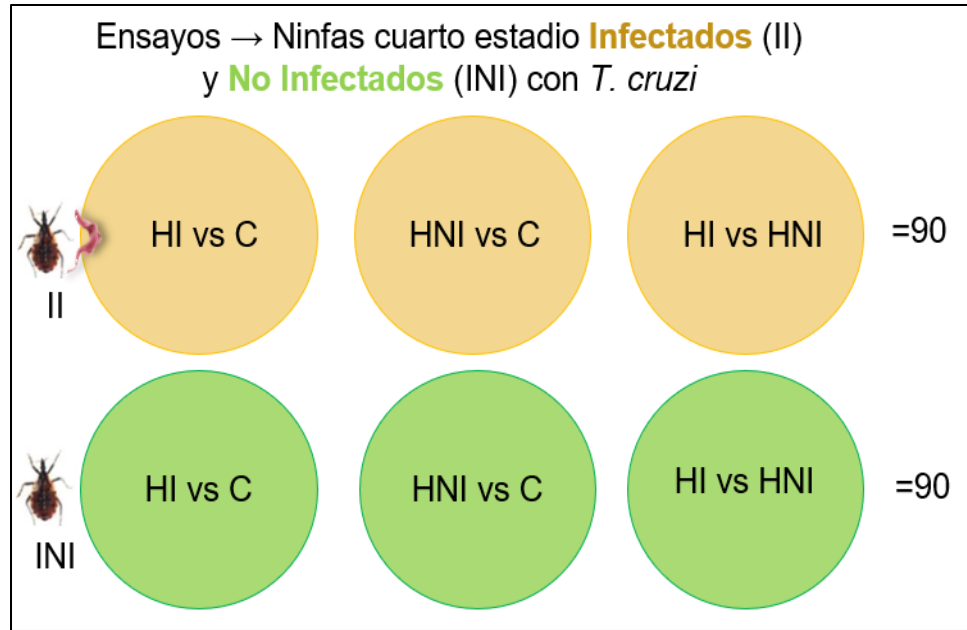
5.5 Ensayos comportamentales de agregación

Los ensayos se realizaron con ninfas de cuarto estadio infectados (II) y no infectados (INI) con *T. cruzi*. La respuesta comportamental se evaluó en una arena experimental circular de vidrio (15 cm de diámetro) de acuerdo con la metodología descrita por May-Concha *et al.*, 2018a. La arena experimental tuvo como sustrato un papel filtro marca Whatman dividido en dos áreas iguales sobre el cual se le colocó un cuadro de papel filtro de 1 cm x 1 cm impregnado con el

estímulo a evaluar (2µl de tratamiento) o (control). La posición de los estímulos fue invertida después de cada evaluación para evitar sesgo direccional. La arena experimental se ubicó dentro de un cuarto en total oscuridad y se colocó en la parte superior una luz roja para tener una mejor observación durante el ensayo.

En este estudio se realizaron las siguientes series experimentales: se realizaron tratamientos de una vía (control vs estímulo) y de doble vía (estímulo vs estímulo). El grupo de insectos receptores fueron: ninfas infectadas y no infectadas con *T. cruzi* que se evaluaron en los siguientes tratamientos: a) Heces Infectadas vs Control, b) Heces No Infectadas vs Control y c) Heces Infectadas vs Heces No Infectadas (Figura 6). En total, se realizaron 30 repeticiones por cada grupo de insecto receptor y tipo de tratamiento (emisor), para un total de 180 ensayos comportamentales.

Antes de iniciar cada ensayo, se colocó al insecto en el centro de la arena y se cubrió con un tubo de plástico para su aclimatación durante cinco minutos. Después de este tiempo el insecto fue liberado y se inició con el análisis de su comportamiento. La observación del comportamiento fue de diez minutos. Durante el tiempo transcurrido de cada ensayo, se registraron 3 datos: la primera elección (hacia que área de la arena se dirigió al momento de liberarlo), el tiempo de permanencia en cada área (tratamiento o control) y la última elección (área de la arena donde quedó el insecto al terminar el tiempo del ensayo).



II= Insecto Infectado. **INI**= Insecto No Infectado. **HI**= Heces Infectadas. **HNI**= Heces No Infectadas. **C**= Control.

Figura 6. Esquematización de la estrategia experimental (Elaboración personal).

5.6 Análisis de datos

Para evaluar la adecuación de los datos a los supuestos de la estadística paramétrica, se realizaron pruebas de normalidad, homogeneidad de varianzas e independencia. Aquellos datos que no cumplieron con los supuestos fueron analizados con pruebas no paramétricas.

Los datos obtenidos respecto a la primera elección se analizaron por medio de prueba binomial para determinar si había diferencias significativas entre atracción del tratamiento o el control.

Los datos obtenidos respecto al tiempo de permanencia en cada uno de los tratamientos se analizaron por análisis paramétricos: prueba t de Student y prueba de los rangos con signo de Wilcoxon, la cual es una prueba no paramétrica para comparar el rango medio de las dos muestras relacionadas y determinar si existen diferencias entre el control y el tratamiento.

Todos los datos fueron analizados con el programa R (v.4.1.2) y los resultados fueron considerados estadísticamente diferentes cuando presentaron un valor de $p < 0.05$. Las gráficas fueron realizadas con los programas esquisse y Prism.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Infección de triatominos

En total se infectaron 200 insectos del II estadio ninfal. Sin embargo, solo 123 ninfas (61%) lograron sobrevivir y mudar al IV estadio. Además, el periodo de muda tardó dos veces más de lo normal en su ciclo biológico de *T. dimidiata*. El objetivo de este trabajo no fue medir el tiempo de muda o mortalidad de los insectos cuando están infectados con *T. cruzi*. Sin embargo, se pudo observar este letargo en la muda y la tasa de mortalidad elevada en los insectos infectados con *T. cruzi*. Estos resultados también han sido observados por otros autores (Reis dos Santos y Lacombe, 1985; Botto-Mahan *et al.*, 2008; Schaub, 2021).

Es importante resaltar que, durante los estadios juveniles, las ninfas deben alimentarse a repleción cuando menos una vez, para poder mudar al siguiente instar (Zeledón *et al.* 1970; Zeledón 1981). No obstante, en un estudio realizado por Elliot *et al.* (2015) han sugerido adaptaciones evolutivas tempranas del vector a la infección con *T. cruzi* debido a la competencia de nutrientes, ya que los triatominos prolongan el tiempo de muda al estadio adulto, lo cual requiere de mayor cantidad de nutrientes. Por otro lado, Fellet *et al.* (2014) y Ferreira *et al.* (2010) determinaron que los insectos infectados tienen dificultades para alimentarse y tienen una mayor mortalidad, así mismo observaron que los insectos se dañan durante la ecdisis, lo que lleva a una morfología alterada.

Estos resultados demuestran que la tasa de supervivencia es baja en triatominos infectados tal como lo ha sugerido Schaub (1992). Con base a estos trabajos y las observaciones obtenidas de este estudio, es importante que futuras investigaciones analicen la tasa de mortalidad y el tiempo de muda de *T. dimidiata* cuando están infectados con *T. cruzi*, ya que estos parámetros podrían

proporcionar información clave sobre la influencia de la infección en la biología del vector, lo que a su vez permitiría entender mejor su papel en la transmisión de la enfermedad de Chagas.

6.2 Comportamiento de agregación a heces infectadas y no infectadas con *T. cruzi*

6.2.1 Análisis de primera elección en *T. dimidiata*

Para los ensayos de primera elección evaluando a los insectos no infectados (INI), se observó que el 56% (17/30) de los INI fueron a las heces no infectadas (HNI), mientras que el 44% eligió el control ($p = 0.5847$). Por otro lado, cuando se evaluaron las heces infectadas (HI) vs control, el 60% (18/30) de los INI fueron a las HI, mientras que el 40% eligió el control ($p = 0.3616$). Por último, cuando se evaluó el emisor de doble vía con heces infectadas (HI) vs heces no infectadas (HNI), se obtuvo que el 60% (18/30) de los INI fueron a las HI, mientras que el 40% eligieron las HNI ($p = 0.3616$) (Tabla 1).

Aunque en los análisis estadísticos por medio de la prueba binomial comparando la primera elección de los INI hacia cada tratamiento no mostro diferencias significativas (Figura 6), se puede observar una tendencia de atracción hacia las heces (tanto infectadas como no infectadas) en comparación con el control.

Tabla 1.

Porcentaje del número de Insectos No Infectados (n=90) atraídos a los tratamientos respecto a la primera elección.

Tratamientos	% de insectos en HNI	% de insectos en HI	% de insectos en C
HNI vs C	56%	----	44%
HI vs C	----	60%	40%
HNI vs HI	40%	60%	----

HNI= Heces No Infectadas. HI= Heces Infectadas. C= Control.

Evaluando a los Insectos Infectados (II) y su primera elección, se observó que el 63% (19/30) de los II fueron a las HNI, mientras que el 37% eligió el control ($p= 0.2005$). De igual manera cuando se evaluaron las HI contra un control, el 66% (20/30) de los II fueron a las HI, mientras que el 34% eligió el control ($p= 0.09874$). Finalmente, se evaluó el ensayo de doble vía con HI vs HNI, y se obtuvo que el 63% (19/30) de los II fueron a las HI, mientras que el 37% eligió las HNI ($p= 0.2005$) (Tabla 2).

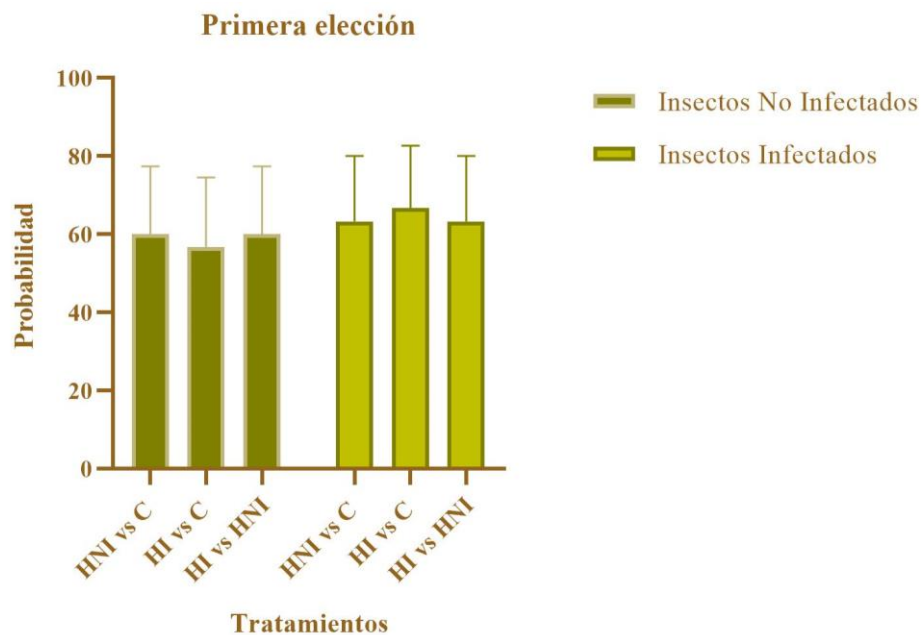
En este estudio se observó que los II cuando fueron liberados se sintieron atraídos inmediatamente por las heces (independientemente de si estaban infectadas o no) en comparación con el control, sin embargo, estadísticamente la prueba binomial no mostro una diferencia significativa (Figura 7).

Tabla 2.

Porcentaje del número de Insectos Infectados (n=90) atraídos a los tratamientos respecto a la primera elección.

Tratamientos	% de insectos en HNI	% de insectos en HI	% de insectos en C
HNI vs C	63%	----	37%
HI vs C	----	66%	34%
HNI vs HI	33%	67%	----

HNI= Heces No Infectadas. HI= Heces Infectadas. C= Control.



*Figura 7. Comparación en la primera elección de insectos infectados y no infectados con *T. cruzi* hacia diferentes tratamientos: heces infectadas (HI), heces no infectadas (HNI) y control (C). Los análisis realizados mediante prueba binomial no mostraron diferencias significativas en la elección inicial de los insectos ($p>0.05$).*

6.2.2 Análisis del tiempo de permanencia en *T. dimidiata*

Se evaluó el comportamiento de agregación en insectos infectados y no infectados a heces infectadas y no infectadas con *T. cruzi*.

6.2.2.1 Insectos de *T. dimidiata* infectados y no infectados a heces infectadas vs control

En esta primera serie se evaluaron insectos infectados (30 repeticiones) y no infectados (30 repeticiones) hacia heces infectadas vs un control.

Se analizó la normalidad de los datos (Kolmogorov-Smirnov, $p = 0.3287$); la homogeneidad de varianzas (Bartlett test, $p = 1$) y la independencia de los datos (Durbin-Watson test, $p = 0.9942$); por consiguiente, se procedió a analizar los datos con la prueba *t de Student* mostrando una diferencia estadísticamente significativa en el tiempo de permanencia de los II en las HI en comparación con el control ($p = 6.575e-05$). Esto sugiere que los insectos infectados pasan más tiempo en las heces infectadas que en el área control, posiblemente indicando una atracción específica hacia algún estímulo.

Por el contrario, los INI no mostraron una diferencia significativa en el tiempo de permanencia entre las HI y el control ($p = 0.3666$), lo que sugiere que, en ausencia de infección, no hay una preferencia clara hacia las HI (Figura 8).

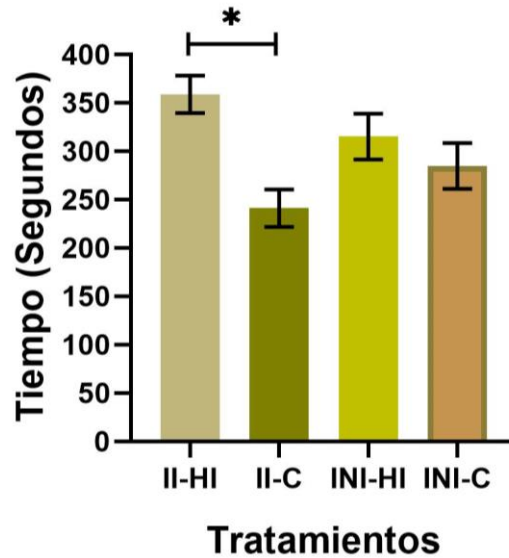


Figura 8. Tiempo de permanencia de *T. dimidiata* infectados y no infectados en heces infectadas (HI) vs control (C). Los insectos infectados (II) pasaron significativamente más tiempo en las heces infectadas que en el control (prueba t de Student, $p = 6.575e-05$), lo cual sugiere una atracción específica hacia las heces infectadas. En contraste, los insectos no infectados (INI) no mostraron diferencias significativas en su tiempo de permanencia entre las heces infectadas y el control ($p = 0.3666$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

6.2.2.2 Insectos de *T. dimidiata* infectados y no infectados a heces no infectadas vs control

Para esta serie de experimentos de igual manera se realizaron 30 repeticiones para cada tratamiento (60 repeticiones en total). Se analizó la normalidad de los datos (Kolmogorov-Smirnov, $p = 0.998$); la homogeneidad de varianzas (Bartlett test, $p = 0.8555$) y la independencia de los datos (Durbin-Watson test, $p = 0.0101$).

Los resultados estadísticos mostraron que no hubo diferencias significativas en el tiempo de permanencia para ninguno de los grupos de insectos (infectados y no infectados) (Figura 9): en el caso de los insectos infectados, el análisis de la prueba no paramétrica (Wilcoxon) reportó valor

de $p= 0.8129$, indicando que estos insectos no muestran una preferencia en el tiempo de permanencia entre las HNI y el control. De igual manera, los INI presentaron resultados similares, sin diferencias significativas entre las HNI y el control (t de Student, $p= 0.9128$), lo cual sugiere que este tipo de heces no genera una atracción específica en ambos grupos.

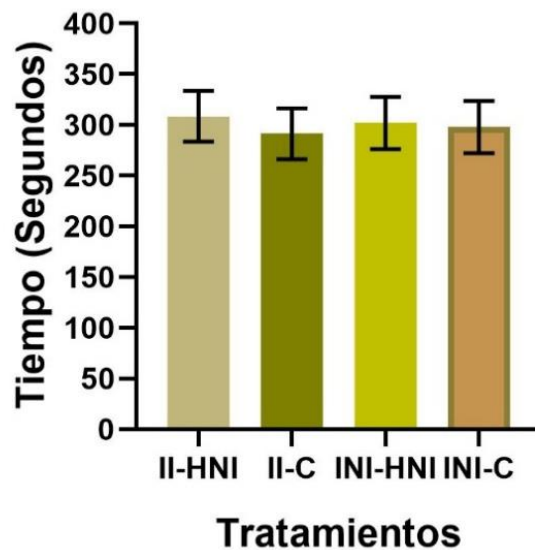


Figura 9. Tiempo de permanencia de *T. dimidiata* infectados y no infectados en heces no infectadas (HNI) vs control (C). No se encontraron diferencias significativas en el tiempo de permanencia para ninguno de los grupos (prueba de Wilcoxon para insectos infectados (II) $p= 0.8129$; prueba t de Student para insectos no infectados (INI) $p= 0.9128$).

6.2.2.3 Insectos de *T. dimidiata* infectados y no infectados a heces infectadas vs heces no infectadas

En este experimento se comparó el tiempo de permanencia de los insectos en heces infectadas (HI) frente a heces no infectadas (HNI). Se evaluaron 30 repeticiones para insectos infectados (II) y 30 repeticiones no infectados (INI).

Se analizó la normalidad de los datos (Kolmogorov-Smirnov, $p = 0.6489$); la homogeneidad de varianzas (Bartlett test, $p = 1$) y la independencia de los datos (Durbin-Watson test, $p = 0.04739$). Para los II, los análisis estadísticos revelaron diferencias significativas en el tiempo de permanencia, con un valor de $p = 1.016e-05$ en la prueba de Wilcoxon, indicando que estos insectos prefieren las HI en comparación con las HNI. Esto puede interpretarse como una adaptación o atracción hacia ambientes que podrían favorecer la transmisión del parásito. De igual manera, los INI mostraron una diferencia significativa en el tiempo de permanencia (t de Student, $p = 0.02913$) lo que sugiere una ligera preferencia hacia las HI (Figura 10). Esto podría implicar que las HI presentan estímulos químicos adicionales que atraen de alguna forma a ambos grupos de insectos, siendo más marcada en los insectos infectados.

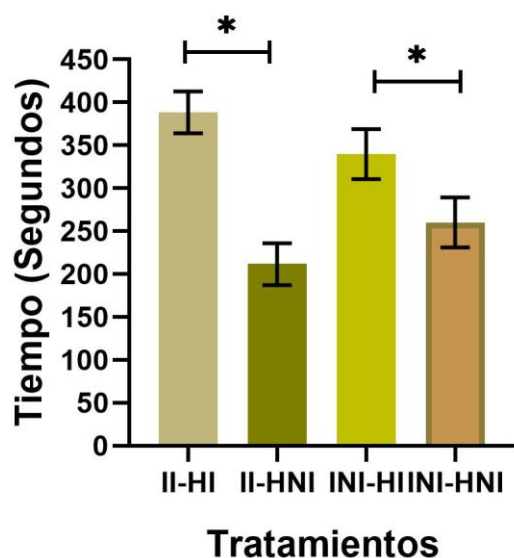


Figura 10. Comparación del tiempo de permanencia de insectos infectados y no infectados de *T. dimidiata* a heces infectadas (HI) vs heces no infectadas (HNI). Los insectos infectados (II) mostraron una preferencia significativa por las heces infectadas en comparación con las no infectadas (prueba de Wilcoxon, $p = 1.016e-05$), lo que puede indicar una adaptación o atracción hacia ambientes que podrían facilitar la transmisión del parásito. Los insectos no infectados (INI) también mostraron una preferencia leve por las heces infectadas (prueba t de Student, $p = 0.02913$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

El presente estudio es el primero que analiza el cambio de comportamiento de agregación de *T. dimidiata* debido a la infección por *T. cruzi*. Para este estudio se evaluaron ninfas del cuarto estadio esto respaldado por trabajos realizados sobre biología sensorial en triatominos, en los cuales se determinaron que las ninfas a partir del tercer estadio, tienen activado la parte sensorial olfativa de receptores y responden a estímulos de alarma, defensa, etc.

Estudios previos han reportado que las heces inducen un comportamiento de agregación en varias especies de triatominos como *T. infestans*, *Rhodnius prolixus*, *Triatoma mazzottii*, *Triatoma longipennis*, *Triatoma pallidipennis*, *Triatoma barberi* y *T. dimidiata* (Cruz-López y Morgan, 1995; Lorenzo-Figueiras *et al.*, 1994; Mota *et al.*, 2014; Gálvez-Marroquin *et al.*, 2017). Sin embargo, en este estudio, se observó que las heces no infectadas emitidas por *T. dimidiata* (emisor de la señal) no atraen a los insectos infectados y no infectados (receptor de la señal).

Las diferencias en los resultados podrían deberse en primer lugar, a que la mayoría de los investigadores no realizan ensayos de agregación conductual con insectos individuales; esto es relevante dado que en un estudio reciente sobre el comportamiento de agregación en *T. pallidipennis* demostraron que los triatominos toman decisiones basadas en el grupo y no en el individuo. Esto sugiere que la presencia de congéneres puede guiar a los individuos hacia los refugiados, reduciendo así la exposición a los depredadores al mejorar la eficiencia de búsqueda de los refugiados (Alavez-Rosas *et al.*, 2024).

En segundo lugar, cuando han evaluado las heces, estas han estado en contacto con las patas (papel filtro) y diversos hidrocarburos cuticulares. En este sentido, un estudio realizado por May-Concha *et al.* (2018b) sobre *T. infestans* demuestra que las heces tienen un efecto significativo en el comportamiento de agregación de los insectos cuando entran en contacto con la cutícula.

Los bioensayos de comportamiento demostraron que los insectos infectados con *T. cruzi* prefirieron el lado que contenía heces infectadas, pasando mayor tiempo que en el lado control. Además, en los resultados obtenidos para las series bidireccionales (es decir, heces no infectadas frente a heces infectadas), se observó que los insectos infectados y no infectados prefieren las heces infectadas, pasando más tiempo sobre ellas que sobre las heces no infectadas. Estos

hallazgos son consistentes con investigaciones previas que demuestran el impacto de la infección por *T. cruzi* en el comportamiento de los insectos (Botto-Mahan *et al.*, 2006; Schaub, 2006; Depickère *et al.*, 2019; Pereyra *et al.*, 2019; Chacón *et al.*, 2022). De igual manera hay que considerar que los estudios difirieron en factores como la especie de triatomino, etapa en la que se infectó el insecto y en la que se observaron los efectos, duración de la infección, cepa de *T. cruzi*, y diseño experimental.

La presencia prolongada de insectos en el lado que contiene heces infectadas sugiere un posible mecanismo de transmisión del parásito, ya que puede aumentar la probabilidad de contacto entre insectos infectados, a través de la transmisión oral por depredación de triatomino (Jansen *et al.*, 2015).

Otro factor a tomar en cuenta son los simbiositos intestinales, microorganismos esenciales en los triatomino que proporcionan compuestos metabólicos clave que no están presentes en la sangre (Eichler & Schaub, 2002), y su presencia en la materia fecal podría proporcionar una fuente potencial directa de compuestos de agregación fecal. Se ha demostrado que las comunidades microbianas fecales desempeñan un papel en la comunicación animal (Ezenwa *et al.*, 2012). Por ejemplo, en la cucaracha alemana *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae) (Linnaeus, 1767), las comunidades bacterianas intestinales median en la producción de la feromona de agregación (Wada-Katsumata *et al.*, 2015).

Otros estudios han demostrado que los triatomino infectados presentan un aumento de expresión del producto antimicrobial del intestino medio en *T. infestans* y también se ha observado un incremento de los compuestos volátiles de heces y orina de los hospederos, adquiriendo una mayor intensidad, volviéndose más perceptibles por el vector (Paláu, 2000). Este aumento favorece

el establecimiento del parásito en el intestino anterior del vector y en la atracción en el comportamiento de agregación (Botto-Mahan *et al.*, 2006; Botto-Mahan *et al.*, 2008; Dumonteil *et al.*, 2018; May-Concha *et al.*, 2020).

Los cambios conductuales en la agregación podrían promover la competencia vectorial, que engloba la capacidad de adquirir, mantener y transmitir un patógeno, y podrían afectar a la dinámica de transmisión del parásito (Chacón *et al.*, 2022). Por consiguiente, resulta fundamental investigar con mayor profundidad los efectos de los múltiples escenarios complejos y dinámicos del ciclo de transmisión de *T. cruzi* durante el comportamiento de agregación.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las heces infectadas atraen en mayor porcentaje a *Triatoma dimidiata* infectados y no infectados con *Trypanosoma cruzi* que las heces no infectadas, sugiriendo que este efecto podría ser una estrategia del parásito para asegurar su transmisión, teniendo un impacto importante en la epidemiología de la enfermedad.

La infección con *T. cruzi* modifica el comportamiento de agregación en *T. dimidiata*, en este sentido aumentaría la probabilidad de contacto entre vector-parásito.

El comportamiento de agregación a heces de los triatominos puede tener un papel crucial en la prevención y control de enfermedades transmitidas por vectores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alavez-Rosas, D., Ballinas-López, M. G., Cruz-López, L., & Córdoba-Aguilar, A. 2024. A baited trap for kissing bugs (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Acta Tropica*, 259: 1-7.

Alavez-Rosas, D., Córdoba-Aguilar, A., y Cruz, L. 2023. Semioquímicos, ¿compuestos clave para monitorear y controlar a las chinches chagásicas?. *Elementos* 130. 57-62.

Ballesteros, R. G., Martínez, C. T., Jiménez, R. B., & Campos, A. A. 2018. Chagas disease: an overview of diagnosis. *J Microbiol Exp.* 6(3):151-157. DOI: [10.15406/jmen.2018.06.00207](https://doi.org/10.15406/jmen.2018.06.00207)

Barrozo, R. B., Reisenman, C. E., Guerenstein, P., Lazzari, C. R., & Lorenzo, M. G. 2017. An inside look at the sensory biology of triatomines. *Journal of Insect Physiology*, 97, 3–19. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.11.003>

Beach, R., Kilu, G., & Leewenburg, J. 1985. Modification of sand fly biting behavior by *Leishmania* leads to increased transmission. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 34, 278–82.

Beard, C. B., Cordon-Rosales, C., & Durvasula, R. V. 2002. Bacterial Symbionts of the Triatominae and Their Potential Use in Control of Chagas Disease Transmission. *Annual Review Of Entomology*, 47(1), 123-141. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145144>

Botto-Mahan, C., Ossa, C.G., & Medel, R., 2008. Direct and indirect pathways of fitness-impact in a protozoan-infected kissing bug. *Physiol. Entomol.* 33, 25–30.

Borror, D., Triplehorn, C., & Johnson, N. 1989. An introduction to the study of Insects. 6 ed. Saunders College Publishers. USA. p. 875.

Botto-Mahan, C., Cattán, P.E., & Medel, R., 2006. Chagas disease parasite induces behavioural changes in the kissing bug *Mepraia spinolai*. *Acta Trop.* 98, 219–223.

Carabarin-Lima A., González-Vázquez M.C., Rodríguez-Morales, O., Baylón-Pacheco, L., Rosales-Encina, J.L., Reyes-López, P.A., & Arce-Fonseca, M. 2013. Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: an update. *Acta Trop.* 127(2):126-35.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.04.007>

Cardé, R. 2014. Defining Attraction and Aggregation Pheromones: Teleological Versus Functional Perspectives. *J. Chem. Ecol.* 40: 519–520.

Carrada, T. 2004. *Trypanosoma cruzi*: Historia natural y diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Rev Mex Patol Clin*, Vol. 51, Núm. 4, pp. 205-219.

Castillo, D., & Wolff, M. 2000. Aspectos del comportamiento de los triatominos (Hemiptera: Reduviidae), vectores de la enfermedad de Chagas. Instituto Nacional de Salud. 59-64.

Cazorla-Perfetti, D. 2016. Revisión de los vectores de la enfermedad de Chagas en Venezuela (Hemiptera-Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, vol. 28, núm. 3, pp. 387-470.

Chacón, F., Muñoz-San Martín, C., Bacigalupo, A., Álvarez-Duhart, B., Solís, R., & Cattán, P.E. 2022. *Trypanosoma cruzi* parasite load modulates the circadian activity pattern of *Triatoma infestans*. *Insects*. 13, 76.

Cruz-López, L. & Morgan, E.D., 1995. Chemical investigations of aggregation behaviour of *Triatoma* bugs (Hemiptera: Reduviidae). *J. Chem. Ecol.* 21, 2069–2078.

- Cruz-Reyes, A., & Pickering-López, J. M. 2006. Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years--a review. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 101(4), 345–354. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762006000400001>
- Depickère, S., Ramírez-Ávila, G. M., & Deneubourg, J. 2019. Alteration of the aggregation and spatial organization of the vector of Chagas disease, *Triatoma infestans*, by the parasite *Trypanosoma cruzi*. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53966-w>
- Dulbecco, A., Mijailovsky, S., Girotti, J. & Juárez, M. 2015. Deltamethrin binding to *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) lipoproteins. Analysis by solvent bar microextraction coupled to gas chromatography. *J. Med. Entomol.* 52: 1254–1259.
- Dumonteil, E., Ramirez-Sierra, M. J., Pérez-Carrillo, S., Teh-Poot, C., Herrera, C., Gourbière, S., & Waleckx, E. 2018. Detailed ecological associations of triatomines revealed by metabarcoding and next-generation sequencing: implications for triatomine behavior and *Trypanosoma cruzi* transmission cycles. *Sci Rep* 8, 4140. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22455-x>
- Dumonteil, E., Ramirez-Sierra, M. J., Ferral, J., Euan-Garcia, M., & Chavez-Nuñez, L. 2009. Usefulness of community participation for the fine temporal monitoring of house infestation by non-domiciliated triatomines. *The Journal of Parasitology*, 95(2), 469–471. <https://doi.org/10.1645/ge-1712.1>
- Eichler, S., & Schaub, G.A., 2002. Development of symbionts in triatomine bugs and the effects of infections with trypanosomatids. *Exp. Parasitol.* 100, 17–27.

Elliot, S.L. Rodrigues, J. de O., Lorenzo, M.G., Martins-Filho, O.A., & Guarneri, A.A., 2015. *Trypanosoma cruzi*, etiological agent of Chagas disease, is virulent to its triatomine vector *Rhodnius prolixus* in a temperature-dependent manner. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9, e0003646.

Escalante-Talavera, M. 2021. Morfología sensorial de diferentes poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) infectados y no infectados con *Trypanosoma cruzi*. Tesis de Licenciatura. Tecnológico Nacional de México Instituto Tecnológico de Conkal. Pp. 66.

Ezenwa, V. O.; Gerardo, N.; Inouye, D. W.; Medina, M. & Xavier, J. B. 2012. Animal Behavior and the Microbiome. *Science* 338,198-199. DOI:10.1126/science.1227412.

Fellet, M.R., Lorenzo, M.G., Elliot, S.L., Carrasco, D., & Guarneri, A.A., 2014. Effects of infection by *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* on the reproductive performance of the vector *Rhodnius prolixus*. *PLoS One* 9, e105255.

Ferreira, D. S., Esperandim, V. R., Toldo, P. A., Saraiva, J., Cunha, W. R., & Albuquerque, S. 2010. Trypanocidal activity and acute toxicity assessment of triterpene acids. *Parasitology Research* 106 (4): 985-9.

Field-Cortázares, J., Tinoco-Gracia, L., López-Valencia, G., Tamayo-Sosa, A., Barreras-Serrano, A., Sawako Hori, Medina-Basulto, G., González-Medina, Y., y Coria-Lorenzo, J. 2019. Estudio de seroprevalencia de la enfermedad de tripanosomiasis. *Rev Latin Infect Pediatr.* 32 (3): 103-108.

Galvão, C., Carcavallo, R., Da Silva Rocha, D., & Jurberg, J. 2003. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel 1919 (Hemiptera Reduviidae) and their geographical distribution with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa.* 202: 1- 36.

- Galvez-Marroquin, Z., Cruz-López, L., Malo, E.A., Ramsey, J.M., & Rojas, J.C., 2017. Behavioural and electrophysiological responses of *Triatoma dimidiata* nymphs to conspecific faecal volatiles. *Med. Vet. Entomol.* 32, 102–110.
- Goldenberg, S., & Avila, A.R. 2011. Aspects of *Trypanosoma cruzi* stage differentiation. *Adv Parasitol.* 75:285-305. doi: 10.1016/B978-0-12-385863-4.00013-7. PMID: 21820561.
- Gómez-Palacio, A., Arboleda, S., Dumonteil, E., & Townsend, P.A. 2015. Ecological niche and geographic distribution of the Chagas disease vector, *Triatoma dimidiata* (Reduviidae: Triatominae): Evidence for niche differentiation among cryptic species. *Infection, Genetics and Evolution.* Dec; 36:15-22. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.08.035>
- Gourbière, S., Dumonteil, E., Rabinovich, J. E., Minkoue, R., & Menu, F. 2008. Demographic and dispersal constraints for domestic infestation by non-domicilated chagas disease vectors in the Yucatan Peninsula, Mexico. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 78(1), 133–139.
- Guzmán-Gómez, D., Salas-González, G., López-Monteon, A., Welsh-Rodríguez, C. M., Torres-Montero, J., Dumonteil, E., Waleckx, E., & Ramos-Ligonio, A. 2021. Risk factors for infestation by *Triatoma dimidiata* in a rural locality of Veracruz, Mexico, with active transmission of *Trypanosoma cruzi*: weather and rain as factors. *Tropical Medicine and International Health*, 26(8), 916-926. <https://doi.org/10.1111/tmi.13589>
- Heil, M. 2016. Host manipulation by parasites: cases, patterns, and remaining doubts. *Front. Ecol. Evol.* 4, 80.

Herbison, R., Lagrue, C., & Poulin, R., 2018. The missing link in parasite manipulation of host behaviour. *Parasit. Vectors* 11, 222.

Ibarra-Cerdeña, C. N., Sánchez-Cordero, V., Townsend Peterson, A., & Ramsey, J. M. 2009. Ecology of north American triatominae. *Acta Tropica*, 110(2–3), 178–186.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.11.012>

Jansen, A. M., Xavier, S. C., & Roque, A. L. 2015. The multiple and complex and changeable scenarios of the *Trypanosoma cruzi* transmission cycle in the sylvatic environment. *Acta tropica*, 151, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.07.018>

Kjos, S. A., Snowden, K. F., & Olson, J. K. 2009. Biogeography and *Trypanosoma cruzi* infection prevalence of Chagas disease vectors in Texas, USA. *Vector borne and zoonotic diseases* (Larchmont, N.Y.), 9(1), 41–50. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0026>

Klowden, M. J., & Palli, S. R. 2022. Physiological systems in insects (4a ed.). *Academic Press*.

Lazzari, C. R., Pereira, M. H., & Lorenzo, M. G. 2013. Behavioural biology of Chagas disease vectors. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 108, 34–47. <https://doi.org/10.1590/0074-0276130409>

Lent, H. & Wygodzinsky, P. 1979. Groups, Subgroups, and Complexes in the Genus *Triatoma*. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bulletin of the AMNH*; v. 163, article 3.
<https://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/89400>

- Lima-Cámara, T.N., Bruno, R.V., Luz, P.M., Castro, M.G., Lourenço-de-Oliveira, R., Sorgine, M.H., & Peixoto, A.A., 2011. Dengue infection increases the locomotory activity of *Aedes aegypti* females. *PloS ONE* 6: e17690.
- Liu, Q., Chen, J. & Zhou, XN. 2020. Preparedness for Chagas disease spreading worldwide. *Infect Dis Poverty* 9, 44 <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00658-7>
- Lobbia, P. A., Rodríguez, C., & Mougabure-Cueto, G. 2019. Effect of reproductive state on active dispersal in *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) susceptible and resistant to deltamethrin. *Acta tropica*, 196, 7-14.
- Lorenzo-Figueiras, A., & Lazzari, C.R., 2002. Aggregation behaviour and interspecific responses in *Rhodnius prolixus* Stål. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97, 569–571.
- Lorenzo-Figueiras, A.N., & Lazzari, C.R., 1996. The spatial pattern of defecation in *Triatoma infestans* and the role of faeces as a chemical mark of the refuge. *J. Insect. Physiol.* 42, 903– 907.
- Lorenzo-Figueiras, N., Kenigsten, A., & Lazzari, C.R., 1994. Aggregation in haematophagous bug *Triatoma infestans*: chemical signals and temporal pattern. *J. Insect Physiol.* 40, 312– 316.
- Magallón-Gastélum, E., Lozano, F., FloresPérez A., Bosseno, M.F., & Brenière, S.F. 2001. Sylvatic triatominae of the Phyllosoma Complex (Hemiptera: Reduviidae) around the community of Carrillo Puerto Nayarit Mexico. *J. Med. Entomol.* 38: 638-40.
- Marlière, N. P., Lorenzo, M. G., & Guarneri, A. A. 2021. *Trypanosoma cruzi*-infected *rhodnius prolixus* endure increased predation facilitating parasite transmission to mammal hosts. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 15(7), 1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009570>

Marlière, N.P., Latorre-Estivalis, J.M., Lorenzo, M.G., Carrasco, D., Alves-Silva, J., Rodrigues, J.O., de Lima Ferrerira, L., de Melo Lara, L., Lowenberger, C. & Guarneri, A. 2015. Trypanosomes modify the behavior of their insect hosts: effects on locomotion and on the expression of a related Gene. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003973>

May-Concha, I.J., Escalante-Talavera, M.J., Dujardin, J.P., & Waleckx, E. 2022. Does *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) modify the antennal phenotype of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) (Hemiptera: Triatominae)? *Parasit. Vectors*. 14, 466.

May-Concha, I., Remón, C., & Mougabure-Cueto, G. 2020. Behavioral response mediated by feces in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae: triatominae) susceptible and resistant to deltamethrin. *Acta Trop.* 206, 105442.

May-Concha, I.J., Loobia, P.A., & Mougabure-Cueto, G., 2018a. Interaction between two aggregation chemical signals in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J. Insect Physiol.* 109, 79–84.

May-Concha, I.J., Guerenstein, P., Malo, E.A., Catalá, S., & Rojas, J.C., 2018b. Electroantennogram responses of the *Triatoma dimidiata* complex to volatiles produced by its exocrine glands. *Acta Trop.* 185, 336–343.

May-Concha, I.J., Rojas, J.C., Cruz-López, L., Ibarra-Cerdeña, C. & Ramsey, J. 2015. Volatile compound diversity and conserved alarm behaviour in *Triatoma dimidiata*. *Parasit. Vectors* 8: 84.

May-Concha, I.J., Rojas, J.C., Cruz-López, L., Millas, J.G. & Ramsey, J.M. 2013. Volatiles compounds emitted by *Triatoma dimidiata*, a vector of Chagas disease: Chemical identification and behavioral analysis. *Med. Vet. Entomol.* 27, 165–174.

May-Concha, I.J. 2010. Compuestos volátiles emitidos por adultos en disturbio y cópula de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae), vector de la enfermedad de Chagas. MSc Thesis. Instituto Nacional de Salud Pública, Tapachula, Chiapas, México.

McKinney, R., Vernier, C., & Ben-Shahar, Y. 2015. The neural basis for insect pheromonal communication. *Curr. Opin. insect Sci.* 12: 86–92.

Menes, M. 2004. Diferencias métricas entre poblaciones de *Triatoma dimidiata* Latreille (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) de México, Centro América y Colombia: Efecto de la procedencia geográfica y el ecotopo. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de ciencias químicas y farmacia. pp. 6-9.

Moo-Millan, J.I., Arnal, A., Pérez-Carrillo, S. Hernandez-Andrade, A., Ramírez-Sierra, M., Rosado-Vallado, M., Dumonteil, E. & Waleckx, E. 2019. Disentangling *Trypanosoma cruzi* transmission cycle dynamics through the identification of blood meal sources of natural populations of *Triatoma dimidiata* in Yucatán, Mexico. *Parasites Vectors* 12, 572. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3819-7>

Mota, T., Vitta, A.C.R., Lorenzo-Figueiras, A.N., Barezani, C.P. Zani, C.L., Lazzari, C.R., Diotaiuti, L., Jeffares, L., Bohman, B., & Lorenzo, M.G. 2014. A multi-species bait for Chagas disease vectors. *Plos NTD.* 8, e2677.

Murillo-Solano, C., Ramos-Ligonio, A., Lopez-Monteon, A., Guzman-Gomez, D., Torres-Montero, J., Herrera, C., & Dumonteil, E. 2021. Diversity of *Trypanosoma cruzi* parasites infecting *Triatoma dimidiata* in Central Veracruz, Mexico, and their One Health ecological interactions. *Infect Genet Evol*, 95, 105050. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105050>

Murillo-Godínez, G. 2018. Enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). *Medicina interna de México*, 34(6), 959-970. <https://doi.org/10.24245/mim.v34i6.2217>

Obed, Y. & Rabinovich, J. 2010. La diversidad de la dieta de los triatominos (Reduviidae, Triatominae) en ambientes domiciliarios, peri-domiciliarios y silvestres. 10.13140/RG.2.1.5120.2160.

Organización Mundial de la Salud, OMS. 2023. Control de la enfermedad de Chagas, segundo informe del comité de expertos de la OMS. World Health Organization.

Paláu, M. T. 2000. Relación hospedero-parásito *Trypanosoma cruzi*. *Revista MVZ Córdoba*, 5(1), 33-37.

Pech-May, A., Mazariegos-Hidalgo, C. J., Izeta-Alberdi, A., López-Cancino, S. A., Tun-Ku, E., De la Cruz-Félix, K. 2019. Genetic variation and phylogeography of the *Triatoma dimidiata* complex evidence a potential center of origin and recent divergence of haplogroups having differential *Trypanosoma cruzi* and DTU infections. *PLoS Negl Trop Dis* 13(1)

Peña-Callejas, G., González, J., Jiménez-Cortés, J. G., De Fuentes-Vicente, J. A., Salazar-Schettino, P. M., Bucio-Torres, M. I., Cabrera-Bravo, M., & Flores-Villegas, A. L. 2022. Enfermedad de Chagas: biología y transmisión de *Trypanosoma cruzi*. *Tip revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 25. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.449>

Pereyra, N., Lobbia, P.A., & Mougabure-Cueto, G., 2019. Effects of the infection with *Trypanosoma cruzi* on the feeding and excretion/defecation patterns of *Triatoma infestans*. *Bull. Entomol. Res.* 24, 1–8.

Poulin, R. 2010. Parasite manipulation of host behavior: an update and frequently asked questions. *Adv. Stud. Behav.* 41, 151-186.

Ramírez-González, M.G., Flores-Villegas, A.L., Salazar-Schettino, P.M., Gutiérrez Cabrera, A.E., Rojas-Ortega, E., & Córdoba-Aguilar, A., 2019. Zombie bugs? Manipulation of kissing bug behavior by the parasite *Trypanosoma cruzi*. *Acta Trop.* 200, 105177.

Ramos-Ligonio, A., Torres-Montero, J., López-Monteon, A., & Dumonteil, E. 2012. Extensive diversity of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units circulating in *Triatoma dimidiata* from central Veracruz, Mexico. *Infection, Genetics and Evolution*, 12(7), 1341-1343.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.04.024>

Ramsey, J. M, Peterson, A. T, Carmona-Castro, O., Moo-llanes, D. A, Nakazawa, & Butrick, M. 2015. Atlas of Mexican Triatominae (Reduviidae:Hemiptera) and vector transmission of Chagas disease. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 110(3):339–52.

Ramsey, J., Gutiérrez-Cabrera, A., Salgado-Ramírez, L., Peterson, A., Sánchez-Cordero, V., & Ibarra-Cerdeña, C. 2012. Ecological Connectivity of *Trypanosoma cruzi* Reservoirs and *Triatoma pallidipennis* Hosts in an Anthropogenic Landscape with Endemic Chagas Disease. *PloS One*, 7(9), e46013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046013>

Ramsey, J., Ordonez, R., Tello, L., Pohls, J., Sánchez, V., y Peterson, A. 2003. Actualidades sobre la epidemiología de la enfermedad de Chagas en México; iniciativa para la vigilancia y el control

de la enfermedad de Chagas, en la República Mexicana. Instituto Nacional de Salud Pública de México, Salud Pública de México.

Reis dos Santos, J. & Lacombe, D. 1985. Estudos relativos à duração da ecdise e ovoposição de *Triatoma infestans* infectado pelo *Trypanosoma cruzi*. *An Acad Bras Cienc* 57: 127.

Reyes-Novelo, E., Ruiz-Piña, H.A., Escobedo-Ortegón, J. & Barrera-Pérez, M. 2011. Biology and ecology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), some aspects of study. *Dugesiana* 18, 11–16.

Ruíz-Piña, H. A. & Cruz-Reyes, A. 2002. The opossum *Didelphis virginiana* as a synanthropic reservoir of *Trypanosoma cruzi* in Dzidzilche, Yucatán, México. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 97: 613-620.

Ruíz-Piña, H. A. y Van-Wynsberghe, N. R. 2002. Infección natural con *Trypanosoma cruzi* en roedores silvestres de la Península de Yucatán. VI Congreso Nacional de Mastozología. Oaxaca, Oaxaca. Sociedad Mexicana de Mastozología. México.

Ryckman, R. E. 1962. Biosystematics and hosts of the *Triatoma protracta* complex in North America (Hemiptera: Reduviidae; Rodentia: Cricetidae). University of California Press Volume 27, pp. 93–240. Oakland, CA, USA.

Salazar-Schettino, P. M., Bucio-Torres, M. I., Cabrera-Bravo, M., Alba-Alvarado, M. C., Castillo-Saldaña, D. R., Zenteno-Galindo, E. A., Rojo-Medina, J., Fernández-Santos, N. A., & Perera-Salazar, M. G. 2016. Enfermedad de Chagas en México. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 59(3), 6-16.

Sasaki, H., Rosales, R., & Tabaru, Y. 2003. Host feeding profiles of *Rhodnius prolixus* and *Triatoma dimidiata* in Guatemala (Hemiptera: Reduviidae: Triatomae). *Jap. J. Sanit. Zool*, 54(3), 283-289.

Schaub, G.A. 2021. An update on the knowledge of parasite-vector interactions of Chagas disease. *Res. Rep. Trop. Med.* 12, 63–76.

Schaub, G.A., 2009. Interactions of trypanosomatids and triatomines. pp. 177–242 in Simpson, S.J. & Casas, J. (Eds) *Advances in Insect Physiology*, vol. 37. Burlington, Academic Press.

Schaub, G.A., 2006. Parasitogenic alterations of vector behaviour. *Int. J. Med. Microbiol.* 296, 37–40.

Schaub, G.A., 1992. The effects of trypanosomatids on insects. *Adv. Parasitol.* 31, 255–319.

Schaub, G. A. & Lösch, P. 1988. *Trypanosoma cruzi*: Origin of metacyclic trypomastigotes in the urine of the vector *Triatoma infestans*, *Experimental Parasitology*, Vol. 65, 2, 174-186, ISSN 0014-4894. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(88\)90121-X](https://doi.org/10.1016/0014-4894(88)90121-X)

Schaub, G.A. 1989. *Trypanosoma cruzi*: Quantitative studies of development of two strains in small intestine and rectum of the vector *Triatoma infestans*. *Experimental Parasitology*, Vol. 68, 3, 260-273, ISSN 0014-4894. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(89\)90108-2](https://doi.org/10.1016/0014-4894(89)90108-2)

Schofield, C. J. 2002. Evolución y control del *Triatoma dimidiata*. In: Taller para el establecimiento de pautas técnicas en el control de *Triatoma dimidiata*, San Salvador, PAHO document OPS/HCP/HCT/214/02, pp. 12–18.

Schofield, C. J. 1994. Triatominae biología y control. *Eurocommunica*. P.80.

Schofield, C. J. 1979. The behaviour of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): a review. *Bulletin of Entomological Research*, 69(3), 363-379. DOI: 10.1017/S0007485300018897

Secretaria de Salud. 2016. Enfermedad de Chagas. gob.mx. <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/enfermedad-de-chagas>

Smallegange, R.C., van Gemert, G.J., van De Vegte-Bolmer, M., Gezan, S., Takken, W., Sauerwein, R.W., & Logan, J.G. 2013. Malaria infected mosquitoes Express enhanced attraction to human odor. *PLoS ONE* 8: e63602.

Tay, J., Schenone, H., Sanchez, J. T., y Robert, L. 1992. Estado actual de los conocimientos sobre la enfermedad de Chagas en la República Mexicana. *Bol Chil Parasitol.* 47: 43-53.

Úc-Díaz, S. 2021. Efecto de *Trypanosoma cruzi* sobre la búsqueda y selección de hospederos por *Triatoma dimidiata*. Tesis de Licenciatura Campus Ciencia Biológicas Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Pp 80.

Vallejo, G., Guhl, F., & Schaub, G. 2009. Triatominae-*Trypanosoma cruzi*/T. rangeli: vector–parasite interactions. *Acta Trop.* 110, 137–147.

Vidal, A.V., Martínez, C.C., & Ibáñez, B.S. 2000. Infección natural de chinches Triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud Publica Mex.* 42: 496-503.

Villanueva-Lizama, L. E., Cruz-Chan, J. V., Aguilar-Cetina, A. D. C., Herrera-Sanchez, L. F., Rodriguez-Perez, J. M., Rosado-Vallado, M. E., Ramirez-Sierra, M. J., Ortega-Lopez, J., Jones, K., Hotez, P., Bottazzi, M. E., & Dumonteil, E. 2018. *Trypanosoma cruzi* vaccine candidate antigens Tc24 and TSA-1 recall memory immune response associated with HLA-A and -B

supertypes in Chagasic chronic patients from Mexico. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(1), e0006240. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006240>

Villegas-García, J. C. & Santillán-Alarcón, S. 2001. Sylvatic focus of American Trypanosomiasis in the State of Morelos, México. *Revista de Biología Tropical* 49: 685-688.

Wada-Katsumata, A., Zurek, L., Nalyanya, G., Roelofs, W. L., Zhang, A., & Schal, C. 2015. Gut bacteria mediate aggregation in the German cockroach. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(51), 15678–15683. <https://doi.org/10.1073/pnas.1504031112>

Waleckx, E., Pasos-Alquicira, R., Ramírez-Sierra, M. J., & Dumonteil, E. 2016. Sleeping habits affect access to host by Chagas disease vector *Triatoma dimidiata*. *Parasites and Vectors*, 9(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1852-3>

Waleckx, E., Gourbiere, S., & Dumonteil, E. 2015. Intrusive versus domiciliated triatomines and the challenge of adapting vector control practices against Chagas disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 110 (3), 324–338.

Zavala-Velásquez, J., Barrera-Pérez, M., Rodríguez-Felix, M. E., Guzmán-Marín, E. & Ruiz-Piña, H. 1996. Infection by *Trypanosoma cruzi* in mammals in Yucatán, México serological and parasitological study. *Revista de Instituto do Medicina Tropical de Sao Paulo* 39: 289-292.

Zarate, L.G., & Zarate, R.J. 1985. A checklist of the triatominae (Hemiptera: Reduviidae) of Mexico. *Internat J Entomol*; 27: 102-27.

Zeledón, R., Montenegro, V., & Zeledón, O. 2001. Evidence of colonization of man-made ecotopes by *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811) in Costa Rica. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 659-660.

Zeledón, R. 1981. El *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) y su relación con la enfermedad de Chagas. Universidad Estatal a Distancia (EUNED). San José, Costa Rica.

Zeledón, R., Guardia, V. M., Zuñiga, A. & Swartzwelder, C. 1970. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) II. Life span of adults and fecundity and fertility of females. *Journal of Medical Entomology* 7(4): 462-469.

ANEXOS

Galería de fotos



Foto 1. Colonia de T. dimidiata dentro del U.E.A. del laboratorio de Parasitología.



Foto 2. Separación de ninfas del II estadio de *T. dimidiata* para realizar los bioensayos.



Foto 3. Cría de ratones infectados con *T. cruzi*.



Foto 4. Alimentación de *T. dimidiata* con ratones infectados con *T. cruzi*.

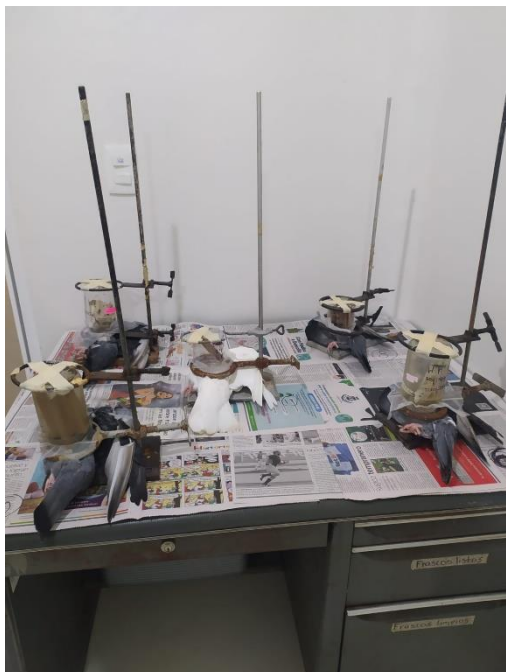


Foto 5. Alimentación de *T. dimidiata* con palomas (*Columba livia*).