



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESIS

Estudio de la enfermedad de Chagas
en el municipio de El Parral, Chiapas

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

LITZI MARISOL MACIAS SALAZAR

Director

DR. EDUARDO ESTANISLAO ESPINOZA MEDINILLA
Instituto de Ciencias Biológicas. UNICACH



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Agosto de 2023



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS
SECRETARÍA GENERAL
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN ESCOLAR
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Lugar: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas;
Fecha: 29 de agosto de 2023

C. Litzi Marisol Macías Salazar

Pasante del Programa Educativo de: Licenciatura en Biología

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:
Estudio de la enfermedad de Chagas en el municipio de El Parral, Chiapas

En la modalidad de: Tesis Profesional

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

Revisores

Dra. Dolores Guadalupe Vidal López

Dr. José Antonio De Fuentes Vicente

Dr. Eduardo Estanislao Espinoza Medinilla

Firmas:

Ccp. Expediente



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Eduardo Estanislao Espinoza Medinilla, director de la tesis, por brindarme la oportunidad de trabajar junto a él, por sus enseñanzas, por depositar su confianza en mí para llevar a cabo este proyecto, por su tiempo que dedico en cada una de las revisiones del escrito. Así mismo, le agradezco por motivarme hasta terminar este proyecto. Mi respeto, admiración y mi gratitud, le estaré siempre agradecida.

Al Dr. José Antonio De Fuentes, asesor de la tesis, por su apoyo, confianza, y tiempo dedicado a lo largo de la realización de la tesis, por guiarme con sus conocimientos en cada etapa; por su atención y compromiso que tuvo conmigo desde el principio. Le estaré siempre agradecida.

Al. Mtro. Luis Arturo Hernández Mijangos por apoyarme durante el trabajo en campo, por su paciencia dedicada al momento de enseñarme, por motivarme hasta concluir este proyecto. ¡Muchas gracias Mtro. Arturo!

A la Mtra. en C., Christian Ruiz Castillejos y Nancy Gabriela Santos Hernández, por guiarme y apoyarme durante el trabajo de laboratorio, por sus enseñanzas y el tiempo que dedicaron en mi hasta culminar la presente tesis.

Al Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Molecular de la UNICACH (LIDiaM-UNICACH) y todos los que lo conforman, por recibirme y convertirse en mi segunda casa, donde pude concluir la presente tesis, por proporcionarme todo el apoyo, la orientación y recursos necesarios para llevar a cabo este proyecto y culminarlo.

DEDICATORIA

Especialmente a mi madre, por todo ese apoyo incondicional que me ha dado a lo largo de mi vida, gracias por inculcarme buenos valores, ya que eso me ha forjado a ser lo que hoy en día soy. Sin duda alguna este logro también es suyo. Te estaré siempre agradecida el resto de mi vida, por motivarme a salir adelante hasta lograr mis metas.

A mis hermanos, Rogelio Emanuel, Cristian y pablo Antonio Macias Salazar, por estar siempre conmigo aconsejándome y apoyándome, por compartir conmigo cada momento, tanto de alegrías y tristezas, por el amor que me dan cada uno de ustedes, gracias por ser unos excelentes compañeros de vida. A mi hermana, Estephania que también de alguna manera estuvo, apoyándome, aconsejándome, y dándome su cariño. Los amo y saben que siempre podrán contar conmigo.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	MARCO TEÓRICO.....	3
2.1	Enfermedad de Chagas.....	3
2.1.2	Distribución de la enfermedad.....	3
2.1.3	Fases de la enfermedad.....	4
2.1.4	Tratamientos de la enfermedad.....	5
2.2	Especie <i>Trypanosoma cruzi</i>	6
2.2.1	Morfología de <i>Trypanosoma cruzi</i>	7
2.2.2	Ciclo de vida de <i>Trypanosoma cruzi</i>	9
2.2.2.1	En el hospedero vertebrado.....	9
2.2.2.2	En el insecto vector.....	9
2.2.3	Variaciones Intraespecíficas.....	10
2.2.4	Linajes.....	12
2.2.5	Métodos de detección de <i>T. cruzi</i>	12
2.2.5.1	Métodos directos.....	13
2.2.5.2	Métodos indirectos.....	14
2.3	Vectores de <i>T. cruzi</i>	15
2.3.1	Clasificación de vectores.....	16
2.3.2	Morfología de los vectores.....	17
2.3.3	Ciclo de vida de los triatominos.....	18
2.3.4	Vectores en México.....	19
2.4.	Ciclo de transmisión de la enfermedad de Chagas.....	20

2.5 Reservorios de la enfermedad de Chagas.....	21
III. ANTECEDENTES.....	22
IV. OBJETIVOS.....	26
4.1. General.....	26
4.2. Específicos.....	26
V. ZONA DE ESTUDIO.....	27
5.1 Ubicación y características bióticas.....	27
5.2 Vegetación.....	28
5.3 Fauna.....	29
VI. MÉTODOS.....	29
6.1 Trabajo de campo.....	29
6.1.1 Captura de insectos triatominos	29
6.1.2 Captura de mamíferos.....	30
6.2 Toma de muestras.....	31
6.3 Aplicación de encuestas.....	31
6.4 Trabajo de laboratorio	31
6.4.1 Determinación de la infección de <i>T. cruzi</i> en triatominos	31
6.4.2 Morfometría lineal	32
6.5 Extracción de ADN.....	33
6.6 Amplificación del Gen mini exón para determinar linaje.....	34
VII. RESULTADOS	35
VIII. DISCUSIÓN	57
IX. CONCLUSIÓN	62
X. RECOMENDACIONES.....	63

XI. REFERENCIAS DOCUMENTALES.....	64
XII. ANEXOS.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Formas celulares de <i>Trypanosoma cruzi</i> (Toso <i>et al.</i> ,2011).....	8
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Trypanosoma cruzi</i> (De Fuentes-Vicente <i>et al.</i> ,2018).....	10
Figura 3. Distribución de las especies de Triatominos en América (De Fuentes-Vicente <i>et al.</i> , 2018).....	16
Figura 4: Vista dorsal de un triatominos, mostrando en general las partes que forman el cuerpo del insecto principalmente las tres regiones en las que se divide, cabeza, tórax y abdomen (López-Bello, 2013).....	18
Figura 5. Ciclo de vida de <i>Triatoma dimidiata</i> . El ciclo está integrado por huevo, cinco estados ninfales y la fase adulta (De Fuentes-Vicente <i>et al.</i> , 2016).	19
Figura 6. Ubicación del municipio El Parral, Chiapas y los sitios de estudio muestreados.....	28
Figura 7. Trampa de arpa modificada utilizada para la captura de mamíferos voladores.....	30
Figura 8. Montaje optimizado para medir estructuras de los ejemplares triatominos.....	33
Figura 9. Vista dorsal y ventral de <i>Triatoma huehuetenanguensis</i> (Macho).....	35
Figura 10. Detalle de la genitalia externa de <i>Triatoma huehuetenanguensis</i> . Macho (Izq.) Hembra (Der.).....	36
Figura 11. Comparación del largo de la probóscide entre sexos. Hembras (Izq). Media= 5.59, machos (Der.) Media=5.28, con un nivel de confianza de 95%.....	37

Figura 12. Comparación del ancho de la probóscide entre sexos. Hembras (Izq). Media= 0.43, machos (Der.) Media=0.41.....	37
Figura 13. Comparación del ancho del pronoto entre sexos. Hembras (Izq) Media=5.76, machos (Der.) Media=5.45, con un nivel de confianza de 95%....	38
Figura 14. Comparación del largo del pronoto entre sexos. Hembras (Izq). Media=3.85, machos (Der.) Media=3.70, con un nivel de confianza de 95%.....	38
Figura 15. Comparación del largo de la cabeza entre sexos. Hembras (Izq). Media=4.52, machos (Der.) Media=4.04, con un nivel de confianza de 95%.....	38
Figura 16. Comparación del diámetro del ojo entre sexos. Hembras (Izq). Media=1.04, machos (Der.) Media=1.05, con un nivel de confianza de 95%.....	39
Figura 17. Comparación de la longitud total del cuerpo entre sexos. Hembras (Izq). Media=27.53, machos (Der.) Media=23.56, con un nivel de confianza de 95%.....	39
Figura 18. Comparación del largo del 1er par de alas entre sexos. Hembras (Izq). Media=13.32, machos (Der.) Media=12.38, con un nivel de confianza de 95%.....	40
Figura 19. Comparación del 2do par de alas entre sexos. Hembras (Izq). Media=18.42, machos (Der.) Media=16.96, con un nivel de confianza de 95%.....	40
Figura 20. Comparación de la distancia sintlppi entre sexos. Hembras (Izq). Media=0.99, machos (Der.) Media=0.91, con un nivel de confianza de 95%.....	40
Figura 21. Ubicación de los sitios donde se capturaron triatominos. El punto 1: corresponde a la sima del órgano, los puntos 2 y 3: corresponden a los sitios de selva y 4 y 5: corresponden a los sitios de Acahual.....	41
Figura 22. Electroforesis en gel de agarosa al 1% P/V de extracciones de ADN genómico A) de murciélagos conservadas en citrato de sodio al 3.8% pH 7.2, realizados por el método de Fenol-Cloroformo.....	43
Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa al 1% P/V de extracciones de heces de triatominos, realizados por el método de Fenol-Cloroformo.....	43

Figura 24. Amplificaciones de PCR múltiple del gen mini exón en gel de agarosa al 2% P/V; L) Marcador de peso molecular escalera de 50pb, TcI 350pb, TcII 300pb y N) control negativo. De once muestras de quirópteros: 1-7, <i>Pteronotus psilotis</i> , y 8-11: <i>Pteronotus fulvus</i>	44
Figura 25. Amplificaciones de PCR múltiple del gen mini exón en gel de agarosa al 2% P/V; L) Marcador de peso molecular escalera de 50pb, TcI 350pb, TcII 300pb y N) control negativo. De dos muestras de <i>Triatoma huehuetenanguensis</i>	45
Figura 26. Rango de edad de la población encuestada.....	46
Figura 27. Porcentaje de mujeres y hombres sobre el nivel de escolaridad que mencionaron tener.....	46
Figura 28. Conocimiento del vector.....	48
Figura 29. Observación del vector en El Parral, Chiapas.....	49
Figura 30. Porcentaje de los pobladores que mencionó asociar al insecto con la temporada de lluvia y seca.....	50
Figura 31. Porcentaje de los pobladores entrevistados que consideran peligroso al insecto.....	51
Figura 32. Conocimiento sobre la enfermedad.....	52
Figura 33. Porcentaje de la combinación de materiales utilizados para la construcción de las viviendas en El Parral.....	53
Figura 34. Porcentaje de la combinación de materiales de las viviendas con el área donde fue visto al insecto vector.....	54
Figura 35. Porcentaje de la combinación de los materiales presentes que mencionaron tener.....	54
Figura 36. Porcentaje de la combinación de materiales presentes que mencionaron tener los participantes entrevistados.....	55

Figura 37. Porcentaje de pobladores que mencionaron tener animales en casa...56

Figura 38. Porcentaje de la agrupación de animales que mencionaron tener los pobladores entrevistados de El Parral.....56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Medias (\bar{X}) y desviación estándar (σ) de 10 rasgos morfológicos de *T. huehuetenanguensis* del municipio El Parral, Chiapas.....36

Cuadro 2. Porcentaje de infección natural de triatominos con *Trypanosoma cruzi* por sitio de colecta.....41

Cuadro 3. Familia y especies de mamíferos voladores capturados.42

Cuadro 4. Localidad de origen de los participantes del municipio El Parral, Chiapas.....47

Cuadro 5. Características del vector mencionadas por los habitantes entrevistados.....49

Cuadro 6. Área donde se observó al vector en El Parral, Chiapas.....49

Cuadro 7. Árboles donde han visto al vector.....50

Cuadro 8. Frecuencia de las áreas donde fue visto el insecto vector con relación al material de las viviendas de los entrevistados.....53

Cuadro 9. Frecuencia de la presencia de animales domésticos y de corral en las viviendas.....56

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, es considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) dentro del grupo de las enfermedades tropicales desatendidas (Haro *et al.*, 2021). Esta parasitosis fue descubierta por un médico brasileño, Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas en el año 1909 (Pereira y Pérez, 2003), llega a ser mortal y a menudo conduce a lesiones graves en el tejido cardiaco y el tracto digestivo (Camacho-Sierra, 2016). La transmisión de esta parasitosis ocurre principalmente por las heces de insectos hematófagos infectados (90 % de los casos) (Martínez *et al.*, 2013), aunque se han registrado también otras formas de infección: transfusional, transplacentaria, por trasplantes de órganos, accidentes de laboratorio, vía oral o por jeringas infectadas (Apt *et al.*, 2008). Actualmente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que esta enfermedad afecta de 7 a 8 millones de individuos y en América Latina se considera en riesgo de infección a un mínimo de 110 millones en 21 países en los que la enfermedad es endémica, incluyendo a México (Salazar-Schettino *et al.*, 2016; Vidal-Acosta y Ibáñez-Bernal, 2000).

El agente etiológico de la enfermedad de Chagas es el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), (Palau, 1996), *T. cruzi* es transmitido por Hemipteros hematófagos de la Familia Reduviidae, subfamilia Triatominae, (Rassi *et al.*, 2010), que a su vez infecta naturalmente a más de 180 especies de mamíferos pertenecientes a los órdenes Didelphimorphia, Lagomorpha, Chiroptera, Rodentia, Pilosa, Cingulata, Carnivora, Perisodactyla y Primates, incluyendo al hombre que además de padecer de la enfermedad actúa como reservorio (García-Jordán *et al.*, 2015).

En México se han reportado 32 transmisores de *Trypanosoma cruzi*, los géneros exclusivos son *Dipetalogaster*, *Meccus* y ocho especies del género *Triatoma* (Galvao *et al.*, 2003). Trece de los transmisores están relacionadas a vivienda humana, dos se han encontrado en el intradomicilio y once en el peridomicilio (Vidal-Acosta y Ibáñez-Bernal, 2000). La mayoría de las infecciones por *Trypanosoma*

cruzi se atribuyen a especies, consideradas como vectores primarios (Rojo-Medina *et al.*, 2018).

Sin embargo, se considera que varios vectores secundarios (p. ej., *T. lecticularia* (Stål) y *T. recurva* (Stål) y *T. protracta* (Uhler)) contribuyen en diferentes áreas geográficas debido a sus hábitos domiciliarios, altas tasas de infección y parámetros biológicos clave para la transmisión de *Trypanosoma cruzi* (Martínez-Ibarra *et al.*, 2010; Grant-Guillén *et al.*, 2018). Además, las especies secundarias pueden sustituir a los vectores primarios, como ha ocurrido con la sustitución de *T. infestans* (Klug) (un vector primario) por *Panstrongylus megistus* (Burmeister), *T. sordida* (Stål), *T. brasiliensis* (Neiva) y *T. pseudomaculata* (Corrêa y Espínola) en diferentes zonas de Brasil y por *T. guasayana* (Wygodzinsky y Avalos), *T. platensis* (Neiva), *T. sordida* y *T. patagonica* Del Ponte en Argentina (Silveira, 2014; Flores-Ferrer *et al.*, 2017). Uno de esos vectores secundarios es la especie recientemente descrita *Triatoma huehuetenanguensis* (Lima-Cordón, Monroy, Stevens, Rodas, Rodas, Dorn, Justi) a partir de especímenes obtenidos en Guatemala. *T. huehuetenanguensis* se puede encontrar en ambientes intradomiciliarios, cerca del bosque tropical, lo que sugiere que la especie podría estar explotando las condiciones de alojamiento (Espinosa-González *et al.*, 2022).

Para Chiapas, al igual que otras partes del país, la parasitosis ocasionada por *T. cruzi* se encuentra subestimada y erróneamente se le considera limitada a ciertas zonas geográficas consideradas endémicas, aunado a que existe una actitud pasiva por el desconocimiento de la magnitud de esta enfermedad con relación a la detección de casos (Sánchez-Guerrero, 2010). Por lo tanto, el siguiente estudio tiene como objetivo evaluar la dinámica del parásito *T. cruzi* en mamíferos hospederos e insectos vectores en el municipio El Parral, Chiapas, debido a la comprobación del movimiento de *Trypanosoma cruzi* de ambientes silvestres a viviendas humanas y viceversa nos indica la forma en la que hay que abordar la problemática de esta enfermedad y así controlar la infección dentro de áreas selváticas para evitar la reintroducción de la infección a ciclos domésticos y determinar la presencia de los vectores y el conocimiento de la población.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas, también conocida como tripanosomiasis americana, es una parasitosis causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, descubierto en el año 1909 por un médico brasileño, Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas, a quien le debe su nombre, en el estado brasileño de Minas Gerais; en el descubrimiento de esta parasitosis cabe destacar que se conoció el parásito antes que la enfermedad. (Haro *et al.*, 2021; Pereira y Pérez, 2003). La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica a esta enfermedad dentro del grupo de las enfermedades tropicales desatendidas. Sigue siendo un problema grave de salud pública en América Latina, donde se estima que 8 millones de personas se encuentran infectadas. Además, las migraciones humanas han favorecido la diseminación de la infección a otras áreas del mundo (EE. UU. y Europa, principalmente). Según estimaciones de la OMS, Argentina, Brasil y México son los tres países con el mayor número de personas infectadas. La infección se transmite principalmente por contacto con las heces u orina infectadas de triatomíneos que se alimentan de sangre. Estos insectos viven en grietas y huecos de las paredes y los techos de las casas en las zonas rurales y suburbanas, permanecen ocultos durante el día, por la noche entran en actividad, pican en una zona expuesta de la piel y defecan cerca de la picadura. (Haro *et al.*, 2021). Los hospedadores del parásito lo constituyen los animales mamíferos, incluyendo al hombre, en quien la infección puede ser congénita o adquirida y afectar en grado variable, diversos órganos y sistemas, especialmente el corazón y el tubo digestivo (Arista, 2007).

2.1.2 Distribución de la enfermedad

Antes se creía que esta parasitosis estaba limitada a Brasil, pero se ha demostrado que afecta a muchos más países como Bolivia, Perú, Ecuador, Guatemala, México y a algún estado estadounidense como Texas (Pereira y Pérez, 2003), la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que afecta de siete a ocho millones de individuos, especialmente en América Latina se considera en riesgo de infección a un mínimo de 110 millones de individuos (20%) en 21 países los cuales son

Argentina, Brasil, Chile, Uruguay, Paraguay, Perú, Ecuador, Bolivia, Venezuela, Colombia, Guyana Francesa, Guyana, Surinam, Costa Rica, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Panamá, Belice, Guatemala y México (Salazar-Schettino *et al.*, 2016).

En México es difícil contar con datos epidemiológicos sobre la mortalidad por Chagas, debido a la falta de experiencia en la elaboración del diagnóstico clínico, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) estima 1.1 millones de personas infectadas; la incidencia de 2000 a 2007 se mantuvo en un rango de 0.07 a 0.37 por 100 mil habitantes; a partir de 2008 ascendió de 0.61 a 0.70 por 100 mil habitantes en 2012 (Ramsey, *et al.*, 2014; Roja-Medina, *et al.*, 2018).

Ramsey y colaboradores (2014) remarca que el 57.0% de esta población es residente en zonas rurales y 8.9% en zonas suburbanas. Ocho estados (Chiapas, Veracruz, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, Michoacán, México, Oaxaca) tienen más del 69% de los casos seropositivos (931 643 individuos), de los cuales representan entre el 5.9% y el 11.0% de las poblaciones respectivas en esas entidades.

2.1.3 Fases de la enfermedad

La enfermedad se caracteriza por tres fases: aguda, indeterminada o latente y crónica. El periodo de incubación es de siete a catorce días (Murillo-Godínez, 2018).

En el caso de la transmisión vectorial, la fase aguda se inicia con la infección y generalmente es asintomática, afecta principalmente a niños. Cuando ocurren los síntomas, los más comunes son: inflamación en el sitio de inoculación (Chagoma), edema palpebral unilateral (signo de Romaña), fiebre y dolor de cabeza. Esta fase usualmente se resuelve espontáneamente entre dos a cuatro meses, sin embargo, algunos casos (2-6%) pueden llevar a la muerte. Esta fase cursa con alta parasitemia (Díaz y González, 2014).

La fase indeterminada, asintomática o latente inicia de ocho a diez semanas después de la infección y puede cursar durante 10 a 50 años; entre 60 a 70% de los pacientes pueden permanecer en esta fase (Murillo-Godínez, 2018).

La fase crónica se diagnostica con más frecuencia que la aguda, afecta mayormente a los individuos adultos y se manifiesta después de un período latente

y asintomático prolongado tras la recuperación de la fase aguda. Esta manifestación tardía de la infección se encuentra casi en un 15% de quienes han presentado el contagio. Los síntomas de la fase crónica probablemente guardan relación con la lesión producida durante la fase aguda y entre ellos destacan las palpitaciones, la disnea, dolores referidos al área cardíaca y dolor en la zona hepática; ocasiona dilatación esofágica (megaesófago) y del colon (megacolon). La disfagia es el síntoma principal y característico del megaesófago y puede dar lugar a la regurgitación de alimentos no digeridos mucho después de la ingestión y se exagera tras la ingestión de líquidos fríos. El megaesófago cursa también con dolor precordial, plenitud posprandial y adelgazamiento. El síntoma principal del megacolon es el estreñimiento, que a veces es intenso y provoca una acumulación excesiva de heces en el colon predisponiendo a la formación de perforaciones y de fecalomas (Pereira y Pérez, 2003).

2.1.4 Tratamientos de la enfermedad

Se han ensayado múltiples fármacos en el tratamiento de esta enfermedad; sin embargo, donde no hay un avance es en el tratamiento antiparasitario (Murillo-González, 2018). Actualmente los fármacos que por razones éticas y de eficacia recomendados para el tratamiento de la enfermedad de Chagas son: Beznidazol (BNZ) y Nifurtimox (NFX). Beznidazol (BNZ) actúa sobre la cadena respiratoria de *T. cruzi*, por su parte, Nifurtimox (NFX) actúa mediante la generación de radicales libres y metabolitos reactivos. NFX es prescrito a una dosis de 8-10 mg/kg durante 60 días, mientras la dosis de BNZ es de 5-7,5 mg/Kg por día durante 30-60 días. En los adultos, BNZ presenta una alta tasa de efectos adversos, los cuales incluyen: rash que varía desde fotosensibilidad hasta dermatitis severa con erupciones cutáneas, mialgias, linfadenopatías, neuropatías y desórdenes asociados a supresión de la actividad de la médula ósea como agranulocitosis y púrpura trombocitopénica 75. Por su parte, NFX causa efectos gastrointestinales en el 50-75% de los pacientes, estos son: anorexia, náuseas, vómitos y molestias abdominales. Adicionalmente, irritabilidad, insomnio, desorientación, cambios del estado de ánimo, parestesias y con menos frecuencia temblores. Dado el tiempo de

duración más corto y menores efectos colaterales del BNZ éste es el fármaco de elección para el tratamiento de la enfermedad (Murillo-González, 2018; Díaz-González, 2014).

2.2 Especie *Trypanosoma cruzi*

T. cruzi es un protozoo, flagelado, siendo el agente etiológico de la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana. *Trypanosoma cruzi* fue aislado por primera vez en el año 1909, por el investigador brasileño Carlos Chagas, a partir del contenido intestinal de un insecto redúvido (*Panstrongylus megistus*) (Palau, 1996; Ucan-Euan *et al.*, 2019), pertenece al orden Kinetoplastida (incluye flagelados provistos de un cinetoplasto, que contienen una red fibrosa de Ácido desoxirribonucleico (ADN) (Levine *et al.*, 1980).

Dentro de la familia Trypanosomatidae, el género *Trypanosoma* es uno de los más importantes por incluir algunas especies que ocasionan enfermedades en humanos, como el caso de *T. cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas y *T. gambiense* y *T. rhodesiense*, agentes causales de la enfermedad del sueño en África (Pereira y Pérez, 2003).

T. cruzi se transmiten por picadura de insectos, al igual que *T. brucei* pero en la clasificación de estos organismos se ha incorporado una diferencia fundamental entre los medios de transmisión. El primero llamado Stercoraria incluye a *Trypanosoma cruzi* porque la transmisión se realiza a través de las heces de los vectores también podemos encontrar a *Trypanosoma lewisi*. El segundo grupo se conoce como Salivaria incluye tripanosomas que se desarrollan inicialmente en el tubo digestivo y posteriormente atraviesan el epitelio digestivo y llegan a las glándulas salivales, donde las formas infectivas son inoculadas mecánicamente; en este grupo se encuentran: *T. brucei*, *T. congolense* y *T. rangeli* (Barret *et al.*, 2003).

La clasificación taxonómica para *T. cruzi* planteado por Levine *et al.* (1980) es:

Reino: Protozoa (Goldfuss, 1818)

Phylum: Sarcomastigophora (Honigber y Balaniuth, 1963)

Sub-phylum: Mastigophora (Diesind, 1866)

Clase: Zoomastigophorea (Calkins, 1909)

Orden: Kinetoplastida (Honigber, 1963)

Familia: Trypanosomatidae (Doflein, 1901)

Género: *Trypanosoma* (Gruby, 1943)

Especie: *Trypanosoma cruzi*

2.2.1 Morfología de *Trypanosoma cruzi*

Los protozoarios Kinetoplastidos son organismos flagelados con uno o dos flagelos los cuáles poseen una estructura paraflagelar conocida como cinetoplasto que los distingue, pertenece a una condensación de ADN (ADNk), localizado en el interior de la mitocondria que está ramificada por todo el cuerpo del parásito, la cual contiene maxicírculos y minicírculos de ADN. Los primeros tienen una longitud perimetral de 30.000 – 50.000 pb (pares de bases) y los segundos de 100 a 2500 pb (Bueno-Duarte, 2007; Camacho- Sierra, 2016).

Palau (1996) menciona que el parásito *Trypanosoma cruzi* tiene un ciclo biológico complejo, siendo un organismo digenético con alternancia entre un hospedador vertebrado, donde usualmente se encuentra en sangre y tejidos, y en el tracto digestivo de un insecto vector, cambia su morfología y expresión antigénica de acuerdo a su estadio y lugar donde se encuentra. Estas diferencias en la morfología y estados funcionales, implican una importante adaptación a una variedad de condiciones medioambientales en el insecto vector y en las células del hospedador mamífero.

Por otro lado, dependiendo del hospedero en que se encuentre, el *Trypanosoma cruzi* adopta diferentes formas celulares: epimastigote, tripomastigote y amastigote (Figura 1).

- El tripomastigote es la forma extracelular, no replicativa e infectiva, que se encuentra en la sangre de los mamíferos, en el intestino posterior de los vectores y en sus deyecciones. En esta etapa el parásito presenta una forma elongada (20 - 25 μm), con el kinetoplasto situado por detrás del núcleo y el

flagelo emerge por un costado del cuerpo liberándose por el extremo anterior, creando la imagen de una membrana ondulante. En esta forma ya es cuando se puede encontrar en la circulación del mamífero (tripomastigote sanguíneo) y en la ampolla rectal del vector (tripomastigote metacíclico) (Toso *et al.*, 2011; Camacho-Sierra, 2016).

- Amastigote: su forma es redondeada, con cinetoplasto en forma de barra o bastón en la región anterior del núcleo, flagelo corto. Esta forma puede ser hallada en el interior de las células de hospedadores infectados, así como en cultivo axénico (Díaz y González, 2014).
- Epimastigote es la forma replicativa, no infectiva para el humano o mamífero y se encuentra en el vector invertebrado. Tiene una forma alargada (20 - 40 x 2 µm), el origen del flagelo próximo y el núcleo por delante (Murillo-Godínez, 2018; Camacho-Sierra, 2016).

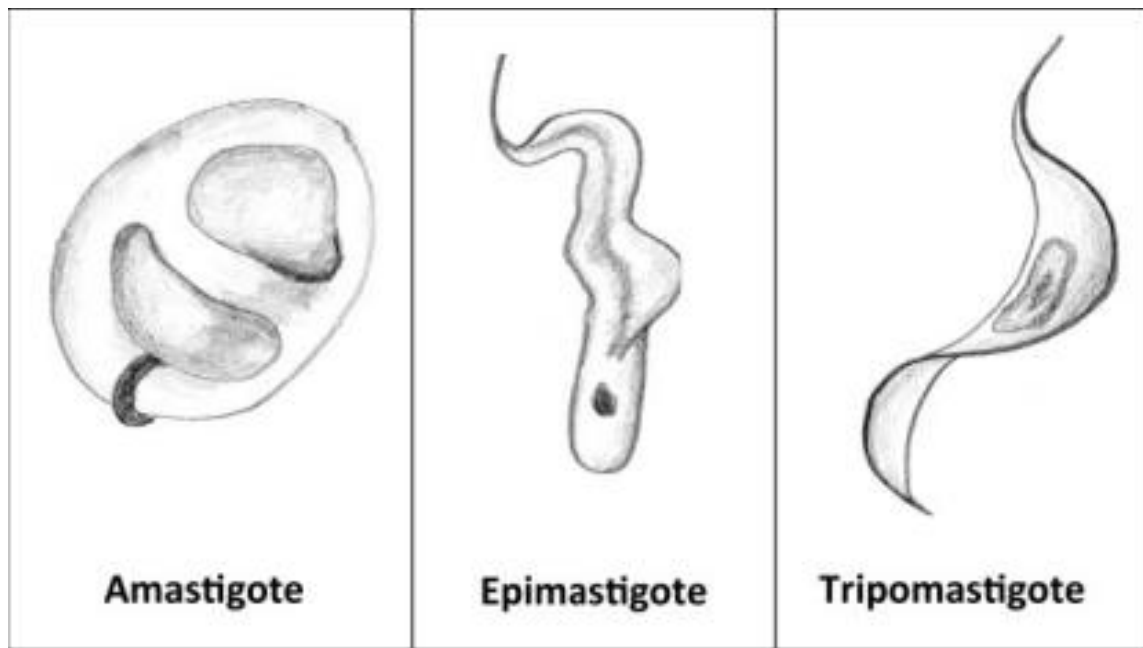


Figura 1. Formas celulares de *Trypanosoma cruzi* (Toso *et al.*, 2011).

2.2.2 Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*

2.2.2.1 En el hospedero vertebrado

El ciclo de vida inicia cuando el insecto ingiere el parásito en su estadio circulante en sangre del hospedador vertebrado infectado. Estas formas alcanzan el intestino medio del insecto y es ahí donde se diferencian a epimastigote metacíclico, el cual se multiplica repetidamente por división binaria (Díaz y González, 2014), después de 15 a 30 días, en la porción final del mismo se transforman en tripomastigotes que reciben el nombre de “tripomastigotes metacíclicos”, y son eliminados con las heces del insecto y puede continuar haciéndolo durante toda su vida, siendo la forma infectiva para el hombre y los reservorios (Arista, 2007).

2.2.2.2 En el insecto vector

Cuando el insecto vector ingiere sangre para alimentarse, libera las formas metacíclicas infectivos en las heces, en el lugar más cercano de la picadura; estos entran al hospedador a través de la herida o de tejidos mucosos como la conjuntiva. Una vez que están dentro del hospedador vertebrado, los tripomastigotes metacíclicos invaden las células cercanas al sitio de la inoculación (macrófagos u otro tipo de célula) donde se diferencian en amastigotes intracelulares, estos se multiplican por fisión binaria cada 10 horas y provocan la lisis de la célula; posteriormente se transforman en tripomastigotes y son liberados al torrente sanguíneo. Los tripomastigotes infectan a las células de gran variedad de tejidos para transformarse nuevamente en amastigotes intracelulares en nuevos sitios de infección; como ya se mencionó, los tripomastigotes sanguíneos no se replican (a diferencia de los tripanosomas africanos), esta replicación sólo se reanuda cuando los parásitos entran en otra célula o son ingeridos por otro vector. El triatomino se infecta al alimentarse de sangre humana o animal que contienen parásitos circundantes. Los tripomastigotes ingeridos se transforman en epimastigotes en el intestino medio del vector y se multiplican en el mismo lugar, después pasan al intestino grueso donde se muestran tripomastigotes metacíclicos infecciosos en el recto de los triatominos para continuar con el ciclo (Figura 2) (Concha, 2015).

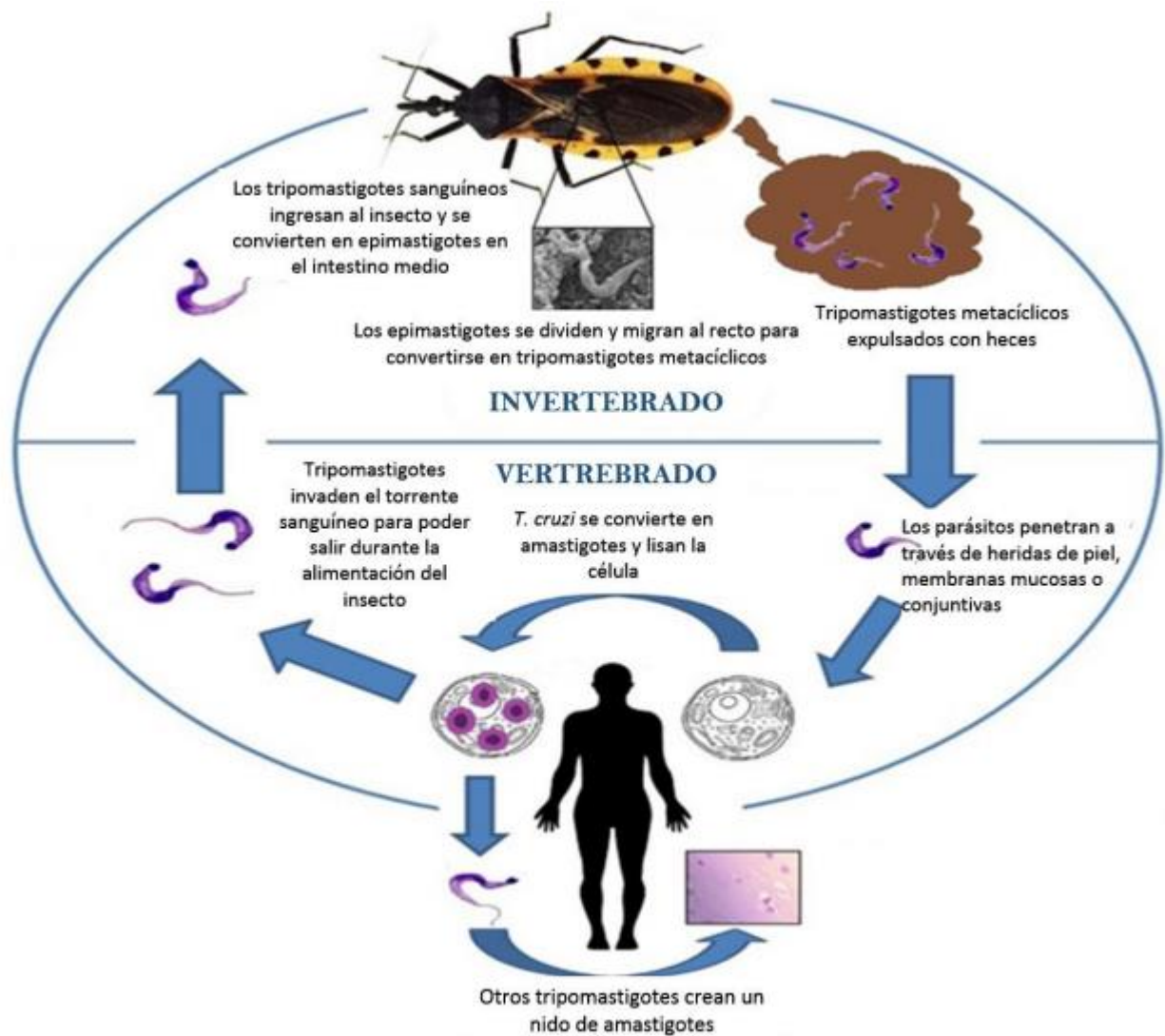


Figura 2. Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi* (De Fuentes-Vicente *et al.*, 2018).

2.2.3 Variaciones Intraespecíficas

Trypanosoma cruzi consiste en un conjunto de poblaciones de cepas que circulan entre seres humanos, insectos vectores y reservorios, tanto domésticos como selváticos. Así mismo, se han identificado por varios métodos la heterogeneidad a nivel bioquímico y molecular de las diferentes cepas del parásito, así como la variabilidad en su comportamiento biológico para correlacionar con los hallazgos clínicos y epidemiológicos. Los métodos bioquímicos han permitido analizar los productos de expresión génica utilizando isoenzimas (Guzmán-Marín *et al.*, 1999).

La electroforesis de isoenzimas es uno de los métodos empleados para detectar diferencias entre enzimas con propiedades catalíticas parecidas, pero con distinta estructura molecular, agrupa cepas de acuerdo a sus perfiles isoenzimáticos idénticos, que reciben el nombre de zimodemas. Se habla de tres zimodemas principales Z1, Z2 y Z3. El zimodema Z1 es de origen selvático y circula entre animales triatomíneos selváticos y es infectivo para el hombre, el Z2 es de origen doméstico y comprende cepas aisladas de pacientes con enfermedad de Chagas aguda o crónica y de animales domésticos y Z3 comprende cepas de casos humanos, mamíferos y vectores de áreas de transmisión selvática con forma aguda de la enfermedad (Guzmán-Marín *et al.*, 1999; Martínez, 1996).

Comienzos del siglo XX se ha postulado que la distribución diferencial de *T. cruzi* en los tejidos puede influir en la partenogénesis de la enfermedad. Diferentes estudios han logrado determinar algunas asociaciones epidemiológicas de la enfermedad en las diferentes regiones. Así, mientras las manifestaciones gastrointestinales son raras en Centroamérica, México, Colombia y Venezuela, en Brasil estas manifestaciones tienen mayor incidencia con o sin patología cardíaca asociada. Sin embargo, en estudios recientes se ha podido establecer que las poblaciones multiclonales que infectan un individuo, tiene clones con tropismo específico a diferentes tejidos y es exactamente la distribución de estos clones lo que puede influir o determinar el curso clínico de cada paciente (Mejía y Triana, 2005).

Estudios recientes que utilizan herramientas moleculares exhiben que estos clones importantes de áreas endémicas lograrían ser responsables de algunas manifestaciones clínicas y respuesta a la quimioterapia. Para efectuar estos estudios tanto de cepas en cultivo como en tejidos se ha recomendado la técnica de la reacción de la polimerasa de baja astringencia como un único iniciador específico (LSSP-PCR) que permite traducir el polimorfismo intraespecífico de una secuencia de nucleótidos en perfiles electroforéticos únicos y reproducibles (Devera, Fernández y Rodríguez, 2003; Mejía y Triana, 2005).

2.2.4 Linajes

Como ya se indicó anteriormente *Trypanosoma cruzi* presenta una diversidad biológica, bioquímica, genética y una complejidad ecoepidemiológica, estas características fueron ampliamente revisadas en distintos lugares. Conforme pasaron los años muchos investigadores utilizaron diferentes enfoques para caracterizar la estructura de la población de *T. cruzi*, y definir el número de subgrupos, estos subgrupos recibieron diferentes designaciones, como zimodemos, esquizodemos, clones, linajes, clados y más recientemente, Unidades Discretas de Tipificación por su sigla en inglés DTU (Zingales *et al.*, 2009; Sánchez, 2018).

Las DTU se definen como "conjuntos de poblaciones que están genéticamente más relacionadas entre sí que con cualquier otra población y que son identificables por marcadores genéticos, moleculares o inmunológicos comunes". Las variedades de *T. cruzi* estudiadas han sido clasificadas en seis linajes (TcI a TcVI), este contexto resalta a TcI como el linaje más abundante en el continente americano, el cual puede estar asociado con los ciclos silvestres y domésticos de la enfermedad (Zingales *et al.*, 2009; Pérez- España *et al.*, 2019).

Se ha sugerido que TcI evolucionó en asociación a los mamíferos marsupiales del género *Didelphis* y TcII, en relación a los mamíferos terrestres, como los armadillos y recientemente se ha descrito un nuevo genotipo muy cercano al linaje TcI designado como Tcbat ligado a murciélagos silvestres. A diferencia del origen por propagación clonal de Tc I y Tc II, se propone que los otros cuatro DTU's fueron originados como consecuencia de eventos aislados de hibridación y después se realizó la propagación de las clonas (Camacho-Sierra, 2016; Jiménez-Coello, *et al.*, 2008).

2.2.5 Métodos de detección de *T. cruzi*

Con respecto al diagnóstico de la enfermedad de Chagas existen diversos métodos. Algunos de estos se utilizan mayoritariamente para propósitos de investigación, mientras que otros se emplean en los laboratorios de diagnóstico habitual.

En general, los métodos se clasifican en directos o indirectos. La elección del tipo de examen a solicitar dependerá de la fase clínica de la enfermedad. En la etapa aguda, los métodos de elección, son los directos, puesto que tienen una alta sensibilidad, y en la fase crónica latente o indeterminada y crónica determinada, los métodos pertinentes son los indirectos o serológicos (De Villasante-Fuentes, 2015).

2.2.5.1 Métodos directos

Son aquellos que establecen directamente la presencia del parásito, suelen denominarse métodos parasitológicos, y la mayoría están basados en la microscopía. En la fase crónica rara vez se pueden evidenciar los parásitos por métodos directos (García *et al.*, 2010); los más utilizados son:

- ❖ **Gota gruesa:** se basa en la observación microscópica de una gota de sangre fresca anticoagulada permitiendo la observación del movimiento del parásito. Es necesaria la examinación de por lo menos 100 campos microscópicos para llegar a la conclusión de la ausencia de los parásitos (Garduño-Pineda, 2013).
- ❖ **Microhematocrito:** se utiliza, cuando se efectúa exámenes de sangre fresca repetidas y fallan para revelar la evidencia de infección. Consiste en obtener capilares heparinizados, con sangre, y someterlos a centrifugación. En la interfase entre los hematíes y el plasma, se encuentra una capa de leucocitos, en la que se observan los movimientos del flagelado, con el microscopio con ocular de 10x y objetivos de 40 aumentos o bien se puede emplear la técnica de Strout (Garduño-Pineda, 2013).
- ❖ **Xenodiagnóstico:** es la búsqueda de formas tripomastigotes de *T. cruzi* en deyecciones de triatomíneos que han succionado sangre de pacientes. Se utilizan para ello, ninfas de insectos libres de infección. Es útil en todas las etapas de la enfermedad, con una sensibilidad aproximada del 98% a 100 % en la etapa aguda, y de 50% a 70% en crónica en condiciones óptimas (Duffy, 2010).

2.2.5.2 Métodos indirectos

Los métodos indirectos revelan el ADN del parásito (métodos moleculares, especialmente la reacción en cadena de la polimerasa [PCR]) o los anticuerpos anti *T. cruzi* en la sangre del paciente (métodos serológicos) (García *et al.*, 2010).

- ❖ **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR):** es una técnica de biología molecular que emplea partidores específicos para amplificar un segmento del DNA de *T. cruzi* en muestras clínicas de pacientes. Es útil para ser empleadas en diferentes tipos de muestras y tejidos en fase aguda, crónica indeterminada y crónica determinada. La PCR utilizada principalmente en nuestro medio es de tipo cualitativa, es el examen confirmatorio en inmunodeprimidos y en menores de nueve meses y requiere de dos resultados positivos consecutivos para descartar falsos positivos de la técnica. En el caso de pacientes inmunocompetentes o mayores de nueve meses el resultado de PCR positivo debe ir acompañado de un resultado de búsqueda de anticuerpos positiva, lo que da por confirmado el resultado.
- ❖ **Aglutinación indirecta:** es el método que se basa en la reacción de eritrocitos sensibilizados con *T. cruzi* que entran en contacto con anticuerpos específicos del parásito produciéndose aglutinación (reacción positiva).
- ❖ **Enzima Inmuno Ensayo (ELISA):** placas de poliestireno son sensibilizadas con antígeno soluble de *T. cruzi*, los que se unirán a anticuerpos específicos contra el parásito si están presentes en la muestra. Se agrega conjugado formado por un anti-anticuerpo humano unido a una enzima y se podrá evidenciar una reacción positiva si al adicionar sustrato específico se desarrolla una reacción de color, que indicaría la presencia de anticuerpos en la muestra del paciente.
- ❖ **Inmunofluorescencia indirecta (IFI):** esta técnica permite determinar la presencia de anticuerpos anti *T. cruzi* en diferentes muestras biológicas. Para estos efectos, se preparan placas de vidrio con pocillos a las que se le adhieren epimastigotes de *T. cruzi* (parásito completo) obtenidas de cultivo. Si el suero del paciente tiene anticuerpos, se produce una reacción antígeno-

anticuerpo, la que se detecta con la adición de un segundo anticuerpo marcado con sustancias fluorescentes. Esta reacción se observa posteriormente en un microscopio de fluorescencia.

- ❖ **Western blot (inmunoelectrotransferencia):** permite descubrir la presencia de anticuerpos anti *T. cruzi* que han sido separados mediante electroforesis y luego transferidos a una membrana sobre la cual se realiza una reacción enzimática, que según sea el conjugado utilizado detecta la presencia de anticuerpos IgA, IgG o IgM por separado o simultáneamente. Las reacciones positivas se observan como bandas de precipitación en tiras de membranas sensibilizadas (García *et al.*, 2010).

2.3 Vectores de *T. cruzi*

Trypanosoma cruzi desarrolla su ciclo de vida en ocho órdenes de mamíferos y se han identificado más de 130 especies de vectores que pertenecen al orden Hemiptera, familia Reduviidae, subfamilia Triatominae, con tres géneros de importancia médica que son *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus* distribuidos desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Argentina y Chile (Figura 3) (Salazar-Schettino *et al.*, 2016). La relevancia de los triatominos en la salud pública se basa en su condición de ser los vectores biológicos de la enfermedad de Chagas en ambientes silvestres y sinantrópicos, donde algunas especies transmiten la enfermedad a los humanos o a los animales domésticos (García-Jordán *et al.*, 2015).

Estos insectos son conocidos como “pitos”, “chinches besadoras”, “barbeiros”, “chupos”, “vinchucas” tanto en América Central y Sudamérica, en México se les llama “chinches trompudas”, “chinches besuconas” o “talaje” Son vectores biológicos, porque no solamente llevan el parásito del reservorio al hombre o animal susceptible, sino también porque el parásito se reproduce en el interior del vector (López- Bello, 2013; Arista, 2007).



Figura 3. Distribución de las especies de Triatominos en América (De Fuentes-Vicente *et al.*, 2018).

2.3.1 Clasificación de vectores

Los triatominos pertenecen al orden Hemiptera, el cual se caracteriza por poseer aparato bucal tipo succionador. La mayoría son organismos que se alimentan de plantas (fitófagos), algunos otros de insectos (depredadores) y unos pocos de sangre de vertebrados (hematófagos). En el suborden Heteróptera se encuentra la familia Reduviidae y la subfamilia Triatominae, única hematófaga en este grupo. De las 124 especies registradas, 111 están restringidas al Nuevo Mundo y 107 se han informado en infecciones naturales y experimentales con *Trypanosoma cruzi* (Castillo y Wolff, 2000).

Los triatominos presentan la siguiente clasificación taxonómica (Ruggiero *et al.*, 2015)

Reino: Animalia

Infrareino: Protostomia

Filo: Arthropoda

Subfilo: Hexapoda

Clase: Insecta

Orden: Hemiptera

Suborden: Heteroptera

Superfamilia: Reduvidoidea

Familia: Reduviidae

Subfamilia: Triatominae

Géneros: *Triatoma*

Dipetalogaster

Rhodnius

Panstrongylus

Eratyrus

Belminus

Paratriatoma

2.3.2 Morfología de los vectores

El tamaño en los adultos varía entre 1.5 y 3 cm de longitud y su color es variado según las especies. La cabeza es alargada y termina en una proboscis recta que en reposo se dobla centralmente sobre su cuerpo y se extiende en el momento de la

picadura. Poseen un par de ojos prominentes, delante de los cuales emerge un par de antenas cuyo punto de implantación diferencia los géneros (López - Bello, 2013).

El tórax es quitinoso y su segmento anterior tiene forma de escudo (Figura 4) posee un par de alas primarias y un par de alas secundarias más pequeñas, las alas permanecen dobladas sobre el dorso, así mismo, los triatominos son más caminadores que voladores, tienen 2 patas delanteras, 2 patas medias y 2 posteriores. El abdomen puede tener pigmentación de colores vistosos que ayudan en su clasificación. La longevidad del vector es de aproximadamente un año y depende de la capacidad de ayuno, la cual puede ser de hasta varios meses. Una hembra puede poner entre 1200 a 1400 huevos. Tanto los machos como las hembras se alimentan de sangre en cantidad que puede llegar a ser 9 veces su peso es el caso de *T. longipennis* que es uno de los vectores de mayor tamaño del género *Triatoma* (Botero, 1998).

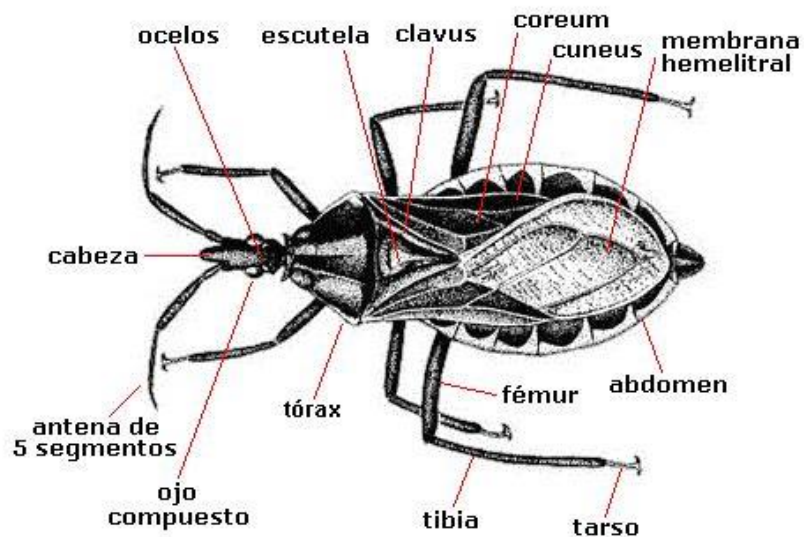


Figura 4: Vista dorsal de un triatominio, mostrando en general las partes que forman el cuerpo del insecto principalmente las tres regiones en las que se divide, cabeza, tórax y abdomen (López-Bello, 2013).

2.3.3 Ciclo de vida de los triatominos

El ciclo biológico de los triatominos es similar para todas las especies. Se reproducen a partir de los huevos que la hembra deposita una vez que esta es

fecundada; los huevos miden de 2-3mm, al inicio tienen un color blanco que cambian a color rosa cuando se completa la evolución del embrión. Desde que sale del huevo hasta su etapa adulta (formas aladas), los triatominos pasan por cinco etapas de crecimiento (estados ninfales), con cambios graduales (mudas) de tamaño y sin alas (Figura 5). Desde el estado de huevo hasta la etapa adulta, el ciclo evolutivo de los triatominos puede variar de ocho meses hasta un año. A partir de la etapa adulta los triatominos pueden vivir entre 1 y 2 años aproximadamente (López- Bello, 2013).

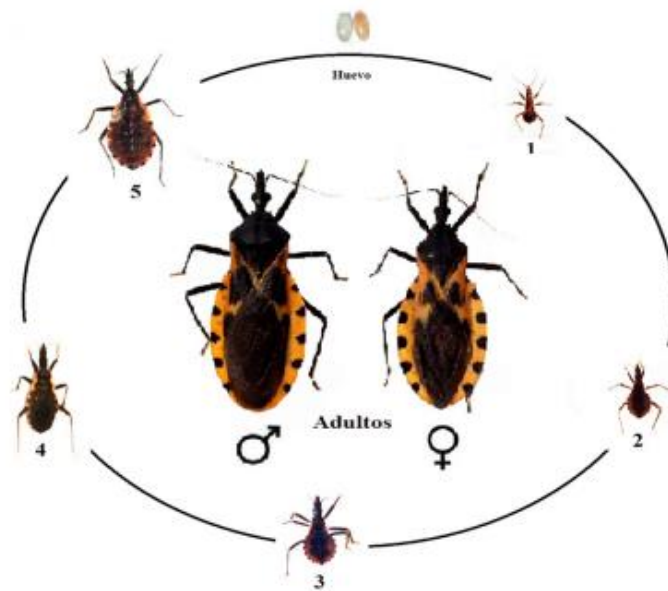


Figura 5. Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata*. El ciclo está integrado por huevo, cinco estados ninfales y la fase adulta (De Fuentes-Vicente *et al.*, 2016).

2.3.4 Vectores en México

En México se han registrado 32 transmisores de *Trypanosma cruzi*, diecinueve pertenecen al género *Triatoma* y seis géneros *Meccus*, dos especies al género *Panstrongylus* y una especie de cada uno de los siguientes géneros: *Belminus*, *Dipetalogaster*, *Eratyrys*, *Paratriatoma* y *Rhodnius*. Los géneros *Dipetalogaster* y *Meccus* y ocho especies del género *Triatoma* son exclusivos de México (Galvão *et al.*, 2003). Trece transmisores están relacionados a vivienda humana, dos han encontrado en el intradomicilio y once en el peridomicilio (Vidal-Acosta y Ibáñez-Bernal, 2000).

Se han considerado siete especies de triatomíneos como los principales vectores de *T. cruzi* debido a su distribución, abundancia, tasas de infección y hábitos domiciliarios (Ramsey *et al.*, 2015; Salazar-Schettino *et al.*, 2019). Estas especies consideradas son *Meccus pallidipennis* (Stål), *T. longipennis* (Usinger), *T. mazzotii* (Usinger), *T. gerstaeckeri* (Stål), *T. rubida* (Uhler), *T. barberi* (Usinger) y *T. dimidiata* (Latreille) (Ramsey *et al.*, 2015). La mayor parte de las infecciones por *T. cruzi* se atribuyen a estas especies, consideradas los vectores primarios (Rojo-Medina *et al.*, 2018). Sin embargo, se considera que varios vectores secundarios (p. ej., *T. lecticularia* (Stål) y *T. recurva* (Stål) y *T. protracta* (Uhler)) contribuyen en diferentes áreas geográficas debido a sus hábitos domiciliarios, altas tasas de infección y parámetros biológicos clave para la transmisión de *Trypanosoma cruzi* (Martínez-Ibarra *et al.*, 2010; Grant-Guillén *et al.*, 2018).

Además, las especies secundarias pueden sustituir a los vectores primarios, como ha ocurrido con la sustitución de *T. infestans* (Klug) (un vector primario) por *Panstrongylus megistus* (Burmeister), *T. sordida* (Stål), *T. brasiliensis* (Neiva) y *T. pseudomaculata* (Corrêa y Espínola) en diferentes zonas de Brasil y por *T. guasayana* (Wygodzinsky y Avalos), *T. platensis* (Neiva), *T. sordida* y *T. patagonica* Del Ponte en Argentina (Silveira 2014, Flores-Ferrer *et al.*, 2017). Uno de esos vectores secundarios es la especie recientemente descrita *T. huehuetenanguensis* (Lima-Cordón, Monroy, Stevens, Rodas, Rodas, Dorn, Justi) a partir de especímenes obtenidos en Guatemala. Estos especímenes fueron recolectados en ambientes domésticos cercanos a la selva tropical y tuvieron una tasa de infección por *T. cruzi* mayor del 90%, lo que sugiere un papel potencialmente importante en la transmisión de *T. cruzi* en la zona (Lima-Cordón *et al.*, 2019).

2.4 Ciclo de transmisión de la enfermedad de Chagas

Esta patología presenta tres ciclos de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en los que interviene el vector, el ciclo doméstico, ciclo peridoméstico y el ciclo selvático (Gulh, 2009).

Los ciclos de transmisión de la enfermedad de Chagas afectan a una amplia gama de huéspedes. Los ciclos silvestres y domésticos suelen estar físicamente próximos

entre sí, por lo que las cepas de *Trypanosoma cruzi* muestran movimientos continuos desde las viviendas humanas a los entornos silvestres y viceversa. El ciclo silvestre, se considera como el ciclo más primitivo (Camacho-Sierra, 2016), entre las principales especies de mamíferos denominados reservorios silvestres, podemos señalar las siguientes: zarigüeya, zorra gris, tejón, mapache, armadillo, ratón y diferentes especies de murciélagos (Herrera, 2010).

En cuanto al ciclo doméstico los principales reservorios del parásito son los seres humanos y perros; el peridoméstico integra gran variedad de mamíferos como roedores, marsupiales y perros, *Didelphis marsupialis* desempeña un papel epidemiológico muy importante en la transmisión del parásito estos a su vez se incorporan y salen libremente de las viviendas y triatomas selváticos atraídos hacia las casas por la luz y el alimento. Este ciclo sirve de nexo entre los ciclos doméstico y selvático (Gulh, 2009).

2.5 Reservorios de la enfermedad de Chagas

Noireau *et al.*, (2009) mencionan que el término reservorio se refiere en general a especies de mamíferos de vida salvaje que alojan un parásito, que son naturalmente infectados capaz de infectar a los humanos, en comparación de un huésped es un sistema vivo complejo, capaz de sufrir y ejercer presión selectiva sobre los parásitos de acuerdo a sus condiciones ambientales, jugando así distintos roles en el ciclo de transmisión.

Los mamíferos juegan un papel importante como reservorios, específicamente debido a su estrecha relación con los triatomos (Bar *et al.*, 1999). Una vez reconocida la Tripanosomiasis americana, desde que se encontró el parásito *T. cruzi* en un animal doméstico un gato en 1909 y después en un animal silvestre un armadillo en 1912, muchos investigadores en diversos países de América y diferentes épocas han encontrado *T. cruzi* en una gran variedad de animales domésticos, sinantrópicos y silvestres (Arista, 2007).

Se han descrito aproximadamente más de 200 especies de mamíferos silvestres reservorios del parásito (Camacho-Sierra, 2016), dichas especies de

mamíferos pertenecientes a los órdenes Didelphimorphia, Lagomorpha, Chiroptera, Rodentia, Pilosa, Cingulata, Carnivora, Primata y Perisodactyla; infecta también al hombre, además de padecer la enfermedad, actúa como reservorio (Herrera, 2010).

Los mamíferos salvajes y domésticos que son picados e infectados actúan como reservorios del parásito. Los marsupiales son considerados como los reservorios más ancestrales del *T. cruzi* las especies del género *Didelphis* son aptos de mantener simultáneamente amastigotes y epimastigotes, realizando la diferenciación en glándulas anales, otorgándole así, la característica de actuar como reservorio y vector del parásito, sugiriendo así, el posible mecanismo de transmisión antigua del parásito, antes de la intervención del triatmino en sus hábitos hematófagos (Palmezano *et al.*, 2015; Camacho- Sierra, 2016).

Por otro lado, este amplio rango de reservorios, la importancia epidemiológica como reservorios del *T. cruzi* varía según la región geográfica y de acuerdo con la biología y ecología de estos mamíferos y su interacción con triatminos vectores y el hombre. Aunque todas las especies de mamíferos son en teoría susceptibles a la infección con el *T. cruzi*, existen algunas que han adquirido mayor relevancia, por la capacidad que han demostrado de mantener el parásito circulando en la naturaleza a través del tiempo (Hoare, 1972).

III. ANTECEDENTES

El conocimiento de la enfermedad de Chagas en México está asociado directamente con la investigación de las zonas de dispersión de los triatminos que actúan como transmisores en la cadena epidemiológica de este padecimiento. Por otro lado, es preciso continuar extendiendo y actualizando las investigaciones epidemiológicas efectuadas para comprender mejor su dinámica. Algunos trabajos sobre la presencia de insectos y su infección en zonas endémica se muestran a continuación:

En 2004 Sandoval-Ruiz llevó a cabo un estudio sobre la existencia de triatominos intradomiciliarios, con la finalidad de determinar el índice de infección natural de *Trypanosoma cruzi*, obteniendo como resultados que la especie *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) revela un importante índice de infestación y colonización domiciliaria.

Salazar-Schettino *et al.* (2005) abordaron los índices de infección natural con *Trypanosoma cruzi* en diferentes especies del género *Triatoma*, y como resultado obtuvieron que el índice más bajo pertenecía a *T. dimidiata*.

Por otro lado, en 2012 Benítez-Alva *et al.* revisaron la distribución de los triatominos asociados con la vivienda humana, así como la infección natural con *Trypanosoma cruzi*. Estos datos se emplearon para producir mapas de distribución de los triatominos, así como la estratificación de posibles zonas de riesgo por colonización de triatominos. Se examinaron un total de siete especies de las cuales *Triatoma barberi*, *Meccus longipennis* y *M. pallidipennis* fueron las que presentaron un mayor índice de infección por *T. cruzi*, mientras tanto *M. pallidipennis* y *T. dimidiata* fueron las más ampliamente distribuidas.

En 2019 Lima-Cordón *et al.* describe una nueva especie del género *Triatoma* Laporte, 1832 (Hemiptera, Reduviidae) a partir de especímenes colectados en el departamento de Huehuetenango, Guatemala. *Triatoma huehuetenanguensis* sp. n. está estrechamente relacionado con *T. dimidiata* (Latreille, 1811), con las siguientes diferencias morfológicas principales: color más claro; tamaño total más pequeño, incluida la longitud de la cabeza; y ancho y largo del pronoto. *T. huehuetenanguensis* se recolectó tanto en ambientes peridomésticos como intradomésticos. La alta infección natural con *T. cruzi* (> 90% de los especímenes) lo que sugiere que es un vector potencialmente importante y su papel en la enfermedad de Chagas.

En 2021 Michael- Parra *et al.* realizaron un censo de triatominos en diferentes

pueblos pequeños cerca de la frontera de México con Guatemala para determinar qué especies se encontraban en el área. Uno de esos pequeños pueblos fue El Ixcán, situado en el municipio de Ocosingo en el estado de Chiapas. Se recolectaron diecinueve especímenes adultos de *T. huehuetenanguensis* de cinco viviendas humanas ubicadas cerca de una selva tropical preservada, todos fueron recolectados cerca (<50 m) del área selvática. Las casas allí estaban construidas con materiales endebles, como paredes y puertas de tablas de madera, láminas de metal y techos de cartón, que apenas evitaban la infestación por triatominos. La prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* fue del 78.95% (15/19).

Espinosa-González *et al* 2022 inspeccionaron un total de 308 viviendas de Tuxtla Gutiérrez en las estructuras intra y peridomésticas, de las cuales solo tres casas (0,97%) estaban infestadas con triatominos. *Triatoma huehuetenanguensis* fue la única especie de triatominos registrada, se recolectaron cuatro machos. Ninguno de los insectos dio positivo para la infección por *Trypanosoma cruzi*.

Por otro lado, Goldsmith en 1972, llevo a cabo encuestas epidemiológicas en los estados de Oaxaca y Chiapas, probablemente esta sea la primera encuesta epidemiológica sobre la enfermedad de Chagas en el estado, aunque fue hasta 1983 que publicó los resultados seronegativos en 54 individuos de la zona de Palenque y sus alrededores; además, reportó que en 1976 el Programa Nacional de lucha contra el paludismo efectuó un estudio para identificar casos de paludismo en Chiapas, dentro de estos el hallazgo y notificación fueron de 24 muestras positivas a *Trypanosoma cruzi* en frotis de sangre.

En 1976 Ortega *et al.* llevo a cabo un estudio clínico-epidemiológico en las localidades de León Brindis y Agua Azul Chiquito, ubicados en el municipio de Palenque, donde reportaron un caso probable agudo con signo de Romaña y otro con alteraciones electrocardiográficas compatibles con la enfermedad de Chagas. En este estudio se colectaron 150 ejemplares de *Rhodnius prolixus*, siendo la mayoría ninfas del 4° y 5° estadio; se revisaron 21 triatominos procedentes de León Brindis y 24 de Agua Azul Chiquito, determinándose en los ejemplares la infección

por *Trypanosoma cruzi*, de 9.5% y 25% respectivamente.

En 2001 Mazariego-Arana *et al.* realizaron una encuesta serológica en cuatro zonas geográficas de Chiapas, con el propósito de actualizar los datos seroepidemiológicos en el estado. Como resultados obtuvieron que la tasa de seroprevalencia difirió entre las áreas geográficas. El Bosque (Lacandona) tuvo un nivel más alto con 32%, seguido de las Montañas Centrales con 13.8% y en la Costa solo con 1.2%, no se detectaron casos seropositivos en los 137 individuos recolectados en Mesochiapas.

Por otro lado, en 2021 Cruz-Alegría *et al.* llevó a cabo un estudio sobre la prevalencia y conocimiento de la Enfermedad de Chagas en comunidades del sureste de México, en donde se observó que menos de la mitad de la población encuestada mencionaron conocer al insecto vector de la enfermedad.

Algunos trabajos sobre mamíferos en la transmisión zoonótica de *T. cruzi* se encuentran a continuación:

El papel de mamíferos silvestres en el ciclo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* es poco conocido; después del hallazgo de los dos primeros casos oficiales de la enfermedad de Chagas por Luis Mazzotti (1940) en Oaxaca, desencadenó una serie de investigaciones enfocadas en la actividad del parásito y del vector en la infección humana. Años después Aguirre Pequeños (1947) encontró el primer reservorio silvestre de *T. cruzi* en México, en un marsupial *Didelphis marsupialis* el cual destaca la importancia de empezar estudios enfocados a reservorios de dicho ciclo (Velasco-Castrejón y Rivas Sánchez, 2008).

A su vez, En 1990 Domínguez *et al.* desarrollaron uno de los primeros trabajos de infección por *T. cruzi* en reservorios silvestres en la reserva ecológica el “Zapotal” en Chiapas, donde colectaron 73 individuos de ocho diferentes especies de mamíferos a los cuales les realizaron pruebas xenodiagnósticas, y con el 11 % de positividad determinaron la existencia de un ciclo silvestre de infección mantenido por especies de mamíferos silvestres. En el estado de Yucatán se han efectuado

investigaciones de esta índole, en 1996, Zavala-Velázquez y colaboradores realizaron estudios serológicos e histológicos a 372 individuos mamíferos, tanto silvestres como sinantrópicos en donde se obtuvo una alta frecuencia de infección en mamíferos silvestres en comparación con los sinantrópicos y determinaron que mamíferos como *Canis familiaris*, *D. marsupialis*, y *Rattus rattus*, juegan un papel importante en el mantenimiento del ciclo de infección doméstico y su vínculo con el ciclo silvestre.

Por otro lado, Gómez (2021) realizó un estudio sobre la estandarización y detección molecular de *Trypanosoma cruzi* en mamíferos en la reserva ecológica El Zapotal, el cual capturo 152 mamíferos silvestres de los cuales 110 fueron quirópteros de once especies diferentes y para los mamíferos medianos y pequeños con un total 42 individuos pertenecientes a cuatro especies de familias diferentes, como resultado obtuvo una prevalencia de infección por *T. cruzi* del 28.57% en mamíferos medianos y pequeños, una prevalencia del 16.36% en quirópteros y una prevalencia del 19.73% del total de la fauna silvestre muestreada (152 individuos) por lo tanto el parásito es mantenido por mamíferos considerados como sus reservorios naturales. Por lo tanto, es necesario realizar más estudios para determinar la importancia de estos animales en la transmisión zoonótica de *T. cruzi*.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar algunos aspectos de la epidemiología de la enfermedad de Chagas en el municipio El Parral, Chiapas.

4.2 Objetivos específicos

- Identificar la especie de triatomino que se encuentra en el municipio El Parral, Chiapas.
- Determinar la presencia de *T. cruzi* en triatominos colectados en el municipio El Parral, Chiapas.
- Estimar el conocimiento que tienen los habitantes sobre componentes de la enfermedad de Chagas del municipio El Parral, Chiapas.

V. ZONA DE ESTUDIO

5.1 Ubicación y características bióticas

Los puntos de estudio se localizan en el municipio El Parral, Chiapas. El muestreo se llevó a cabo en cinco sitios, en una cueva (sima del órgano), en sitios de selva que incluyen las rancherías El Palmar y Los Laureles y sitio de acahual que incluye el rancho el Manguital y la Reserva la Chachalaca (Figura 6). El municipio El Parral se encuentra dentro de la Depresión Central de Chiapas, localizada entre las coordenadas 16° 22' 7" latitud Norte, 93° 0' 24" longitud Oeste, su altitud va desde los 642 msnm (Montesinos, 2016), cubriendo un área de 365,50 kilómetros cuadrados (141,12 millas cuadradas). Limita con los municipios de Chiapa de Corzo al norte, Venustiano Carranza al este, Villa Corzo al sur y Villaflores al oeste. El clima predominante es cálido subhúmedo con las lluvias de verano, seguido por el clima semi-cálido húmedo, con las lluvias abundantes de verano. En los meses de mayo a octubre presenta una temperatura mínima promedio que oscila entre los 12 y 21 °C, y la temperatura máxima promedio oscila entre los 21 y 34,5 °C. La precipitación pluvial en estos meses oscila entre los 1.000 y 2.600 mm. En el periodo de noviembre a abril la temperatura mínima promedio varía entre 9 y 15 °C, y la máxima promedio de 21 a 33°C. Durante estos meses la precipitación pluvial oscila entre 23 mm y 300 mm (Guevara-Hernández, *et al*; 2020).

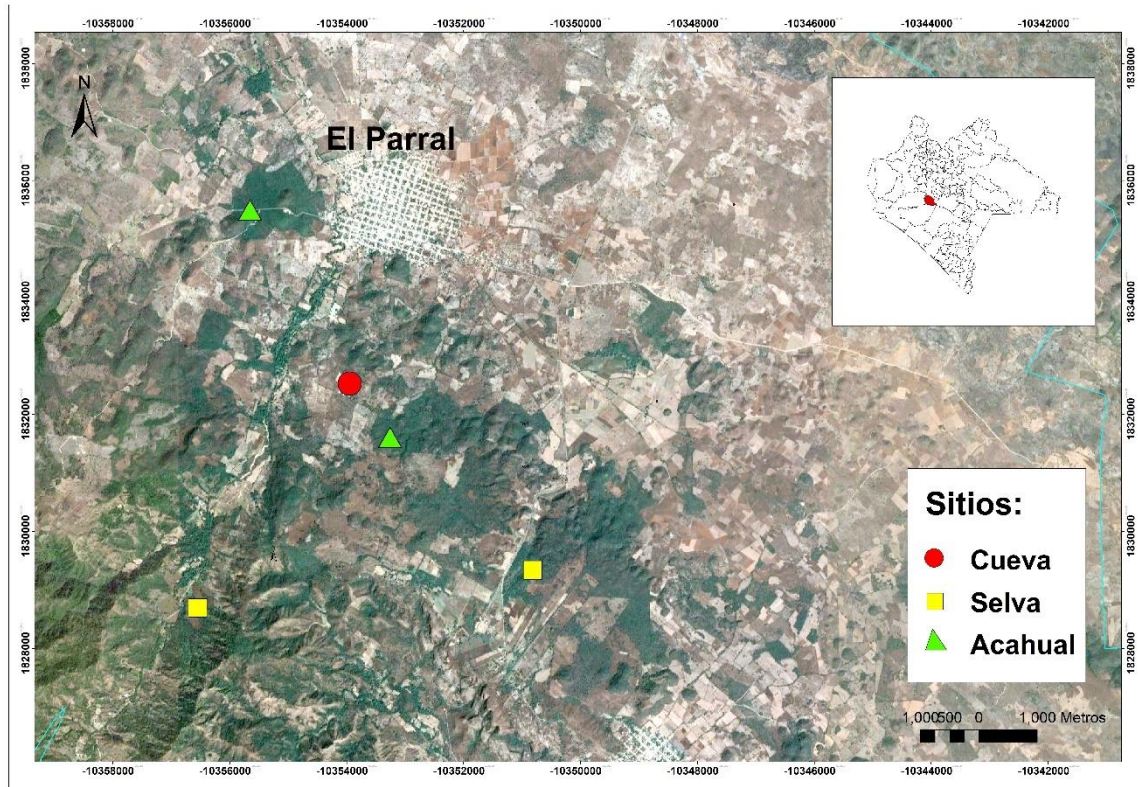


Figura 6. Ubicación del municipio El Parral, Chiapas y los sitios de estudio muestreados.

5.2 Vegetación

En esta zona, por su tipo de vegetación y la historia de su uso de suelo ha sido una de las más transformadas de Chiapas. La selva seca fue, originalmente, el principal tipo de vegetación; así mismo, en la actualidad y debido a los cambios en el uso del suelo registrado en el área se encuentran grandes extensiones de sabana compuestas por *Acacia farnesiana* y *Mimosa tenuiflora* y áreas de cultivo de maíz y frijol (Pérez-Farrera y Espinoza, 2010). El Parral consiste principalmente en tierras de cultivo y pastizales, aunque quedan parches aislados de bosque y selva. La cobertura vegetal y el aprovechamiento del suelo en el municipio se distribuye de la siguiente manera: Agricultura de temporal, Selva baja caducifolia (secundaria), Pastizal cultivado, Selva mediana subcaducifolia (secundaria) y Selva mediana subperennifolia (secundaria). (Montesinos, 2016).

5.3 Fauna

En muchas de las áreas donde se distribuye la selva baja en el país, los estudios enfocados a fauna silvestre son muy escasos. El municipio El Parral es de raíces ganaderas, por lo tanto, dentro de la fauna lo más común que se puede encontrar es el ganado vacuno (vacas), ovino (borregos), porcino (puercos). Existen algunos trabajos en los que se menciona la herpetofauna de esta región y donde se registran por lo menos 85 especies para la región de la Depresión de Chiapas, con un 15% de endemismo y 39% de riesgo. Se reportan 296 especies de aves para la región entre las que se incluyen 37 migratorias de invierno y 259 residentes. Por último, la región alberga alrededor de 96 especies de mamíferos representando a 23 familias. Prácticamente el 50% de la mastofauna de la región está compuesta por el orden Chiroptera (48 especies). Algunos ejemplos de especies de mamíferos no voladores de mayor frecuencia en la región son *Didelphis marsupialis*, *Philander opossum*, *Chironectes minimus*, *Marmosa mexicana*, *Cryptotis merriami* y *Cabassous centralis*, entre otras (Pérez-Farrera y Espinoza, 2010).

VI. MÉTODO

6.1 Trabajo de campo

6.1.1 Captura de insectos triatominos

Para la captura de triatominos se usaron trampas de luz, estas trampas son utilizadas para la colecta de especímenes con diferentes fines. Se usa de manera convencional, colectando manualmente los insectos de interés que se posan sobre la superficie blanca e iluminada y transfiriéndolos directamente a un recipiente (Nielsen, 2003). Las trampas fueron colocadas en el extracto bajo enfocadas hacia la vegetación y se colocaron desde las 7:30pm, y se estuvieron revisando cada media hora desde las 8:00pm hasta las 12:00am. El periodo de captura fue de enero a julio del 2022. Los triatominos encontrados fueron capturados en frascos con tapa mientras se trasladaban al Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Molecular (LiDIAM) en la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

6.1.2 Captura de mamíferos

Se realizaron muestreos en una cueva en la sima del órgano del Municipio El Parral, Chiapas contempladas dentro de los sitios de estudio ya antes mencionada, está ubicada en las siguientes coordenadas 49°88'13" E, 180°69'41" N. El muestreo se llevó a cabo en los meses de enero a julio del 2022.

- a) En mamíferos terrestre se utilizaron 20 trampas tipo Tomahawk para mamíferos medianos (de tamaño menor a 1 o 2 kg) y 5 trampas Sherman para mamíferos pequeños (Romero-Almaraz *et al.*, 2000) empleando como cebo una mezcla de avena/extracto de vainilla el muestreo se realizó en un día de 8 horas.
- b) Para mamíferos voladores se utilizó trampas de arpa modificadas, el muestreo se realizó en un día y permanecieron abiertas desde las 10:30 pm a 12:00 am (Figura 7).

El manejo de los mamíferos colectados fue con guantes de carnaza para evitar mordeduras. Los mamíferos voladores se identificaron taxonómicamente utilizando la clave especializada de Medellín *et al* (2008) y para mamíferos terrestres se hizo uso de la guía de mamíferos de Reid (2009).



Figura 7. Trampa de arpa modificada utilizada para la captura de mamíferos voladores.

6.2 Toma de muestras

Las muestras consistieron de extracciones sanguíneas de los ejemplares capturados como especifica Romero-Almaraz *et al.* (2000). En mamíferos pequeños y medianos la sangre se obtuvo por medio de una pequeña incisión en la cola y para los mamíferos voladores se obtuvo por punción intracardiaca con ayuda de jeringas para insulina U-100 de 0.3 mL 31Gx6MM.

Las muestras obtenidas fueron etiquetadas conforme los individuos fueron capturados; posteriormente fueron transportadas en hieleras y trasladadas al Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Molecular (LiDIAM) en la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas y fueron conservadas en refrigeración a -4°C.

6.3 Aplicación de encuestas

Para la obtención de información sobre algunos aspectos de la epidemiología de la enfermedad, se aplicó una encuesta epidemiológica (Anexo 1) en la comunidad El Parral a partir de jóvenes mayores de edad, adultos y adultos mayores. Dicha encuesta estaba constituida por preguntas abiertas, que buscaban recabar información sobre: la percepción y conocimiento del vector, la enfermedad, reservorios (animales domésticos y de corral) y condiciones de la vivienda; para el análisis de las encuestas, se empleó el programa Epi Info versión 7.2.5.0.

6.4 Trabajo de laboratorio

6.4.1 Determinación de la infección de *T. cruzi* en triatominos

Una vez que los insectos fueron trasladados al laboratorio y mantenidos en una incubadora a 24 °C y 70 % de humedad, se obtuvieron muestras del contenido rectal de cada triatomo colectado aplicando presión en el área abdominal. Las heces fueron diluidas en solución salina fisiológica y luego observadas en el microscopio óptico empleando el objetivo 40x para determinar la presencia de tripomastigotes metacíclicos de *T. cruzi* en la materia fecal de los triatominos. Se consideró como positivo cuando se observó al menos a un flagelado.

6.4.2 Morfometría lineal

Para el análisis morfométrico se llevó a cabo el montaje de los ejemplares separándolos en partes clave (cuerpo, alas y probóscide) sobre portaobjetos, empleando discos de silicón para su adhesión y para lograr una observación óptima al realizar cada medición. Tras su montaje se utilizó una cámara Canon T4 con lente de 18x135mm para obtener imágenes de cada parte a medir de los ejemplares, que posteriormente se procesaron con el programa para morfometría ImageJ versión 1.8.0 en el que se marcaron las mediciones siguientes (Figura 8).

- Largo de la probóscide (L)
- Ancho de la probóscide (A)
- Largo del pronoto (L)
- Ancho del pronoto (A)
- Largo de la cabeza (L)
- Diámetro del ojo (D)
- Longitud total del cuerpo (LT)
- Largo primer par de alas (L)
- Largo segundo par de alas (L)
- Distancia de la sintlipsis (D)

Las medidas registradas fueron sometidas a análisis de varianza (ANOVA) en el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI.

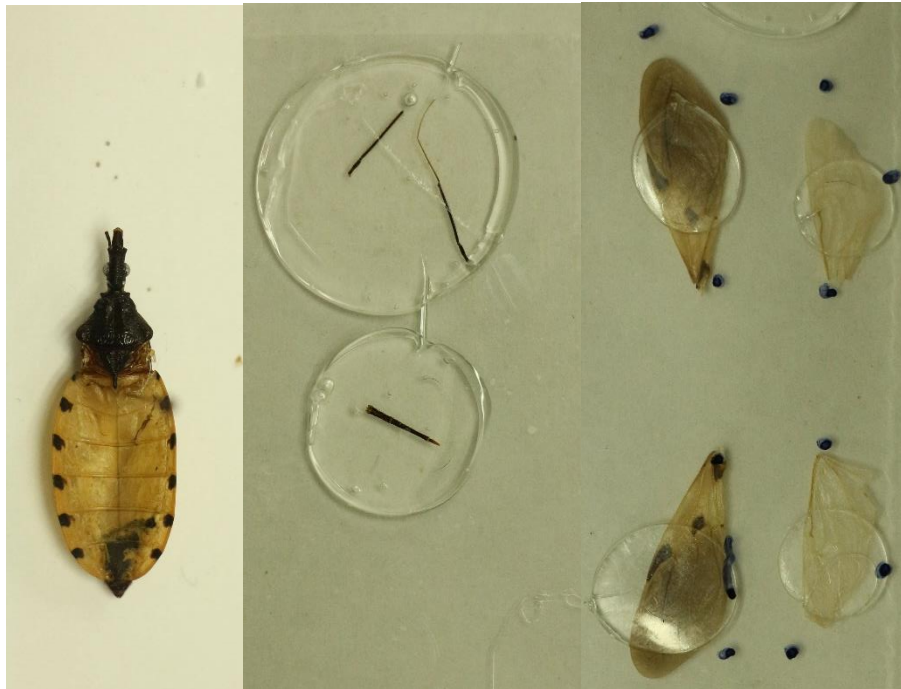


Figura 8. Montaje optimizado para medir estructuras de los ejemplares triatominos.

6.5 Extracción de ADN

Las extracciones de ADN se analizaron con el método de Lisis celular-Fenol-Cloroformo, para ello primero se rotularon tubos de microcentrifuga de 1.5 de acuerdo a la clave de la muestra, posteriormente se agregaron a los tubos 360 μ l de EDTA 0.5 (pH 8.0) + 13 μ l de SDS al 10%+ 25 μ l de Tris HCl 0.1M (pH 8.0); luego se le agrego la muestra de sangre para este método la cantidad de sangre utilizada fue de aproximadamente 50 μ l y se le agrego 13 μ l de proteinasa K 10 mg/ml; las muestras se taparon bien y se llevaron a vortex por 20 segundos, por último se dejaron en baño seco por 24 horas a 55°C. pasando este tiempo se agregaron a cada tubo 1 μ l de RNAasa a una concentración de 10 mg/ml y se dejó a baño seco por una hora y media a 37°C; posteriormente pasando el tiempo se dejaron enfriar a temperatura ambiente por cinco minutos. Después se le agrego a cada tubo 350 μ l de acetato de amonio 7.5 M y se agitaron en el vortex por 20 segundos para lograr que las muestras se precipitaran; una vez precipitados las muestras se centrifugaron por cinco minutos a 14 000 revoluciones por minuto (rpm). El sobrenadante se colocó en tubos nuevos rotulados se le agregaron 600 μ l de alcohol puro frio, las

muestras se colocaron a una temperatura a -20°C durante dos días para obtener una mayor concentración de ADN. Nuevamente se centrifugaron y se desechó el sobrenadante para obtener un pellet al cual se le añadieron 125 µl de alcohol etílico al 80%, se dejó reposar por 2 minutos para que se reiniciará su hidratación del ADN, nuevamente se centrifugo y se desechó el sobrenadante dejándolos evaporar por media hora, una vez el alcohol evaporado completamente se le añadió 100 µl de agua estéril, después de ese paso se visualizaron en gel de agarosa al 1% P/V.

Para determinar la presencia o ausencia de *Trypanosoma cruzi* en los triatomos colectados, además del diagnóstico microscópico, se realizó diagnóstico molecular por PCR. El ADN genómico del parásito se buscó en las heces de los triatomos, utilizando el mismo método ya antes mencionado.

6.6 Amplificación del Gen mini exón para determinar linaje

El ADN extraído se amplifico por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR (por sus siglas en inglés) utilizando tres oligonucleótidos reportados por Fernández *et al.*, (1998) y Mejía y Triana (2005) que amplifica un espaciador intergénico de los genes mini exón de *Trypanosoma cruzi*; Tc (5'CCC CCC TCC CAG GCC ACA CTG'3), TcI que amplifica un fragmento de 350pb (5'GTG TCC GCC ACA ACC TCC TTC GGG CC'3) y TcII que amplifica un fragmento 300pb (5'CCT GCA GGC ACA CGT GTG TGTG'3). Como controles positivos se emplearon dos cepas (TcI) con 350 pb y (TcII) con 300 pb y como control negativo se utilizó agua libre de nucleasas. Las condiciones de amplificación fueron, 4:30 minutos a 94°C seguido de 30 ciclos de 40 segundos a 94°C, 40 segundos a 61°C, 1 minuto a 72°C y cinco minutos a 72°C. Además, se realizó dos PCR más con las mismas condiciones utilizando los oligonucleótidos por separado, es decir se utilizó Tc y TcI para determinar la presencia del linaje *T. cruzi* II y los oligonucleótidos Tc y TcII para determinar la presencia del linaje *T. cruzi* I. Los productos amplificados se visualizaron en geles de agarosa al 2 % P/V teñidos con bromuro etidio y el marcador ADN Ladder Invitrogen TM de 50 pb.

VII. RESULTADOS

Los resultados muestran que se capturaron un total de 12 triatominos, 4 hembras y 8 machos en los sitios de estudio, solamente en el Rancho el Manguital no se encontraron triatominos. Los ejemplares colectados fueron identificados de acuerdo a las claves de Lima-Cordón *et. al*/2019, en su descripción sobre la especie *Triatoma huehuetenanguensis*, en esta especie es notorio su colorido marrón, con el conexivo y el corium de amarillo a amarillo pálido, en la parte ventral el color es amarillo claro (Figura 9), la terminalia en machos es casi cuadrada y más oscura que el resto del tegumento, en las hembras es pálido y muy puntiagudo (Figura 10).

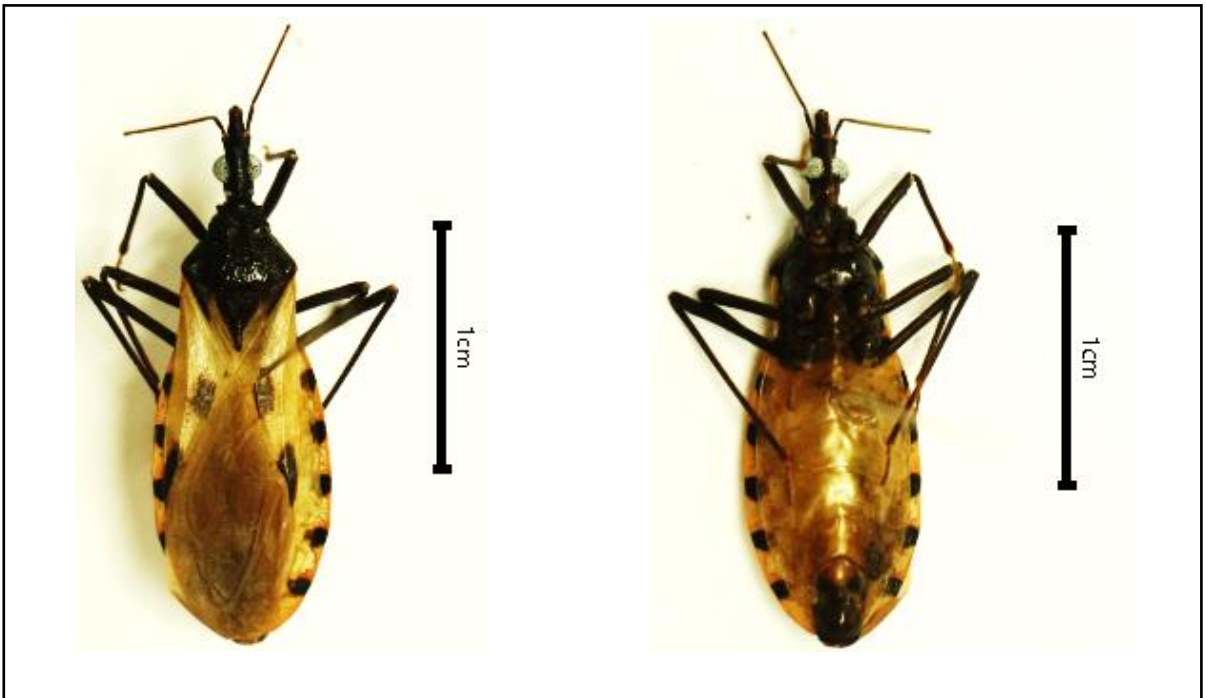


Figura 9. Vista dorsal y ventral de *Triatoma huehuetenanguensis* (Macho).



Figura 10. Detalle de la genitalia externa de *Triatoma huehuetenanguensis*. Macho (Izq.) Hembra (Der.).

Se hallaron diferencias significativas entre machos y hembras en los resultados obtenidos para cada una de las variables contempladas (cuadro 1) en donde se observa que las hembras presentan un mayor tamaño total del cuerpo que en machos (Figura 17).

Cuadro 1. Medias (\bar{X}) y desviación estándar (σ) de 10 rasgos morfológicos de *T. huehuetenanguensis* del municipio El Parral, Chiapas.

<i>T. huehuetenanguensis</i>		
Caracteres morfológicos	Hembras (mm)	Machos (mm)
	(\bar{X}) y (σ)	(\bar{X}) y (σ)
Probóscide (L)	5.59 (0.13)	5.28(0.31)
Probóscide (A)	0.43(0.02)	0.41(0.03)
Pronoto (A)	5.76(0.31)	5.45(0.41)
Pronoto (L)	3.85(0.04)	3.70(0.30)
Cabeza (L)	4.52(0.12)	4.04(0.17)
Ojo (D)	1.04(0.05)	1.05(0.10)
Cuerpo (LT)	27.53(1.22)	23.56(1.33)
1º par de alas (L)	13.32(0.32)	12.38(0.71)
2º par de las (L)	18.42(0.71)	16.96(0.68)
Sintlipsis (D)	0.99(0.076)	0.91(0.08)

Los resultados encontrados para la variable Largo y ancho de la probóscide marcaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre sexos (Figura 11 y 12).

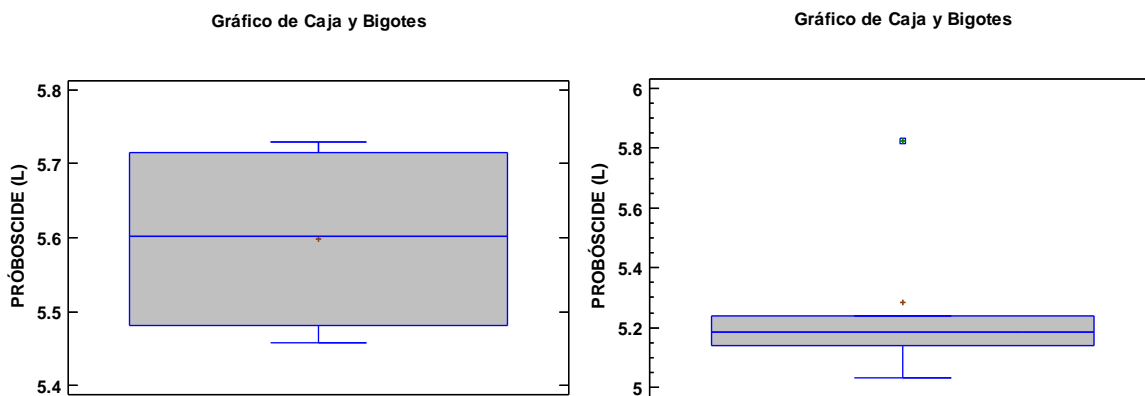


Figura 11. Comparación del largo de la probóscide entre sexos. Hembras (Izq). Media= 5.59, machos (Der.) Media=5.28, con un nivel de confianza de 95%.

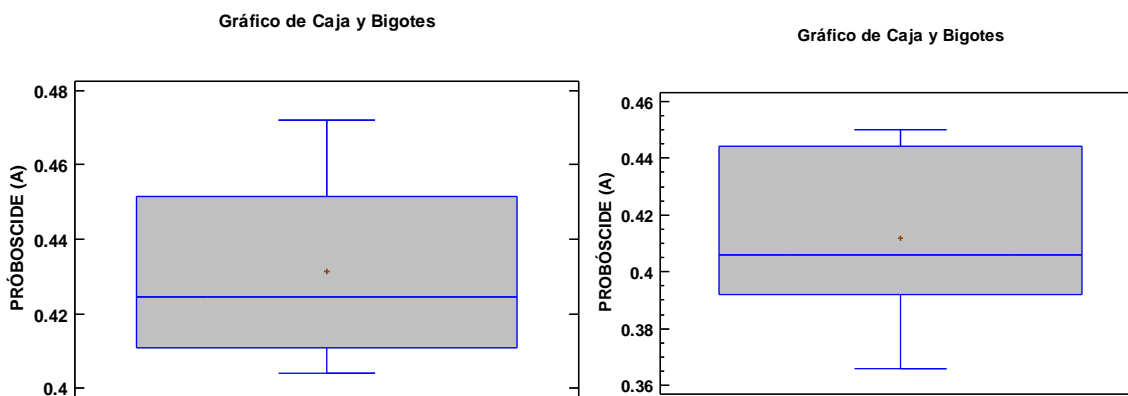


Figura 12. Comparación del ancho de la probóscide entre sexos. Hembras (Izq). Media= 0.43, machos (Der.) Media=0.41.

Los resultados obtenidos para la variable Largo y ancho del pronoto indicaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre sexos (Figura 13 y 14).

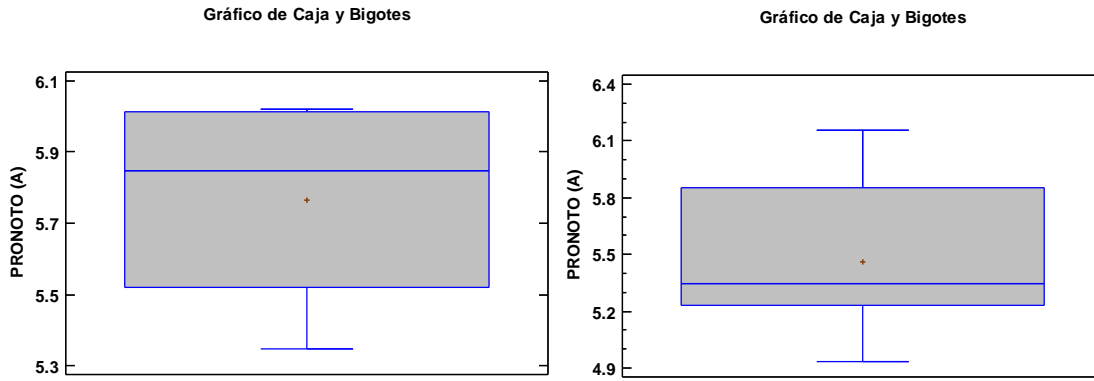


Figura 13. Comparación del ancho del pronoto entre sexos. Hembras (Izq). Media=5.76, machos (Der.) Media=5.45, con un nivel de confianza de 95%.

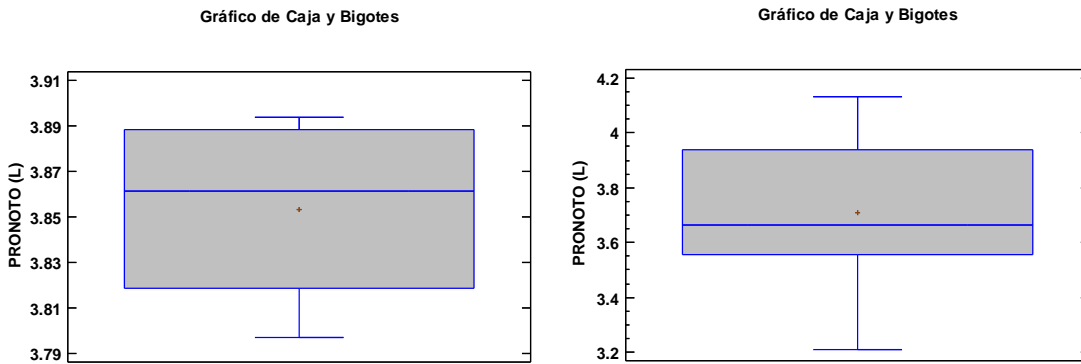


Figura 14. Comparación del largo del pronoto entre sexos. Hembras (Izq). Media=3.85, machos (Der.) Media=3.70, con un nivel de confianza de 95%.

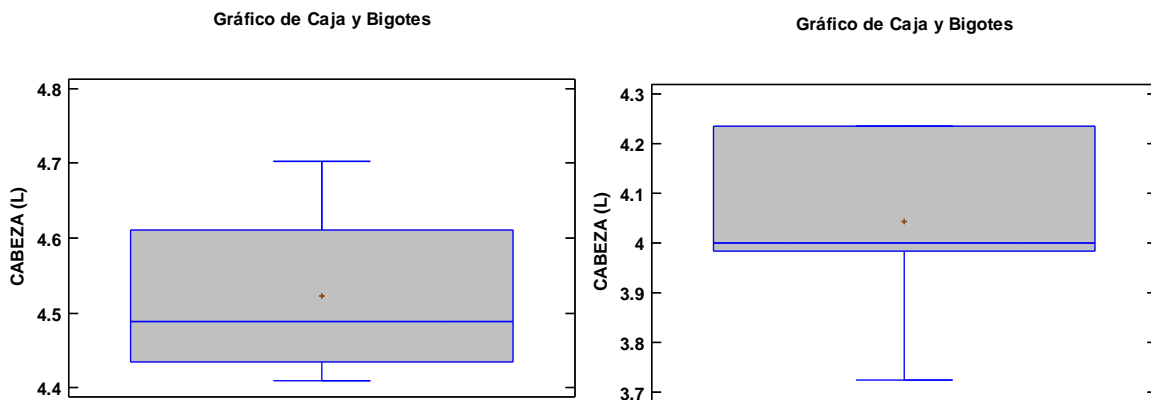


Figura 15. Comparación del largo de la cabeza entre sexos. Hembras (Izq). Media=4.52, machos (Der.) Media=4.04, con un nivel de confianza de 95%.

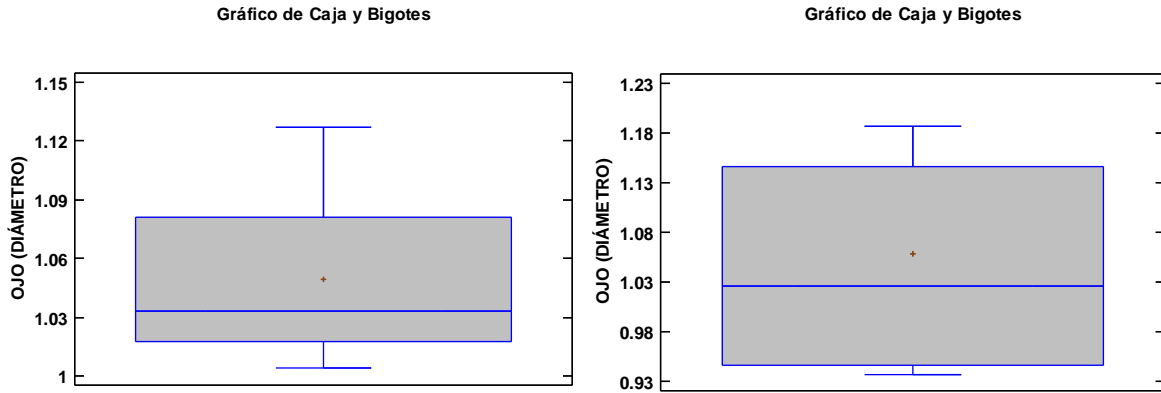


Figura 16. Comparación del diámetro del ojo entre sexos. Hembras (Izq). Media=1.04, machos (Der.) Media=1.05, con un nivel de confianza de 95%.

Los resultados encontrados para la variable Largo total del cuerpo marcaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre sexos (Figura 17).

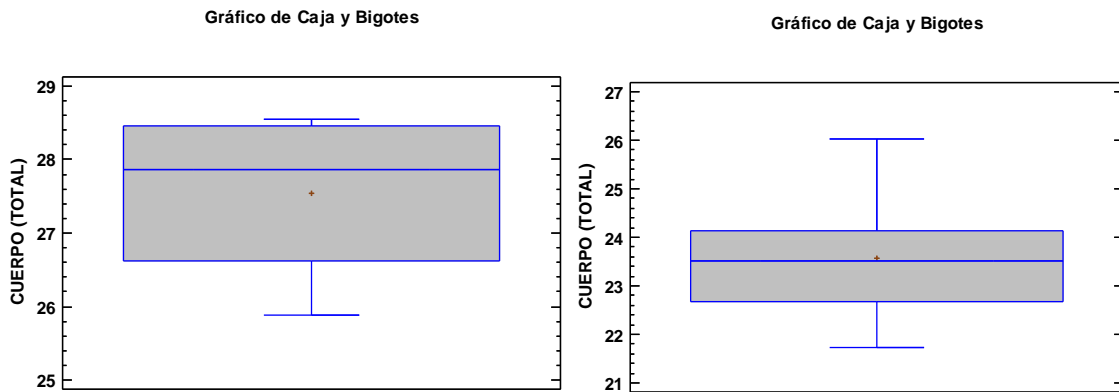


Figura 17. Comparación de la longitud total del cuerpo entre sexos. Hembras (Izq). Media=27.53, machos (Der.) Media=23.56, con un nivel de confianza de 95%.

Los resultados obtenidos para la variable Largo del 1er y 2do par de alas marcaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre sexos (Figura 18 y 19).

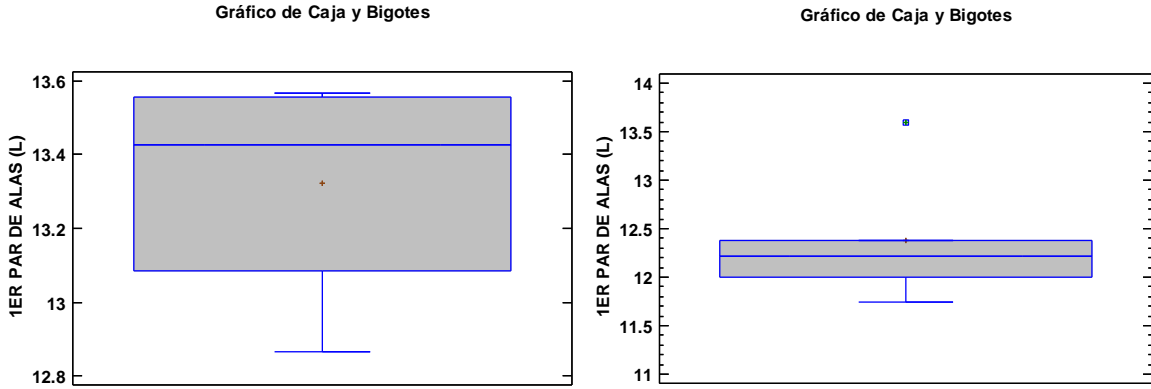


Figura 18. Comparación del largo del 1er par de alas entre sexos. Hembras (Izq). Media=13.32, machos (Der.) Media=12.38, con un nivel de confianza de 95%.

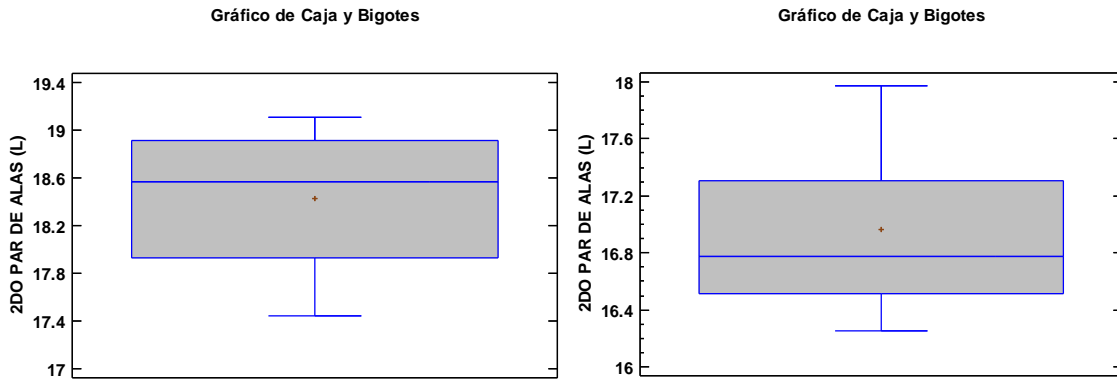


Figura 19. Comparación del 2do par de alas entre sexos. Hembras (Izq). Media=18.42, machos (Der.) Media=16.96, con un nivel de confianza de 95%.

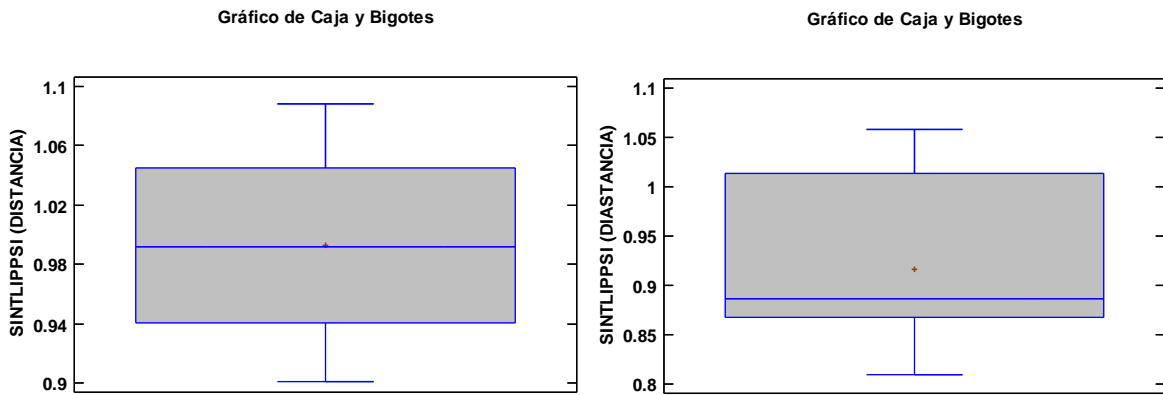


Figura 20. Comparación de la distancia sintlipssi entre sexos. Hembras (Izq). Media=0.99, machos (Der.) Media=0.91, con un nivel de confianza de 95%.

En cuanto al análisis coproparasitológico se evidenció que cinco ejemplares resultaron infectados con *Trypanosoma cruzi*, lo que corresponde al 41.67%. De los 4 sitios infestados con triatomíneos (Figura 21), solamente en la cueva no se observó infección con *T. cruzi* en los insectos (Cuadro 2).

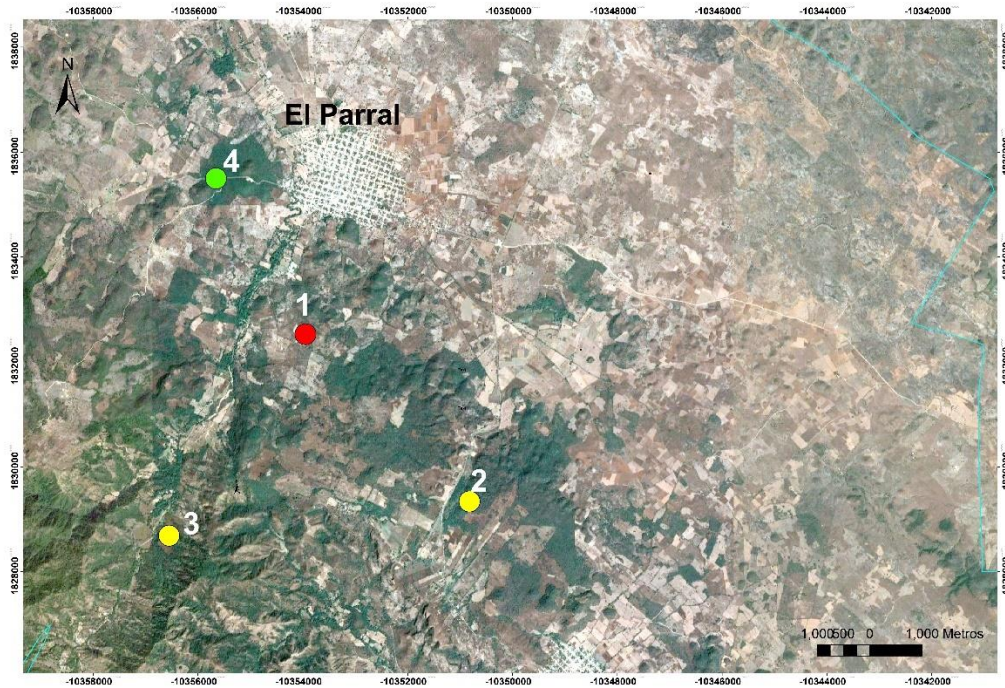


Figura 21. Ubicación de los sitios donde se capturaron triatomíneos. El punto 1: corresponde a la cueva, los puntos 2 y 3: corresponden a los sitios de selva y el punto 4 corresponden al sitio de Acahual (Reserva la Chachalaca).

Cuadro 2. Porcentaje de infección natural de triatomíneos con *Trypanosoma cruzi* por sitio de colecta.

Sitio de colecta	Especie	No. De individuos	Infección con <i>Trypanosoma cruzi</i>	Porcentaje de individuos infectados
Punto 1: Sima del órgano (Cueva)	<i>T. huehuetenanguensis</i>	1	0	0%

Punto Rancho Laureles (Selva)	2: los	<i>T. huehuetenanguensis</i>	6	2	33.33%
Punto Rancho Palmar (Selva)	3: El	<i>T. huehuetenanguensis</i>	3	2	66.67%
Punto Reserva chachalaca (Acahual)	4: la	<i>T. huehuetenanguensis</i>	2	1	50%
Total			12	5	41.67%

En cuanto a la captura de mamíferos terrestres considerando las 20 trampas tipo Tomahawk para mamíferos medianos y las 5 trampas Sherman para mamíferos pequeños, no cayó ningún ejemplar, debido a esto solo se consideró la captura de mamíferos voladores el cual se capturaron un total de 34 quirópteros de tres especies diferentes (cuadro 3), dos especies corresponden a la familia Mormoopidae y una de la familia Phyllostomidae. Dentro de los mormoópidos *Pteronotus psilotis* y *Pteronotus fulvus* son del tipo de alimentación principalmente insectívora y *Leptonycteris yerbabuena*, que pertenece a la familia Phyllostomidae suele ser una especie nectívora.

Cuadro 3. Familia y especies de mamíferos voladores capturados.

Familia	Especie	No de individuos
Phyllostomidae	<i>Leptonycteris yerbabuena</i>	4
Mormoopidae	<i>Pteronotus psilotis</i>	22
	<i>Pteronotus fulvus</i>	8
Total		34

Las extracciones de ADN realizadas por el método de Fenol-Cloroformo mostraron bandas poco definidas, sin embargo, se logran ver bandas con ADN (Figura 22 y 23).

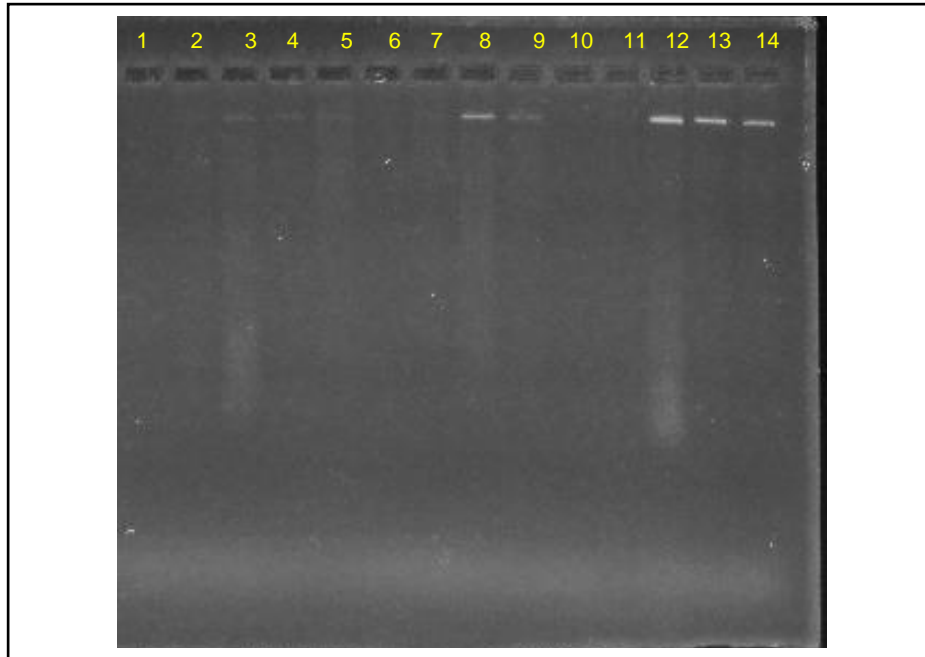


Figura 22. Electroforesis en gel de agarosa al 1% P/V de extracciones de ADN genómico de murciélagos conservadas en citrato de sodio al 3.8% pH 7.2, realizados por el método de Fenol-Cloroformo.

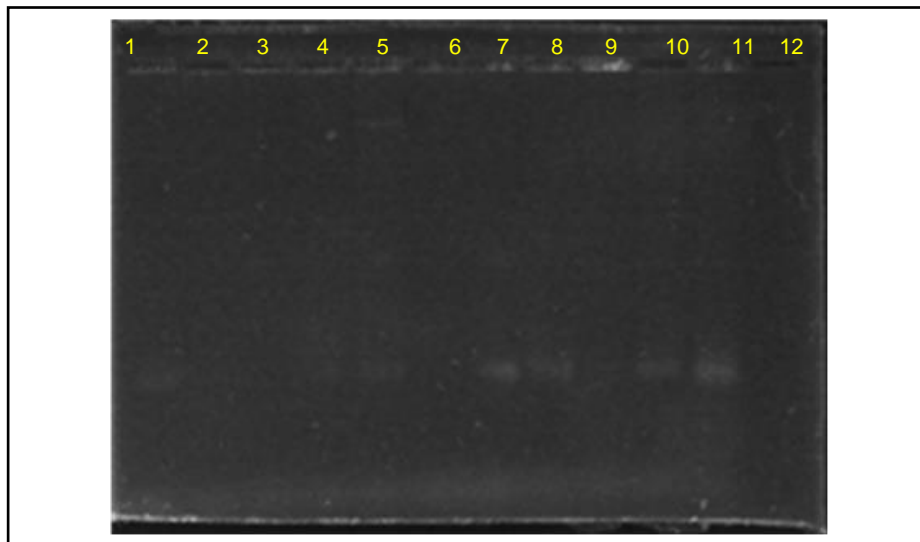


Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa al 1% P/V de extracciones de heces de triatominos, realizados por el método de Fenol-Cloroformo.

En murciélagos se realizó una PCR múltiple empleando los tres oligonucleótidos ya mencionados para amplificar una región intergénica de los genes mini exón de *Trypanosoma cruzi* no mostraron ninguna ampliación, en la (Figura 24) se puede observar una parte de las ampliificaciones hechas en donde sólo los controles positivos (Tcl de 350pb) y (TcII de 300pb) muestran amplicones, por lo que se descarta infección por *T. cruzi* del linaje Tcl y TcII en murciélagos muestreados.

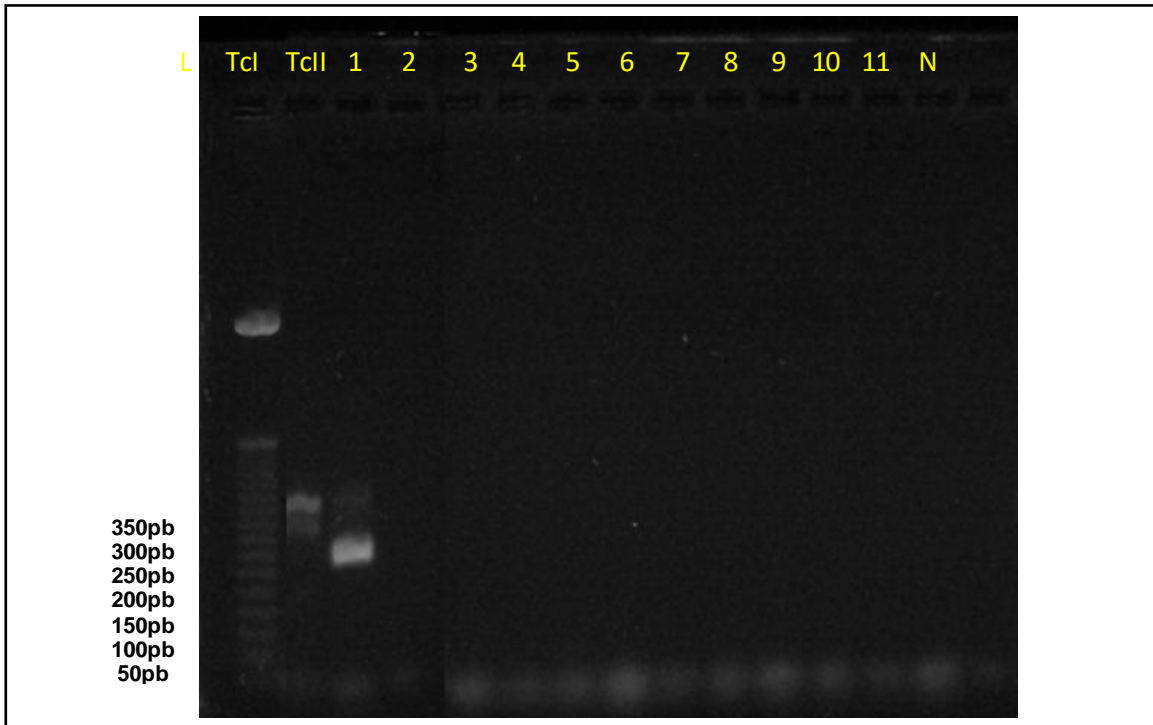


Figura 24. Amplificaciones de PCR múltiple del gen mini exón en gel de agarosa al 2% P/V; L) Marcador de peso molecular escalera de 50pb, TcI 350pb, TcII 300pb y N) control negativo. De once muestras de quirópteros: 1-7, *Pteronotus psilotis*, y 8-11: *Pteronotus fulvus*.

En triatominos la PCR múltiple mostró amplicones de 350pb correspondientes al grupo o linaje TcI por lo tanto se confirmó la infección por *Trypanosoma cruzi* en *Triatoma huehuetenanguensis* (Figura 25).

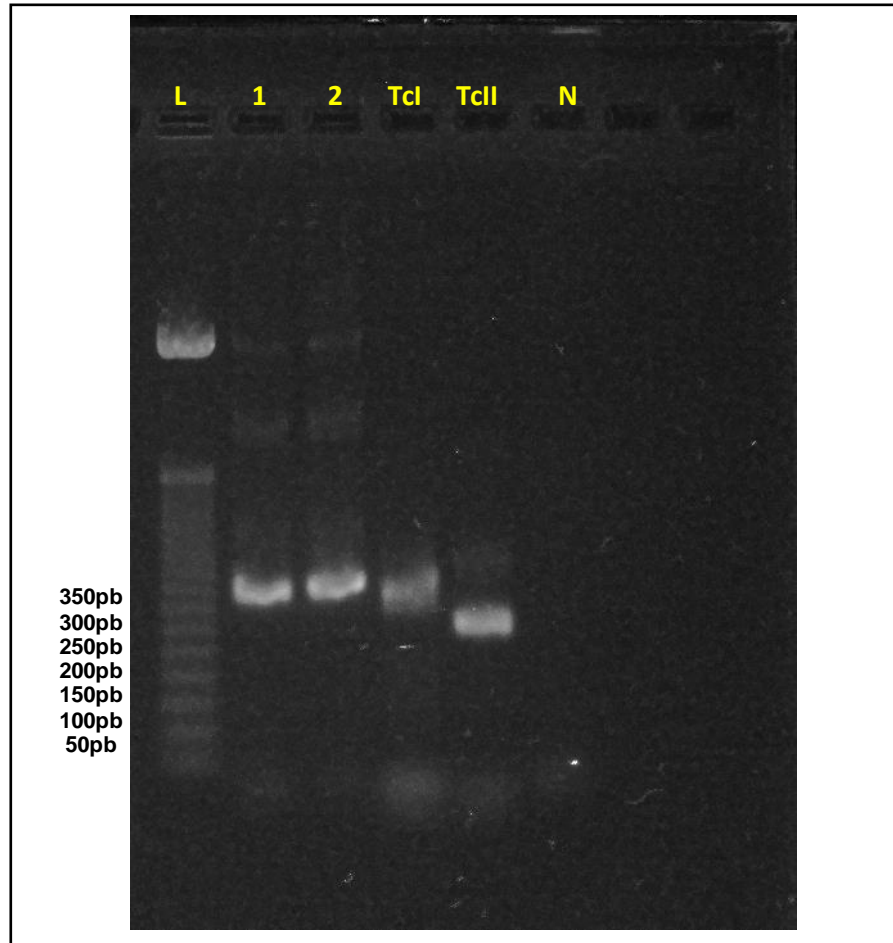


Figura 25. Amplificaciones de PCR múltiple del gen mini exón en gel de agarosa al 2% P/V; L) Marcador de peso molecular escalera de 50pb, TcI 350pb, TcII 300pb y N) control negativo. De dos muestras de *Triatoma huehuetenanguensis*.

De manera general se obtuvo la participación de un total de 100 individuos de la encuesta de los cuales 72 fueron mujeres y 28 fueron hombres; el rango de edad de los participantes fue de 18 a 80 años (Figura 26). El grupo etario con mayor porcentaje fue de 26-33 años lo que representa el 20% (20/100).

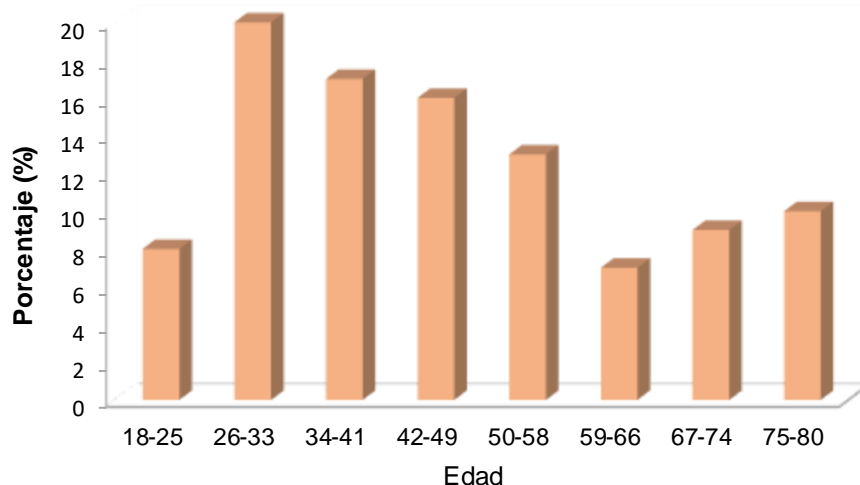


Figura 26. Rango de edad de la población encuestada.

El nivel de escolaridad con mayor porcentaje fue la primaria donde el 29.17% (21/72) son mujeres y el 42.86% son hombres (Figura 27).

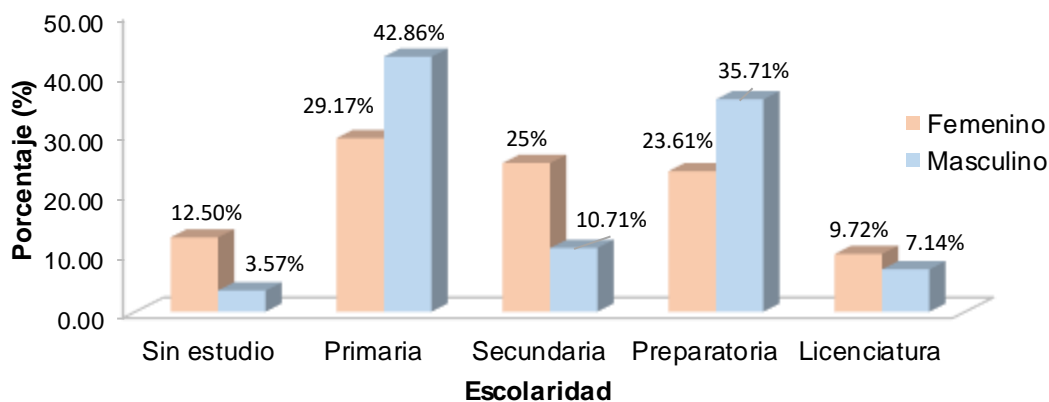


Figura 27. Porcentaje de mujeres y hombres sobre el nivel de escolaridad que mencionaron tener.

De acuerdo con los participantes entrevistados de El Parral más del 50% son procedentes de dicha localidad, mientras que el resto de los participantes provienen de localidades cercanas a otros municipios (Cuadro 4).

Cuadro 4. Localidad de origen de los participantes del municipio El Parral, Chiapas.

Nombre	Municipio	Número de individuos
El Parral	El Parral	87
El Diamante de Echeverría	La Concordia	2
Jaltenango de La Paz	Ángel Albino Corzo	1
Jericó	El Porvenir	1
Julián Grajales	Chiapa de Corzo	2
Rayón	Rayón	1
Rivera el Amatal	Chiapa de Corzo	1
Revolución Mexicana	Villa Corzo	1
Tecpatán	Tecpatán	1
Tuxtla Gutiérrez	Tuxtla Gutiérrez	3
Total		100

Los resultados que se obtuvieron de la entrevista más del 50% mencionó no conocer al vector, y solo el 31% (31/100) de los entrevistados mencionó conocerlo (Figura 28).

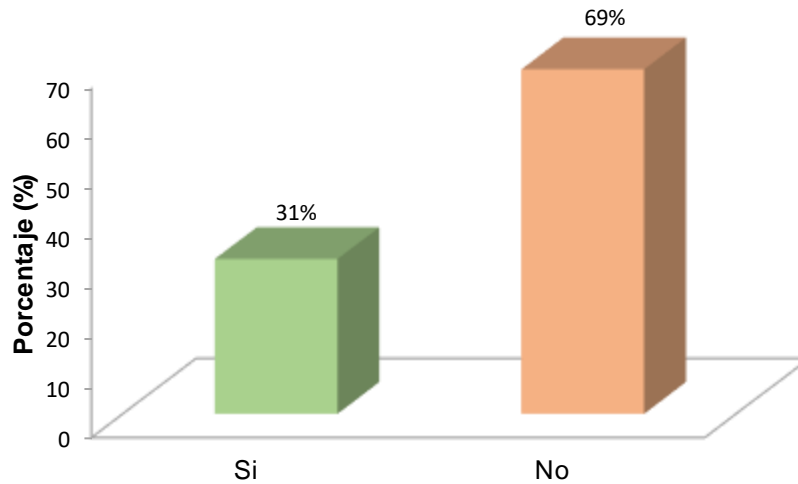


Figura 28. Conocimiento del vector.

Respecto a la observación del vector el 90.32% (28/31) de los entrevistados respondió haberlas visto y solo el 9.68% que dijo si conocerlo nunca la ha visto (Figura 29). De acuerdo con este dato, a los entrevistados que respondieron “Si” se les preguntó en qué área fue visto y como lo identificaban, más del 50% mencionó identificarlo por la coloración, el 10.71% (3/28) mencionó por el tamaño, el 7.14% (2/28) por la trompa y el 3.57% (1/28) por el olor (Cuadro 5).

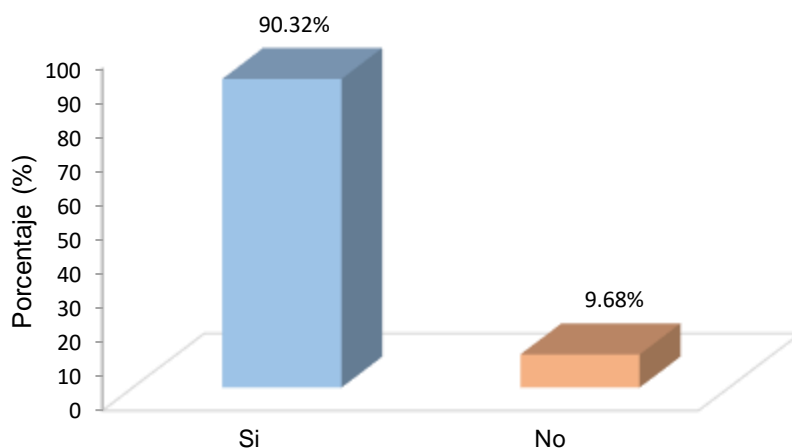


Figura 29. Observación del vector en El Parral, Chiapas.

Cuadro 5. Características del vector mencionadas por los habitantes entrevistados.

Características	F	%
Coloración	22	78.58
Tamaño	3	10.71
Trompa	2	7.14
Olor	1	3.57

F: Frecuencia

?: Porcentaje

De acuerdo con el área donde lo han visto más del 50% mencionó haberlas visto en el campo, el 28.57% (8/28) mencionó haberlas visto en el peridomicilio y el 14.29% (4/28) mencionó verlo visto dentro de su vivienda (Cuadro 6).

Cuadro 6. Área donde se observó al vector en El Parral, Chiapas.

Área	F	%
Intradomicilio	4	14.29
Peridomicilio	8	28.57
Campo	16	57.14
Total	28	100

?: Porcentaje

De acuerdo con la percepción los entrevistados que respondieron haber visto al vector, más del 50% asocia al insecto con algunos árboles o plantas y el 43.42% (13/28) no menciona asociarlo con ningún árbol; los que mencionaron haberlo visto en el campo, el 80% (12/15) lo asocia en (árbol de aguacate, árbol de guayaba, en hojas secas, monte, milpa y palo de mulato) y los que mencionaron verlo visto en el peridomicilio, el 20% (3/15) lo asocia en árbol de guayaba y mango (Cuadro 7).

Cuadro 7. Árboles donde han visto al vector.

Campo	F	%	Peridomicilio	F	%
Árbol de aguacate	1	6.66%	Árbol de guayaba	1	6.66%
Árbol de guayaba	1	6.66%	Árbol de mango	2	13.33%
En hoja seca	1	6.66%			
Milpa	1	6.66%			
Monte	7	46.66%			
Palo de mulato	1	6.66%			

F: Frecuencia

%%: Porcentaje

Respecto a si asocian al insecto con alguna temporada el 96.42% (27/28) de los que han visto al vector mencionaron que sí y solo el 3.57% (1/28) no la asocia; por lo tanto, el 66.67% (18/27) lo asocia en la temporada de seca, el 18.51% (5/27) lo asocia en temporada de lluvia y el 14.81% (4/27) lo asocia en ambas temporadas (Figura 30); por otro lado, ninguno mencionó asociar al insecto con algún animal.

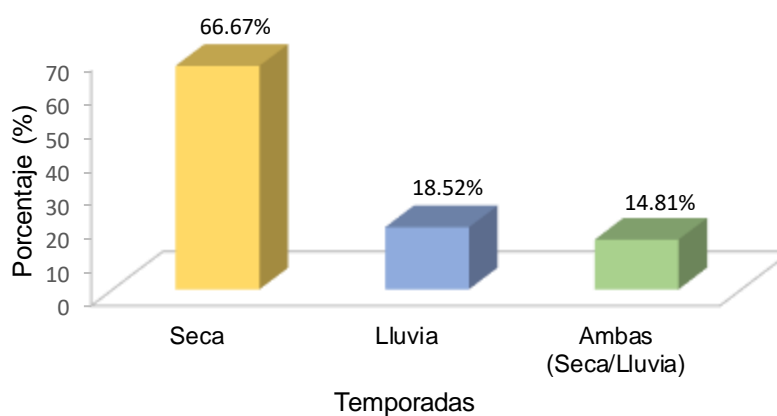


Figura 30. Porcentaje de los pobladores que mencionó asociar al insecto con la temporada de lluvia y seca.

De los entrevistados que mencionaron conocen al vector, más del 50% lo considera peligroso y el 38.71% (12/31) no lo considera (Figura 31); por otro lado, el 16.13% (5/31) mencionó ser picado por el insecto, los síntomas que mencionaron tener fueron ardor, picazón y erupción (roncha).

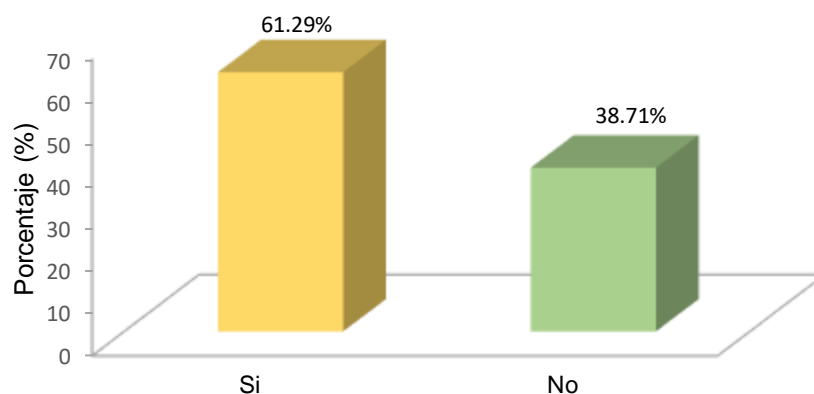


Figura 31. Porcentaje de los pobladores entrevistados que consideran peligroso al insecto.

Los resultados que se obtuvieron con respecto al conocimiento sobre la enfermedad más del 50% de los entrevistados mencionaron no conocerla y solo el 7% mencionó conocerla (Figura 32), todos los que si la conocen mencionaron que se trasmite por medio de una picadura de una chinche, ninguno de ellos mencionó saber cómo afecta y tampoco conocen sobre el tratamiento; el 42.85% (3/7) supo de la enfermedad a través de internet, el 28.57% (2/7) por medio de un amigo biólogo y el 28.57% (2/7) por medio de la escuela.

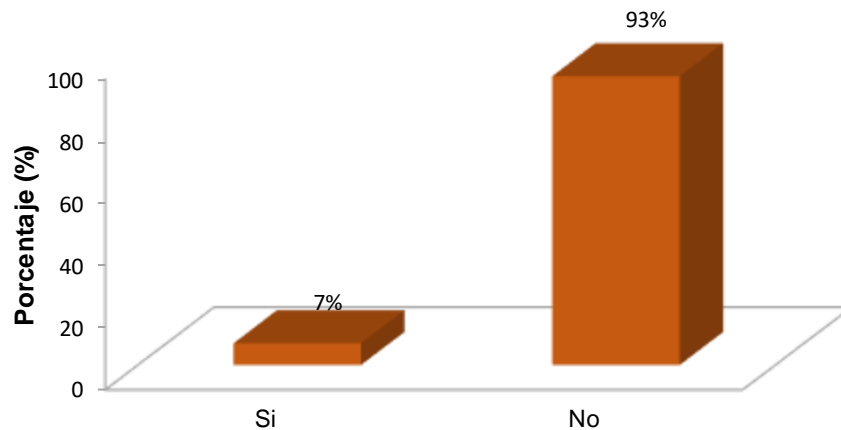


Figura 32. Conocimiento sobre la enfermedad.

De acuerdo con la percepción únicamente el 28.57% (2/7) mencionó que asocia el síntoma de fiebre con la enfermedad y más del 50% no mencionó ninguno. Por otro lado, todos mencionaron sentir preocupación/miedo si padecieran la enfermedad; ninguno mencionó padecerla, y tampoco conocer a alguien diagnosticado con la enfermedad hasta el momento.

Se registraron un total de 11 combinaciones de materiales de construcción de las viviendas, de manera que la combinación que mayor porcentaje obtuvo fue la de techo de lámina, muros de ladrillo y piso de cemento, y la de techo de teja, muros de ladrillo y piso de cemento éstas con un valor del 21% (21/100) (Figura 33); con base en estos datos cuatro de las combinaciones de materiales de viviendas de los entrevistados con un porcentaje del 8.33% (1/12) se ha visto al insecto vector dentro del domicilio (Figura 34), y el 25% (3/12) se han visto en el peridomicilio de casas con techo de loza, muros de ladrillo y piso de cemento (Cuadro 8). Con relación al material de la vivienda se menciona que el 16.67% (2/8) mencionaron a ver visto al vector en casas con techo de teja, muros de adobe y piso de cemento que corresponden al peridomicilio y el 8.33% (1/4) con techo de teja, lamina y loza, muros de ladrillo, block y adobe, y piso de cemento correspondientes al intradomicilio.

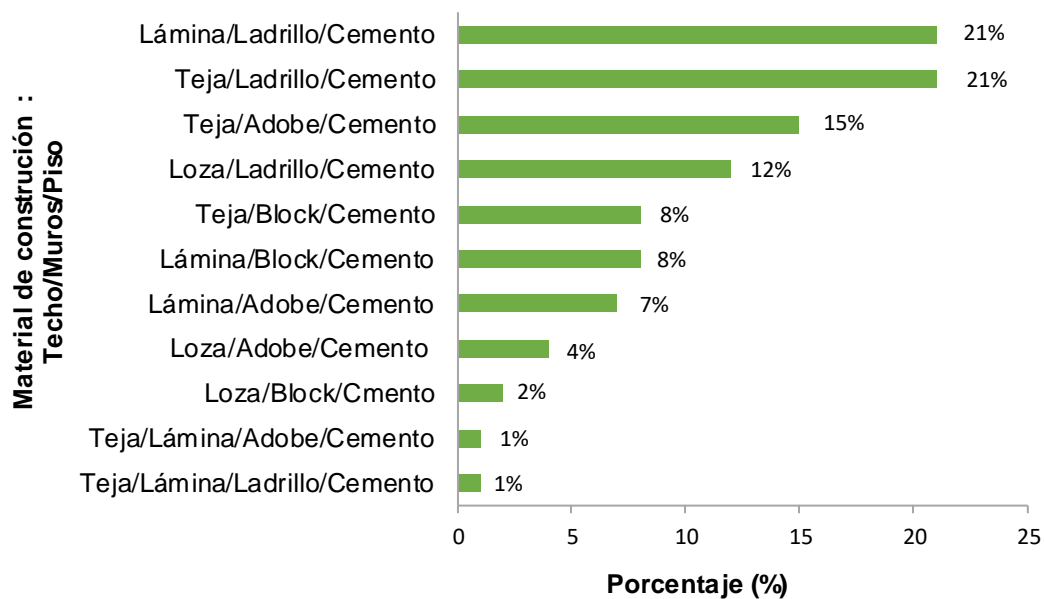


Figura 33. Porcentaje de la combinación de materiales usados para la construcción de las viviendas en El Parral.

Cuadro 8. Frecuencia de las áreas donde fue visto el insecto vector con relación al material de las viviendas de los entrevistados.

Materiales de construcción de la vivienda	Intradomicilio		Peridomicilio	
	F	%	F	%
Teja/Ladrillo/Cemento	1	8.33	1	8.33
Lamina/Ladrillo/Cemento	1	8.33	1	8.33
Teja/Adobe/Cemento	0	0	2	16.67
Lamina/Block/Cemento	1	8.33	0	0
Loza/Ladrillo/Cemento	0	0	3	25
Teja/Block/Cemento	0	0	1	8.33
Loza/Adobe/Cemento	1	8.33	0	0
Total	4	33.33	8	66.67

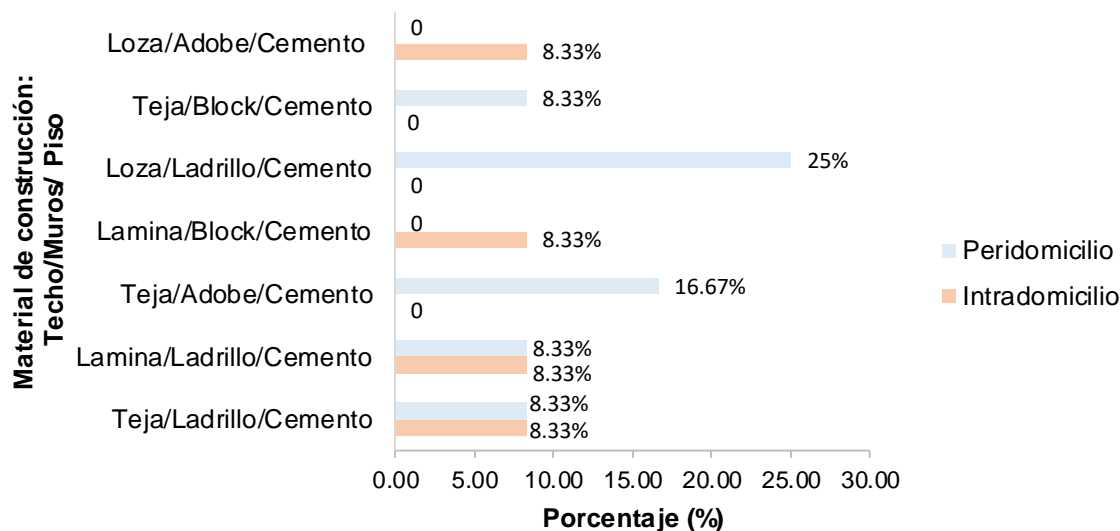


Figura 34. Porcentaje de la combinación de materiales de las viviendas con el área donde fue visto al insecto vector.

También se registró que más del 50% de los entrevistados no usa malla mosquitera y solo el 47% (47/100) si hace uso de ellas; el 70% fumiga, donde el 44.28% (31/70) lo hace cada tres meses, el 25.71% (18/70) lo hace cada año, el 17.14% (12/70) lo hace cada dos meses y el 12.85% (9/70) lo hace cada seis meses.

Más del 50% de los participantes entrevistados mencionaron tener materiales como leña, madera y block en casa, y solo el 47% (47/100) no tiene ninguno, donde más del 50% tiene leña en casa.

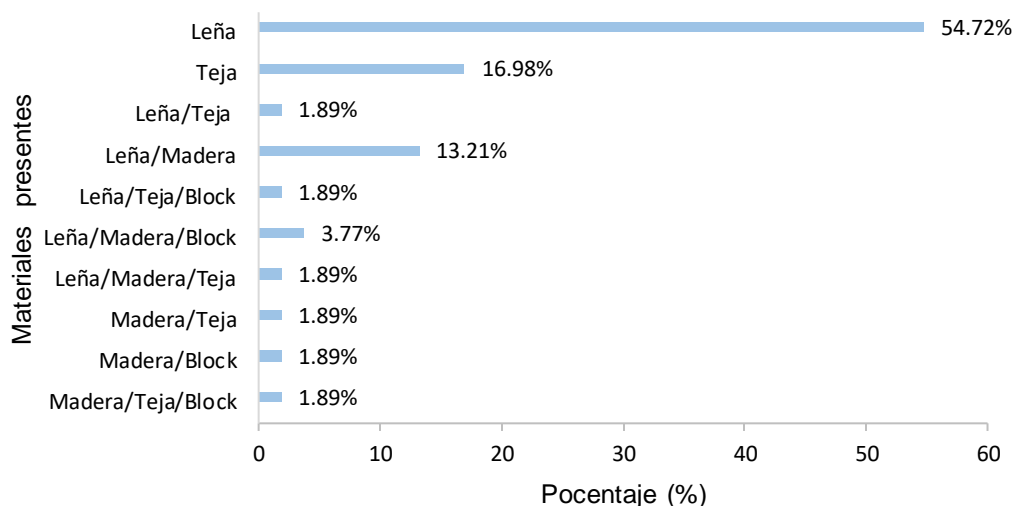


Figura 36. Porcentaje de la combinación de materiales presentes que mencionaron tener los participantes entrevistados.

También se registró que el 93% diariamente hacen su limpieza en casa y el resto lo hace cada 2 y 3 días, más del 50% de los entrevistados mencionaron que el departamento de vectores visita su localidad cada seis meses, y el 45% no lo han visitado en su domicilio.

De los pobladores entrevistados de El parral más del 50% mencionó tener animales en casa, solo el 22% (22/100) mencionó no tener ninguno (Figura 35). De acuerdo a este dato, los que respondieron "Si" tener se les preguntó que animales, el 85.90% (67/78) mencionó tener animales domésticos y el 65.38% (51/78) mencionó tener animales de corral (Figura 36); los animales que más mencionaron tener fueron perro con un porcentaje del 70.15% (43/67) y gallinas con un porcentaje del 70.59% (36/51) (Cuadro 9).

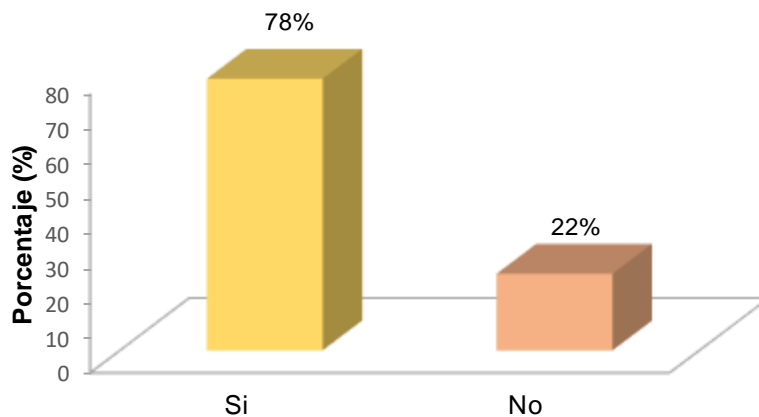


Figura 37. Porcentaje de pobladores que mencionaron tener animales en casa.

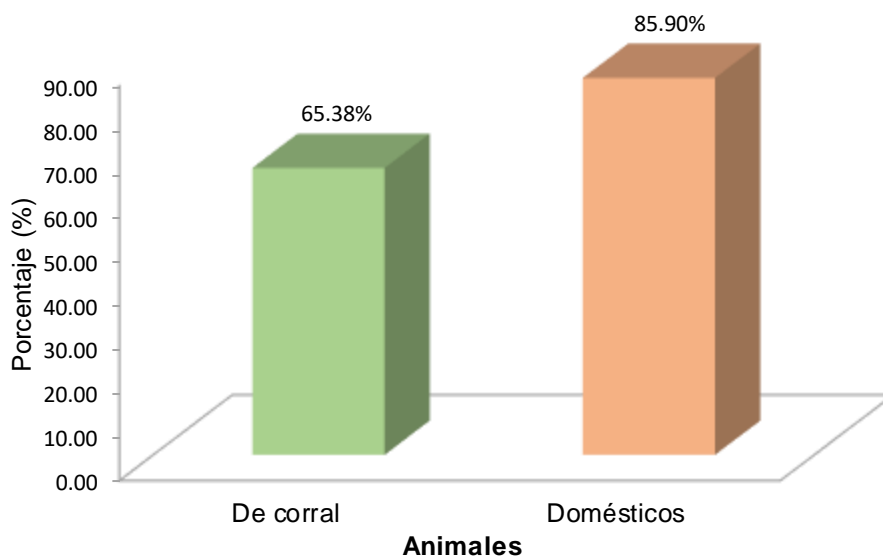


Figura 38. Porcentaje de la agrupación de animales que mencionaron tener los pobladores entrevistados de El Parral.

Cuadro 9. Frecuencia de la presencia de animales domésticos y de corral en las viviendas.

Domésticos	F	%	De Corral	F	%
Perro	47	70.15	Gallina	36	70.59
Gato	8	17.91	Gallina y pato	4	7.84
Perro y gato	12	11.94	Pato	3	5.88
			Gallina y borrego	2	3.92
			Gallina y pavo	2	3.92

		Pavo	2	3.92
		Gallina, pato y pavo	1	1.96
		Gallina, pavo y gallo	1	1.96
Total	67	100	51	100

F: Frecuencia

?: Porcentaje

VIII. DISCUSIÓN

Debido a que en México existe una gran problemática sobre la enfermedad de Chagas, ponen en manifiesto la necesidad de enfocar estudios sobre triatominos, ya que la transmisión vectorial continúa siendo el mecanismo más común de infección (Vidal-Acosta, 2000). Normalmente estos insectos tienen un ecotopo silvestre donde se alimentan de pequeños mamíferos y se refugian en nidos o madrigueras. Es cuando el hombre empieza a invadir estos ecotopos que surge la transmisión del parásito a los humanos.

En el estado de Chiapas es considerado como una región endémica de la enfermedad de Chagas, pero su estudio se ha enfocado principalmente en localidades con condiciones precarias. Debido a que no existen estudios recientes sobre la enfermedad de Chagas en el municipio el Parral, este estudio se enfocó prácticamente en la búsqueda de insectos triatominos, para determinar índices de infección por *Trypanosoma cruzi* en mamíferos y vectores, así como determinar el conocimiento en los habitantes sobre esta enfermedad.

En el presente trabajo, se encontró el primer avistamiento de un insecto triatomo de la especie *Triatoma huehuetenanguensis*, en el municipio El Parral, Chiapas, estos ejemplares se identificaron prácticamente por su morfología, presentan un colorido marrón con el conexivo y el corium de amarillo a amarillo pálido y en la parte ventral el color es amarillo claro (Figura 12); así mismo las terminales en hembras es pálido y muy puntiagudo y en los machos es más oscuro

que el resto del tegumento y casi cuadrada (Figura 13). Por otro lado, la morfometría lineal demostró que existe diferenciación en ciertas variables entre hembras y machos (Cuadro 1), siendo las hembras las que presentan un mayor tamaño corporal con respecto a los machos (hembras: 27.53 mm y machos: 23.56 mm) (Figura 18). Además estos resultados concuerdan con los reportados por Lima-Cordón *et al*, en 2019, en su descripción sobre la especie; es distinta morfológicamente, por la diferenciación de color en el conexivo, en el tamaño general y en los terminales masculinos y femeninos, lo que separan a *T. huehuetenanguensis* de la especie *T. dimidiata*, siendo esta una de las especies más encontradas y registradas debido a que se distingue por su gran distribución geográfica y gran plasticidad biológica (Sandoval-Ruiz *et al.* 2004). Por otra parte, la diferenciación basada en el patrón de color del conexivo y otras regiones del cuerpo también se ha usado en la descripción de *T. brailovskyi* (Martínez, Carcavallo y Pelaez, 1984), *T. gomeznunezi* (Martínez, Carcavallo y Jurberg, 1994) y la más recientemente, *Triatoma mopan* (Dorn *et al.* 2018).

Los ejemplares colectados fueron encontrados principalmente en zonas de selva, aunque en algunos estudios nuevamente como la de Lima-Cordón *et al*, (2019) realizado en Huehuetenango, Guatemala, y la más reciente de Espinoza-González, *et al*, (2022) realizada en Tuxtla Gutiérrez, han reportado a *T. huehuetenanguensis* en áreas del domicilio y peridomicilio, sin embargo, la pérdida de áreas conservadas aumenta la probabilidad de que el vector cambie sus fuentes preferidas de alimentación de sangre y entre en contacto con humanos. Por otra parte, en el estudio de Michael-Parra *et al*, (2021), también menciona haber encontrado a esta especie dentro de viviendas cercanas de una selva tropical preservada en El Ixcán, Chiapas, México, lo que especula que el hecho de que las casas donde se han colectado chinches estén cerca de áreas selváticas, la dispersión de *T. huehuetenanguensis* ocurre entre ambientes selváticos y domésticos. La huida activa o la dispersión a pie, desde áreas selváticas a áreas domésticas, se ha considerado un mecanismo de colonización importante y más frecuente de lo que se supone. Esto significa que esta especie podría haber pasado

de invadir casas a colonizarlas, si se hubiera adaptado a la vivienda. Condiciones (por ejemplo, temperatura, humedad, refugios, huéspedes) (Silveira *et al.* 2014).

En cuanto a los insectos hallados durante este estudio se encontraron porcentajes de infección natural con *T. cruzi* del 41.67%, relativamente bajo (Cuadro 2) comparados a los índices de infección natural observados con anterioridad en esta especie, como los porcentajes de infección encontrados en El Ixcán, Chiapas, México y en Huehuetenango, Guatemala, se observaron porcentajes de infección entre el 80 y 90% en los especímenes. Estas altas y bajas tasas de infección sugieren un papel potencialmente importante para esta especie en la transmisión de *T. cruzi* y debe evaluarse más a fondo (Lima-Cordón *et al.* 2019). Por lo tanto, estos trabajos de búsqueda intencionada ponen de manifiesto la importancia de realizar estudios en zonas donde normalmente se piensa que no se encuentran los insectos vectores o la circulación del parásito.

Por otra parte, el número de insectos hallados en este estudio fueron pocos, lo que podría estar relacionado con lo que propone Alvedro *et al.* (2021), el bajo número de triatomíneos se debe a que pueden tener menos acceso a la alimentación con sangre debido a una menor abundancia de huéspedes asociados a construcciones mejoradas y manejo de animales, así como también, podrían estar asociada a que los triatomíneos están migrando de la selva a las casas cercanas al sitio, atraídos por las luces de la noche (Michael-Parra *et al.*, 2021).

Si bien los murciélagos capturados en este estudio no presentaron infección por *Trypanosoma cruzi*, esto coincide con el estudio de Solis-Franco *et al.* (1997) donde tampoco se encontró infección por *T. cruzi* en murciélagos, pero si en otros mamíferos terrestres. Sin embargo, ya hay indicios en otros estudios como la de Pacheco-Castro *et.al.* (2013) donde se reportó por primera vez infección por *T. cruzi* en tres especies de murciélagos de una localidad del estado de Yucatán. Por lo tanto, ya es bien conocido que el orden quiróptera es también un reservorio natural del parásito (Ramírez *et al.*, 2013). No obstante, el hecho de que no se haya capturado mamíferos terrestres en la zona, no es un impedimento para que el parásito circule, ya que pueden ocurrir infecciones entre la cadena trófica de los

animales, es decir que los mamíferos se estén infectando por consumir otros mamíferos infectados. Además, se ha visto que el parásito es capaz de atravesar la placenta e infectar a las crías, por lo que una hembra infectada puede dejar descendencia con la infección por *T. cruzi* (Moreno et al., 2006).

En cuanto a la genotipificación de *Trypanosoma cruzi* por la amplificación de la región intergénica del gen mini exón, se encontró el linaje TcI en los triatominos colectados (Figura 26), el fragmento con un tamaño de 350pb correspondiente al linaje TcI, esto concuerda con lo reportado por Mejía y Triana (2005) y Pérez-España et al. (2019) usando los mismos oligonucleótidos. Sin embargo, este es el linaje con mayor distribución, encontrándose desde el sur de EEUU hasta el centro de Argentina, Chile y México; se han encontrado en humanos, en diversos mamíferos y en varias especies de triatominos infectados, asociados a ciclos selváticos como domésticos (Camacho-Sierra, 2016; Pérez-España, et al., 2019), por otro lado, en el estudio de García, 2021 en el estado de Chiapas se hallaron las DTU (TcI y TcII) con una mayor presencia de TcI.

Los resultados obtenidos de la encuesta indican que menos del 50% de la población estudiada conocen al vector. Estos datos además concuerdan con los reportados por Ruiz-Colorado et al. (2016) y Garrido-Pérez, Gómez-Martínez y Zacca-Peña (2010), realizados en Tabasco, esto es evidencia del total desconocimiento de la población en cuanto a los aspectos básicos sobre la enfermedad de Chagas y su vector. Así mismo, se observó que la población estudiada no conoce el rol de transmisión de la enfermedad, pero conocen al vector. Este dato es similar a la de Días y Días (1982), en su estudio donde se observó que en su población están familiarizados con el insecto vector, pero no conocen el rol de transmisión de la enfermedad.

En cuanto a la observación del vector el 90.32% de la población indico haberlo visto y solo el 9.68% de los que si mencionaron conocerlo nunca la ha visto, el área con mayor porcentaje fue en el campo (57.14%), el resto fue visto en peridomicilio (28.57%) y en la vivienda (14.29%). Estos resultados pueden explicarse con lo sugerido por Michael-Parra et al, (2021), *T. huehuetenanguensis* ocurre entre

ambientes selváticos y domésticos. Podría considerarse como una especie que invade casas y parece tener un potencial limitado para colonizar viviendas humanas.

Los resultados sobre los aspectos básicos sobre la enfermedad de Chagas son limitados, solo el 7% de la población conoce sobre la enfermedad, así mismo, se encontró que el 16.13% de la población estudiada que conoce al vector indico que fueron picados, sin embargo, debido al desconocimiento de la enfermedad, no se sabe si estén infectados, los síntomas que presentaron fueron la erupción, ardor y comezón, en la zona afectada, el cual no acudieron respectivamente a un centro de salud para su revisión. Salazar Schettino *et al.* (2011), señala que el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* debe ser considerada, dado que el 95% de los casos de infección cursan asintomáticos, lo que implica que seguramente en las zonas de riesgo no está siendo detectada la infección, con la consecuente falta de aplicación de medidas de prevención y control.

En el municipio El Parral, la mayoría de las viviendas se encuentran construidas con techos de lámina, muros de ladrillo y piso de cemento, así como de techo de teja, muros de ladrillo y piso de cemento (Figura 32). Segura y Escobar-Mesa (2005), menciona que el material de construcción de la vivienda representa un factor importante en la transmisión de la enfermedad, dado que puede proveer al vector las características para la permanencia y su reproducción en ella. Aunque los resultados indicaron que la mayoría de las viviendas están construidas con materiales sólidos, los cuales no se consideran de riesgo. Por otro lado, Sanmartino y Crocco (2000), agregan que en su investigación aquellas viviendas desordenadas y en donde se observan los domicilios sucios, el vector se puede encontrar con mayor frecuencia; en este estudio se observó que en la población, el 93% hace su limpieza diario y el resto cada dos o tres veces al día, lo que demuestra una eficiente practica de limpieza de la vivienda, lo que reduce la posibilidad de la presencia del vector y consecuentemente se espera que se disminuya la posibilidad de adquirir la enfermedad.

Por otra parte, los animales domésticos y de corral pueden intervenir a la dispersión de los triatomíneos, ya que estos animales se alimentan a campo abierto,

ya sea en los predios de los domicilios o áreas cercanas a la construcción y que estas áreas al ser modificadas o perturbadas por el hombre posibiliten a los triatominos dispersarse hacia las comunidades cercanas (López-Bello, 2013).

De los resultados obtenidos más del 50% de la población indicaron tener animales domésticos. Los animales domésticos mencionados fueron perro y gato, de los cuales el perro fue el animal con mayor porcentaje obtuvo. Segura y Escobar-Mesa (2005), mencionan que los perros y gatos representan una fuente de alimentación para los triatominos; por otra parte, en los estudios de Gurtler *et al.* (1992) se ha hallado que animales domésticos, además de servir como fuente de alimento para las chinches invasoras, cuando son infectados por *Trypanosoma cruzi* mantienen una parasitemia a lo largo de toda su vida, siendo un reservorio potencial muy importante. El papel de los animales domésticos como vía de posibles infecciones también ha sido discutido por Guzmán-Bracho (2001), quién afirma que los animales infectados incrementan la probabilidad de infección de otros animales domésticos y aumentan el riesgo de contagio en los humanos dado a su estrecha convivencia en el domicilio.

En cuanto a la presencia de los animales de corral el 65.38% de la población indico tener animales de corral, a diferencia con los animales domésticos, se observó que hubo mayor diversidad de especies; siendo la gallina, el animal de corral con mayor porcentaje tuvo. Martínez-Ibarra *et al.* (2010), determinaron que los gallineros son una herramienta útil para detectar la presencia de triatominos en el peridomicilio siendo este tipo de estructuras un factor de riesgo para la infestación de los triatominos en los domicilios.

IX. CONCLUSIÓN

- Se halló un total de 12 triatominos distribuidos en cada sitio de muestreo, de los cuales todas fueron identificadas como *Triatoma huehuetenanguensis*.
- La morfometría lineal demostró que existe diferenciación en las variables como el ancho y largo de la probóscide, largo y ancho del pronoto, diámetro del ojo, largo del primer y segundo par de alas, la distancia de la sintilipsis y

la longitud total del cuerpo entre hembras y machos, siendo las hembras las que presentan un mayor tamaño en el cuerpo total que en los machos.

- Se encontró que el 41.67% de los triatominos colectados resultaron positivos para la infección natural con *T. cruzi*, el linaje corresponde a TcI.
- No se capturaron mamíferos terrestres, debido a esto solo se consideró la captura de mamíferos voladores, el cual no presentaron infección por *Trypanosoma cruzi*.
- Las encuestas muestran que al menos el 31% de la población total conocen al vector y la han visto tanto al interior de la vivienda como en el peridomicilio.
- Se observó un total desconocimiento sobre los aspectos básicos sobre la enfermedad de Chagas, por lo tanto, es un importante factor de riesgo para la transmisión de la enfermedad.
- Se encontró que los materiales de construcción de las viviendas son un factor determinante en la infestación de triatominos.
- Se observó que en la población se mantiene estrecha relación con los animales domésticos y de corral, lo que aumenta el riesgo para la infestación de los insectos triatominos.

X. RECOMENDACIONES

- Dar seguimiento a un muestreo activo de insectos triatominos en las viviendas para detectar casos humanos de enfermedad de Chagas.
- Llevar a cabo un seguimiento de mamíferos no voladores como didelfidos, roedores, armadillo y alguna otra especie de mamífero silvestre, para determinar un ciclo silvestre. Al mismo tiempo hacer un análisis en perros y gatos domésticos.
- Se recomienda realizar campañas de concientización sobre la enfermedad de Chagas, a fin de que los habitantes participen en el cuidado de la salud y prevenir posibles infecciones.

XI. REFERENCIAS

- Alvedro A, Gaspe MS, Milbourn H, Macchiaverna NP, Laiño MA, Enriquez GF. 2021. *Trypanosoma cruzi* infection in *Triatoma infestans* and high levels of human-vector contact across a rural-to-urban gradient in the Argentine Chaco. *Parasites Vectors*. 14: 35.
- Arista, S. 2007. Importancia de los animales domésticos y silvestres en la epidemiología de la enfermedad de Chagas. Tesis Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Apt, W., Heitmann, I., Jercic, M., Jofré, L., Muñoz, P., Noemí, I. y Zulantay, I. 2008. Part V. Laboratory diagnosis of Chagas disease. *Revista chilena de infectología: órgano oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*. 25 (5): 380- 383.
- Barret, M., Burchmore, R., Stich, A., Lazzari, J., Frasch, A., Cazzulo, J. y Krishna, S. 2003. The Tripanosomiasis. *Lancet*. 362: 1469–1480
- Benítez-Alva, J. I., Huerta, H. y Téllez-Rendón, J. L. 2012. Distribución de triatominos (Heteroptera: Reduviidae) asociados a la vivienda humana y posibles zonas de riesgo en seis estados de la República Mexicana. *BIOCYT: biología, ciencia y tecnología*. 5 (17): 327-340.
- Botero, D. (1998). Parasitosis Humana Tercera Edición. Ed. Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB). Colombia. Pp 203-226.
- Bueno-Duarte, Y. 2007. Estudio comparativo de proteínas antigénicas de cepas de *Trypanosoma cruzi* de la región nororiental de Colombia. Plan de proyecto de grado. Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias escuela de Química Bucaramanga. Colombia.
- Camacho-Sierra, V. 2016. Identificación de unidades discretas de tipificación (DTU's) de *Trypanosoma cruzi* en marsupiales (*Didelphis marsupialis*, *Didelphis virginianus*, *Philander oposum*) presentes en la reserva ecológica “El Zapotal” en el

estado de Chiapas. Tesis de Maestría. Facultad de ciencias agropecuarias y recursos naturales. Universidad Autónoma del estado de México. México D.F

Castillo, D. y Wolff, M. (2000). Aspectos del comportamiento de los triatominos (Hemiptera: Reduviidae), vectores de la enfermedad de Chagas. *Biomédica*. 20: 59-64.

Concha, F. 2015. Diagnostico serológico de la enfermedad de Chagas (Chagas congénito y donantes en sangre) validación de antígeno Hierro superóxido Dismutasa excretada (Fe-SODe) de *Trypanosoma cruzi*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. España.

De Fuentes- Vicente J., Vidal-López, D., Gutiérrez-Jiménez, J. y Schlie-Guzmán, A. 2016. Tasa de infección y tiempo de defecación de los estadios ninfales de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) después de la infección experimental con *Trypanosoma cruzi*. *Revista Biomédica*. 278 (3): 111-117.

De Fuentes-Vicente, J., Gutiérrez-Cabrera, A., Flores-Villegas, A., Lowenberger, C., Benelli, G., Salazar-Schettino, P. y Córdoba-Aguilar, A. 2018. What makes an effective Chagas disease vector? Factors underlying *Trypanosoma cruzi* triatomine interactions. *Acta tropical*. 183; 23-31.

De Fuentes-Vicente, J., Vidal-López, D., Flores-Villegas, A., Moreno-Rodríguez, A., De Alba-Alvarado, M., Salazar-Schettino, P. y Gutiérrez-Cabrera, A. 2019. *Trypanosoma cruzi*: A review of biological and methodological factors in Mexican strains. *Acta tropica*. 195: 51-57.

Devera, R., Fernandes, O. y Rodrigues, J. 2003. Should *Trypanosoma cruzi* be called "cruzi" complex? A Review of the parasite Diversity and the Potential of Selecting Population after *in vitro* Culturing and Mice Infection. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 98 (1): 1-12.

Diaz, J.P y Diaz, R.B. 1982. Las viviendas y la lucha contra los vectores de la enfermedad de Chagas en el hombre, en el Estado de Minas Gerais, Brasil. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*. 93:453-467

Díaz, M.L y González, C.L. 2014. Enfermedad de Chagas agudo: transmisión oral de *Trypanosoma cruzi* como una vía de transmisión re-emergente. *Revista de la Universidad Industrial de Santander*. 46 (2) 177-188.

Dorn, P.L., Justi, S.A., Dale, C. Stevens, L., Galvão, C., Lima-Cordón, R., Monroy, C. 2018. Description of *Triatoma mopan* sp. n. from a cave in Belize (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *ZooKeys* 775: 69–95

Cruz-Alegría, I. Y., Gutiérrez-Ruiz, J. A., Cortés-Ovando, D., Santos-Hernández N. G., Ruiz-Castillejos, C., Gómez-Cruz A., Coutiño-Ovando, C.D., Vidal-López, D. G. De Fuentes-Vicente, J.A. 2021. Prevalencia y conocimiento de la enfermedad de Chagas en dos comunidades del sureste de México. *Revista Biomédica*, 32(2): 106-112

Duffy, T. 2010. Desarrollo y aplicación de estrategias de PCR para la genotipificación y cuantificación de *Trypanosoma cruzi*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires UBA. Buenos Aires.

Espinosa-González, C.A., Dávalos-Becerril, E., Correa-Morales, F., González-Acosta, C., López-Bello, R., Alvarado-Estrada, J.M., Esquinca-Calvo, L.M., García-Gutiérrez, C.V. Gómez-Maldonado, C.A., Cuevas-González, E., Reyes-Figueroa, C y Moreno-García, M.2022. New records of *Triatoma huehuetenanguensis* in an urban area of Southwest Mexico. *J Vector Borne Dis*. 240.204.103.84. pp. 86-90.

Flores-Chávez, M., De Fuentes, I., Gárate, T. y Cañavate, C. 2007. Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas importada. *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica*. 25: 29-37.

Flores-Ferrer, A., O. Marcou, E. Waleckx, E. Dumonteil, and S. Goubière. 2017. Evolutionary ecology of Chagas disease; what do we know and what do we need? *Evol. Appl*. 11: 470-487

Galvão, C., Carcavallo, R., Da silva Rocha, D y Jurberg, J.A. 2003. 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.

García, C. 2021. Identificación de Unidades Discretas de Tipificación (DTU) de aislados de *Trypanosoma cruzi* de Chiapas y Oaxaca, México. Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Biológicas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

García-Jordán, N., Berrizbeitia, M., Concepción, J., Aldana, E., Cáceres, A. y Quiñones, W. 2015. Estudio entomológico de vectores transmisores de la infección por *Trypanosoma cruzi* en la población rural del estado Sucre, Venezuela.

Garduño-Pineda, C. 2013. Empleo de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la detección de la infección por *Trypanosoma cruzi* en individuos clínicamente sanos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México.

Garrido-Pérez, S.M.G., Gómez-Martínez, C y Zacca-Peña, E. 2010. Conocimientos, actitudes y prácticas sobre la enfermedad de Chagas y su vector en el Poblado Ocuapan Huimanguillo Tabasco. *Horizonte Sanitario*. 9: 2. pp. 6-10

Goldsmith, R. S., Ortega, M., Zárata, R. J., Zárata, L. G. y Beltrán, F. 1983. Encuestas seropidemiológicas de la enfermedad de Chagas en Chiapas, México. *Archivos de Investigación Médica*. 14: 43-50

Gómez E. 2021. Estandarización y detección molecular de *Trypanosoma cruzi* en mamíferos de la Reserva Ecológica "El Zapotal", Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Biológicas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

Grant-Guillén, Y., Noguera-Torres, B., Gascón-Sánchez, J., Goicochea-Del Rosal, G y Martínez-Ibarra, J.A. 2018. First record and biology of *Triatoma lecticularia* (Hemiptera: Reduviidae) in western Mexico. *Acta Trop*. 177: 194-199.

Guevara-Hernández, F., Hernández-Ramos, M.A., Basterrechea-Bermejo, J.L., Fonseca-Flores, M.A., Delgado-Ruiz, F., Ocaña-Grajales, M.J., y Acosta-Roca, R. 2020. Riqueza de maíces locales (*Zea mays* L.) en la región Frailesca, Chiapas, México: un estudio etnobotánico. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 37. Pp. 223-243.

Gulh, F. 2009. Enfermedad de Chagas; Realidad y perspectivas. *Revista Biomedica*. 20: 228-234

Gurtler, R. E., Petersen, R. M., Lauricella, M. A. y Wisnivesky-Colli, C. 1992. Infectivity to the vector *Triatoma infestans* of dogs infected with *Trypanosoma cruzi* in north-west Argentina. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 86: 163-164

Guzmán-Bracho, C. 2001 Epidemiology of Chagas disease in México: an update. *Trends in Parasitology*. 17: 372-376.

Guzmán-Marín, E.S. 1999. Importancia de la caracterización de cepas de *Trypanosoma cruzi*. *Revista Biomédica*. 10: 177-184.

Haro, P., Hevia-Montiel, N., López-Blanco, X., Rosado-Vallado, M., López-Valencia, G. y Waleckx, E. 2021. Aplicaciones y potencial de las técnicas de diagnóstico por imagen en la investigación biomédica de la enfermedad de Chagas. *Revista Biomédica*. 32 (1): 45-54.

Herrera, L. 2010. Una revisión sobre reservorios de *Typanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* (Chagas, 1909) agente causal etiológico de la Enfermedad de Chagas. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*. 50 (1): 3-15.

Hoare, C. A. 1972. *The Trypanosomes of Mammals: A Zoological Monograph*. Ed. Blackwell Scientific Publications. England.

Jiménez-Coello, M., Poot-Cob, M., Ortega-Pacheco, A., Guzman-Marin, E., Ramos Ligonio, A., Sauri-Arceo, C. y Acosta-Viana, K. 2008. American Trypanosomiasis in Dogs from an Urban and Rural Area of Yucatan, Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 10: 135-14.

Levine, N., Corliss, J., Cox, F., Deroux, G., Grain, J., Honigberg, B., Leedale, G., Loeblich, A., Lom, J., Lynn, D., Merindfeld, E., Page, F., Poljansky, G., Sprague, V., Vavra, J. y Wallace, F. 1980. A newly revised classification of the protozoa. *J. protozool.* 27 (1): 37-58.

Lima-Cordón, R.A., Monroy, M.C., Stevens, L., Rodas, A., Rodas, G.A., Dorn, P.L y Justi, S.A. 2019. Description of *Triatoma huehuetenanguensis* sp. n., a potential Chagas disease vector (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *ZooKeys* 820: 51–70

López-Bello, R. 2013. Niveles de Infestación Domiciliar de *Triatoma longipennis* en el Área de Influencia del sistema de bombeo purgatorio arcediano, en el municipio de Zapotlanejo, Jalisco. Tesis de Maestría. Instituto Nacional de Salud Pública Centro Regional de Investigación en Salud Pública. México.

Martínez-Ibarra, J. A., Martínez-Grant, J. A., Verdugo-Cervantes, M. R., Bustos-Saldaña, R., Noguera-Torres, B. 2010. Vigilancia de la presencia de triatomos mediante gallineros en el sur de Jalisco, México. *Revista Biomédica*. 30: 140-145.

Martínez, I., Cervantes-Landín, A. y Espinoza, B. 2013. Diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas. *Gaceta Médica de México*. 149: 363-365.

Mazariego-Arana, M. A., Monteón, V. M., Ballinas-Verdugo, M. A., Hernández-Becerril, N., Alejandro-Aguilar, R., y Reyes, P. A. 2001. Seroprevalence of human *Trypanosoma cruzi* infection in different geographic zones of Chiapas, Mexico. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 453-458.

Medellín, R., Arita, H. y Sánchez, O. 2008. Identificación de los murciélagos de México, Clave de campo. 2da edición. Ed. Instituto de Ecología, UNAM. México. 78pp.

Mejía, A. y Triana, O. 2005. Análisis por LSSP-PCR de la variabilidad genética de *Trypanosoma cruzi* en sangre y órgano de ratones. *Biomédica*. 25: 76-86.

Michel-Parra, J.G, Martínez-Ibarra, J.A, Montañez-Valdez, O.D y Noguera-Torres, B. 2021. Life cycle of *Triatoma huehuetenanguensis* Lima-Cordón, Monroy, Stevens, Rodas, Rodas, Dorn, Justi 2019 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from Mexico, *J Vector Ecol*. 46(1): 57–64.

Montesinos, J.A. 2016. Estudio socio-agronómico y económico de la cadena de valor de productos regionales del maíz (*Zea mays* L.) en la Frailesca, Chiapas. Tesis

de Maestría. Facultad de Ciencias Agronómicas Campus V. Universidad Autónoma de Chiapas.

Moreno, E.A., Araujo, M.A., Alarcón, M.E., Yarbuh, A.L., Araujo, S. y Borges, R. 2006. Efectos de la infección Chagásica aguda en ratas *Wistar* gestantes. *Revista Científica*. 16 (5): 506 – 516.

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

Nielsen, V. 2003. Métodos para recolectar insectos. *Revista de agricultura tropical*. 33: Pp: 59-68.

Noireau, F., Diosque, P. y Jansen, A. 2009. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. *Veterinary research*. 40 (2): 1-23

Ortega, G., Beltrán, H. F. y Zavala, V. J. 1976. Enfermedad de Chagas en Chiapas. Estudios clínicos epidemiológicos. *Salud Pública de México*. 5 (18): 837-843.

Pacheco-Castro, J., Lugo-Pérez, J.A., Tzuc-Canché, L. y Ruiz-Piña, H.A. 2013. Estudios multidisciplinarios de las enfermedades zoonóticas y ETVs en Yucatán. Universidad Autónoma de Yucatán Mérida, Yucatán, México.

Palau, M. (1996). Estudio experimental del impacto de la estructura clonal de *Trypanosoma cruzi* sobre aspectos Médico-Biológicos. Tesis de Doctorado. Universidad Complutense de Madrid. Madrid.

Palmezano, J.M., Plazas, L.K., Rivera, K.E. y Rueda, V.P. 2015. Enfermedad de Chagas: realidad de una patología frecuente en Santander, Colombia. *MéD. UIS*. 28(1):81-90

Pérez-España, V., Morales-Evangelista, C., Vazquez-Chagoyá, J., Valladares Carranza, B., Romero.Cortés, T., Cuervo-Parra, J., Martínez-Hernandez, I., Noguez-García, J. y Aparicio-Burgos, J. 2019. Caracterización molecular de aislados de *Trypanosoma cruzi* de triatomíneos recolectados en los municipios del Estado de Hidalgo, México. *Nova Scientia*. 22 (11): 171-185.

Pérez- Farrera, M.A y Espinoza, E. 2010. Depresión Central-Comalapa, Chiapas. En G. Caballos, L. Martínez, A. García, E. Espinoza, J. Bezaury y R. Dirzo. (Eds), Diversidad, amenazas y áreas prioritarias para la conservación de las Selvas Secas del Pacífico de México. Primera edición. (CONABIO). México, D.F. Pp.543-547.

Pereira, A. y Pérez, M. 2003. Tripanosomosis. Enfermedad de Chagas y enfermedad del sueño. *Offarm: farmacia y sociedad*. 22, (2), pp. 104-111.

Ramírez, J., Hernández, C., Montilla, M., Zambrano, P., Flórez, A., Parra, E., Cucunubá, Z. 2013. First Report of Human *Trypanosoma cruzi* Infection Attributed to TcBat Genotype. *Zoonoses and Public Health*. 61: 477–479.

Ramsey, J., Odoñez, R., Tello-López, A., Pohls, J., Sánchez, V. y Peterson, A. 2014. Actualidades sobre la epidemiología de la enfermedad de Chagas en México: Iniciativa para la vigilancia y control de la enfermedad de Chagas en México. Ed. Instituto Nacional de Salud Pública, México. PP 85-104

Ramsey, J.M., Townsend-Peterson, A., Carmona-Castro, O., Moo-Llanes, D.A., Nakazawa, Y., Butrick, M., Tun-Ku, E., de la Cruz-Félix, K y Ibarra-Cerdeña, C.N. 2015. Atlas of Mexican Triatominae (Reduviidae: Triatominae) and vector transmission of Chagas disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 110: 339-352.

Rassi, A., Anis, R. y Marín-Neto, J. 2010. Chagas disease. *Lancet*. 375 (9723): 1388- 1402.

Roja-Medina, J., Ruiz, C., Salazar-Schettino, P.M. y González-Roldán, J.F. 2018. Enfermedad de Chagas en México. *Gaceta Médica de México*. 154:605-612.

Ruggiero, M., Gordon, P., Orrell, T., Bailly, N., Bourgoin, T., Brusca, R., Cavalier-Smith, T., Guiry, M. y Kirk, P. 2015. A High Level Classification of all Living Organisms. *PLoS ONE*. 10 (4): e0119248.

Ruiz-Colorado, M. C., Rivas-Acuña, V., Gerónimo-Carrillo, R., Hernández-Ramírez, G., Soancatl-Castro, M. y Damian-Pérez, R. 2016. Nivel de conocimiento y factores de riesgo de la enfermedad de Chagas en una comunidad de Cárdenas, Tabasco, México. *Salud en Tabasco*. 22 (3): 61-69.

Salazar-Schettino, P. M., Haro-Arteaga, I. D., Cabrera-Bravo, M., 2005. Tres especies de triatomíneos y su importancia como vectores de *Trypanosoma Cruzi* en México. *Medicina*, 65(1): 63-69.

Salazar-Schettino, P.M., Bucio, M., Cabrera, M y Ruiz, A. 2011. Presentación de dos casos de enfermedad de Chagas aguda en México. *Gaceta Medica de México*. 147: 63.9.

Salazar-Schettino, P., Bucio-Torres, M., Cabrera-Bravo, M., Alba-Alvarado, M., Castillo-Saldaña, D., Zenteno-Galindo, E., Rojo-Medina, J., Fernández Santosa, N. y Perera-Salazar, M. 2016. Enfermedad de Chagas en México. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. 59(3): 6-16.

Salazar-Schettino, P. M., Bucio-Torres, M. I., Rojo-Medina, J. y Valencia, Y. V. 2019. Manual de procedimientos para la enfermedad de Chagas en México. Ciudad de México, México.

Sánchez-Guerrero, S. A. 2010. La seguridad de la transfusión sanguínea en México. *Medicina Universitaria*. 46 (12): 79-83.

Sánchez, L. 2018. Identificación de Linajes de *Trypanosoma cruzi* presentes en Chagas congénito: un estudio basado en madres transmisoras y no transmisoras. Tesis de Maestría en Microbiología. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Perú.

Sandoval-Ruiz, C. A., Zumaquero-Rios, J. L., Linares, G., Aguilar, R. A., Ramírez, M. L. C. y Olguin, J. F. L. 2004. Infección natural con *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), vectores de la enfermedad de Chagas en San Antonio Rayón, Jonotla, Puebla, México. *Tecnociencia*. 6 (1): 39-47.

Sanmartino M y Crocco L. 2000. Conocimientos sobre la enfermedad de Chagas y factores de riesgo en comunidades epidemiológicamente diferentes de Argentina. *Pan Am. J. Public Health*. 7, 173-178

Segura, E. L. y Escobar-Mesa, A. 2005. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz. *Salud pública de México*. 47 (3): 201-208.

Silveira, A.C. 2014. Transmisión vectorial de *Trypanosoma cruzi* y su control. In: Medici, A., Flores, H y Gaarder, M. (eds.), Programa Regional para el Control de la Enfermedad de Chagas en Latinoamérica. Iniciativa de Bienes Públicos Regionales. Banco Interamericano de Desarrollo. Washington, D.C. pp. 19-68.

Solís-Franco, R., Romo-Zapata, A., Martínez-Ibarra, J. 1997. Wild Reservoirs Infected by *Trypanosoma cruzi* in the Ecological Park "El Zapotal", Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 92: 163-164.

Toso, A., Vial, F. y Galanti, N. 2011. Transmisión de la enfermedad de Chagas por vía oral. *Rev med Chile*. 139: 258-266.

Ucan-Euan, F., Hernández, S., Arjona, M., Panty, A y Torres, M. 2019. Estudio histopatológico de tejido cardíaco de roedores infectados con *Trypanosoma cruzi* capturados en barrios suburbanos de Mérida, México, *Biomédica*, 39 (2), pp. 32–43. doi:10.7705/biomedica.v39i3.4192

Velasco-Castrejón, O. y Rivas-Sánchez, B. 2008. Apuntes para la historia de la enfermedad de Chagas en México. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*. 65 (1): 57-79

Vidal-Acosta, V., Ibáñez-Bernal, S. y Campos, C. 2000. Infección natural de chinches triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud Pública de México*. 6 (42): 496-503.

Zingales, B., Andrade, S., Briones, M. Campbell, D., Chiari, E., Fernandes, O., Guhl, F., Lages-Silva, E., Macdo, A., Machado, C., Miles, M., Romanha, A., Sturm, N., Tibayrenc, M. y Schijman, A. 2009. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revisión meeting recommends TcI to TcVI. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 104 (7): 1051-1054



XII. ANEXOS



Anexo 1. Encuesta aplicada

Proyecto de investigación:

Estudio de la enfermedad de Chagas en el municipio de El Parral, Chiapas

Fecha: ____/____/____

Folio: _____

Edad: _____

Masculino: () Femenino: ()

Escolaridad: _____

Ocupación: _____

Lugar de origen: _____

Localidad: _____

Conocimientos

Vector

¿Conoce al insecto?

¿Lo identifica con algún nombre(s)? (especificar)

¿Cómo lo identifica?

¿Lo ha visto en su vivienda o alrededores?

¿Conoce la importancia del insecto?

Percepción

¿Asocia al insecto con algún árbol o vegetación en su casa?

¿Asocia al insecto con algún animal?

¿Asocia al insecto con alguna temporada (Lluvia o seca)?

¿Lo considera peligroso?

¿Le ha picado y que le provocó?

Conocimientos

Enfermedad

¿Sabe que es la enfermedad de Chagas?

¿Sabe cómo se transmite?

¿Sabe cómo afecta?

¿Sabe del tratamiento?

¿Cómo supo de ella?

Percepción

¿Asocia la enfermedad con algún/algunos síntomas?

¿Qué sentiría si fuera un paciente con esta enfermedad? _____

¿Tiene la enfermedad? _____

¿Conoce a alguien diagnosticado con la enfermedad? _____

¿Cómo fue su experiencia? _____

¿Cómo se atendió? _____

¿Cómo le ha afectado en su salud, economía, socialmente? _____

¿Qué le preocupa de la enfermedad? _____

Condiciones del intradomicilio

Material de construcción de la vivienda

Techo	_____
Muro	_____
Piso	_____

Prácticas

Uso de malla mosquitera	_____
Fumigación	_____
Frecuencia	_____

Condiciones del peridomicilio

Materiales presentes

Madera	_____
Leña	_____
Teja	_____
Block	_____
Ninguno	_____

Prácticas Frecuencia de limpieza _____

¿El departamento de vectores visita su localidad? _____

¿Con qué frecuencia? _____

Animales

	Intradomicilio	Peridomicilio	Especificar
Animales domésticos	_____	_____	_____
Animales de corral	_____	_____	_____
Animales silvestres	_____	_____	_____

Convivencia

Frecuente	_____
No muy frecuente	_____

Criaderos

Gallineros	_____
Corrales	_____
Jaulas	_____
Ninguno	_____