



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA INFECCIÓN DE *Trypanosoma cruzi* EN
EL DESARROLLO DE *Triatoma barberi* Usinger (HEMIPTERA: REDUVIIDAE)**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A

MARIA DEL ROSARIO TOVAR TOMÁS

DIRECTOR:

DR. MARCO ANTONIO BECERRIL FLORES

MINERAL DE LA REFORMA, HIDALGO. 2016



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
Institute of Basic Sciences and Engineering
Área Académica de Biología
Biology Department

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
 DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR, UAEH

PRESENTE

Por este conducto le comunico que el Jurado asignado a la pasante de Licenciatura en Biología (María del Rosario Tovar Tomás), quien presenta el trabajo recepcional de tesis intitulado “(evaluación del efecto de la infección de *Trypanosoma cruzi* en el desarrollo de *Triatoma barberi* Usinger (Hemiptera: Reduviidae))”, después de revisarlo en reunión de sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

- PRESIDENTE: Dra. Carmen Balderas Delgadillo
- SECRETARIO Dr. Marco Antonio Becerril Flores
- PRIMER VOCAL: Dr. Ignacio Esteban Castellanos Sturemark
- SEGUNDO VOCAL: M. en C. Judith Berenice Alemán García
- TERCER VOCAL: Biol. María del Carmen González Rodríguez
- PRIMER SUPLENTE: Nutr. Karina Paz Alfaro
- SEGUNDO SUPLENTE: Quím. Raúl Marines Lugo

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi más atenta consideración.

ATENTAMENTE
“AMOR, ORDEN Y PROGRESO”
 Mineral de la Reforma, Hidalgo a 1° de diciembre de 2015

BIOL. ULISES ITURBE ACOSTA
COORDINADOR DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA



c.c.p. Archivo



Ciudad del Conocimiento
 Carretera Pachuca - Tulancingo km. 4.5
 Colonia Carboneras
 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 4211
 Tel. +52 771 7172000 exts. 6640 y 6642, Fax 2112
 aab_icbi@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

Agradecimientos

Al Doctor Marco Antonio Becerril Flores, por brindarme su ayuda, por darme la oportunidad de trabajar con él, mil gracias por las enseñanzas, por trasmitirme sus conocimientos que me han sido de gran ayuda para la realización de este trabajo. Mil gracias por confiar en mí.

A mis amigos que siempre estuvieron conmigo.

Carlos, julio, lupita, delia, Neri.

A mis amigos que conocí en la carrera gracias por su apoyo.

Karen, Aseneth, Alejandro, Dani, Rafa, lupis, Jona.

A mis compañeros de laboratorio

José por todos los consejos que me fueron de gran enseñanza en este tiempo, por dedicarme de su tiempo trasmitiéndome su conocimiento.

A Karina, Gustavo, Paty por hacer que los días en laboratorio sean agradables, por apoyarme con lo que necesitaba.

A mis sinodales por darme sus consejos y opiniones para terminar este trabajo sin ustedes no hubiera sido posible terminar, mil gracias.

Dra. Carmen Balderas, maestra Judith, maestra Carmen González, Dr. Nacho, Químico Raúl, maestra Karina.

Agradecimientos especiales

A mi mamá, Aida Tomas Vite: gracias mamita por tenerme tanta paciencia, por apoyarme siempre, por estar a mi lado, por creer en mí, y a pesar de tantos problemas que hemos pasado juntas hemos salido adelante, gracias a ti he podido lograr y alcanzar muchas metas, gracias a lo cual ahora soy muy feliz, pero toda esa felicidad te la debo a ti, y por eso no tengo palabras para expresarte lo agradecida que me siento. Simplemente por ser la mejor mamá del mundo te amo.

A mis hermanos Marco, Érica, porque siempre están a mi lado apoyándome, aunque a veces peleamos, pero estamos juntos los amo.

A chucho, gracias amor por apoyarme en todo, por siempre estar a mi lado y nunca dejarme caer. Te amo

A ti mi niño porque llegaste a cambiar mi vida le diste alegría cuando más lo necesitaba te amo Gari.

A mi papa, Guadalupe Tovar Hernández; a ti te debo lo que hoy tengo lo que hoy soy porque siempre me enseñaste que la mejor manera de ganarse la vida era trabajando, eres mi guía para mantenerme a flote en este mundo, siempre en la dirección correcta, siempre estuviste ahí para mí, cuando te necesitaba fuiste mi mejor maestro en esta vida, para cualquier problema tu tenías una solución, todos tus consejos a un los llevo en mi memoria porque a pesar del tiempo jamás de olvidare, no sabes la falta que me haces pero estoy feliz, con lo que hoy eh realizado gracias a todo lo que tú me diste porque nunca necesite de lujos para ser feliz, siempre tuve tu amor . Compartimos tantas cosas, pero yo creo que siempre serán insuficientes para toda la vida que estuvimos juntos te amé, sé que muchas veces te lo dije, pero a veces pienso que no fueron las que te merecías. Quien podrá describir el dolor que embargó mi corazón con tu partida, creo que nadie; única e inmemorable fue tu labor como padre, pero sobre todo como amigo, la cual quedara eternamente grabada en nuestras mentes, pero ante todo en mi corazón son muchos recuerdos felices son muchos y a ellos me aferro a ellos para darle fuerza y sentido a mi vida, aunque es inevitable el dolor que embarga cada parte de mi corazón, que de noche desde lo más profundo de mí ser. Papá yo siempre te dije que yo estaría ahí siempre para ti y prometo que será así, sólo te pido fuerzas para poder seguir este camino sin ti, y donde tu estés ten por seguro que tu hija te amara por siempre y jamás te olvidare, estaré por siempre recordándote.

“En dos palabras puedo resumir cuanto he aprendido acerca de la vida: Sigue adelante” Robert Frost

Contenido

Resumen	1
1. Introducción	2
2. Marco teórico	4
2.1. Factores epidemiológicos	4
2.2 Agente etiológico	6
2.3. Mecanismos de transmisión en la Enfermedad de Chagas	8
2.3.1. Transmisión vectorial	8
2.3.2. Transmisión transfusional	9
2.3.3. Transmisión vertical o vía congénita	9
2.3.4. Transmisión por vía oral	10
2.3.5. Transmisión por leche materna	11
2.3.6. Transmisión por accidentes de laboratorio	11
2.3.7. Transmisión por trasplante de órganos	12
2.3.8. Otros mecanismos de transmisión	12
2.4. Ciclo biológico del parásito	12
2.5. Manifestaciones clínicas	15
2.6. Diagnóstico	16
2.7. Tratamiento	16
2.8. Transmisores de <i>T. cruzi</i>	18
2.8.1 Ubicación taxonómica	18
2.8.2. Aspectos morfológicos que caracterizan a la subfamilia Triatominae:	19
2.9 Distribución geográfica de triatóminos	22
2.11 <i>Triatoma barberi</i>	25
2.11.1 Características morfológicas	26
2.12 Control de la transmisión de <i>T. cruzi</i> por <i>Triatoma barberi</i>	27

3. Antecedentes	28
4. Justificación	32
5. Objetivo general	33
5.1. Objetivos particulares	33
6. Material y Método	34
6.1. Mantenimiento de triatóminos en el laboratorio	34
6.2. Selección de triatóminos y obtención de <i>T. cruzi</i>	34
.....	35
6.3. Cálculo de la densidad de la sangre de ratón	35
6.4. Determinación del número de parásitos en sangre de ratón en cámara de	36
Neubauer:	36
6.6. Determinación del ciclo de desarrollo de <i>Triatoma barberi</i>	37
6.7. Infección de triatóminos controles (<i>Triatoma longipennis</i>) con <i>T. cruzi</i>	38
6.8. Observación del comportamiento de triatóminos infectados y no infectados	38
7. Resultados	39
7.1. Efecto del desarrollo de <i>Triatoma barberi</i> por la presencia de <i>Tripanosoma. cruzi</i>	39
7.2. Efecto del desarrollo de <i>Triatoma longipennis</i> por la presencia de <i>T. cruzi</i>	40
7.3. Presencia de las diferentes fases de <i>T. cruzi</i> sobre el desarrollo de los triatóminos en <i>T. barberi</i>	41
7.4. Presencia de las diferentes fases de <i>T. cruzi</i> sobre el desarrollo de los triatóminos <i>T. longipennis</i>	43
7.4. Presencia de las diferentes fases de <i>T. cruzi</i> sobre el desarrollo de los triatóminos <i>T. longipennis</i>	44
7.5. Cambio de estadios de <i>Triatoma barberi</i>	45
7.6. Cambio de estadios de <i>Triatoma longipennis</i>	46
8. Discusión	47

9. Conclusiones	52
10. Bibliografía	53

Índice de figuras.

Figura 1. Fases morfológicas de las de los diferentes estadios de <i>T. cruzi</i>	7
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Tripanosoma Cruzi</i>	14
Figura 3. Vista dorsal de un triatómino.	20
Figura 4. Estructura cefálica de los triatóminos.	20
Figura 5. Vista dorsal general de un triatómino.	21
Figura 6. Estadios morfológicos por los que pasa un triatómino..	22
Figura 7. Principales especies de triatóminos domiciliarias y peridomiciliarias distribuidas en México.....	23
Figura 8. Distribución geográfica de <i>Triatoma barberi</i> en el estado de Hidalgo.....	25
Figura 9. Distribución geográfica de las especies de triatóminos reportadas en México.....	26
Figura 10. Mantenimiento de la colonia de <i>T. barberi</i>	34
Figura 11, Triatóminos alimentándose	35
Figura 12. Corte de cola para la obtención de sangre.....	35
Figura 13. Cámara de Neubauer.....	36
Figura 14. Extracción de heces de triatóminos.....	37
Figura 15. Cinética de metaciclojenia de <i>T. cruzi</i> en los diferentes estadios de <i>Triatoma barberi</i>	39
Figura 16. Cinética de metaciclojenia en los diferentes estadios de <i>Triatoma longipennis</i>	40

Resumen

Insectos del orden hemíptero denominados triatóminos tienen la capacidad de transmitir al protozoo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, el cual es el agente causal de la enfermedad de Chagas, un padecimiento que puede conducir a la muerte del ser humano. La infección se presenta principalmente cuando los triatóminos infectados con el parásito defecan sobre la piel del huésped vertebrado durante el momento de la picadura ya que son hematófagos. Gracias a la comezón el hospedero se rasca y favorece la penetración de *T. cruzi*. La capacidad de transmisión de los triatóminos se ha llegado a presentar en las diferentes fases de su desarrollo, las cuales son cinco ninfales y los adultos macho o hembra. Por otro lado, se sabe que *T. cruzi* es un protozoo que puede encontrarse en diferentes estadios morfológicos, los más frecuentes son el epimastigote, amastigote y el tripomastigote, este último se considera como infectante. Aunque los triatóminos puedan estar infectados con *T. cruzi* se desconoce si todas las fases puedan estar infectadas con el parásito y en qué grado, igualmente no se sabe si *T. cruzi* afecta el desarrollo completo de los triatóminos o viceversa, si estos favorecen alguna fase del protozoo.

En este trabajo se investigó el efecto de la presencia de *T. cruzi* sobre el desarrollo de los triatóminos. Para ello se inocularon 30 ejemplares de la especie *Triatoma barberi*, desde segundo estadio hasta adulto, hembra o macho, cinco triatóminos de cada fase. Cada triatómino se infectó con una cantidad de $3 - 5 \times 10^5$ parásitos y se dejaron incubando durante más de 100 días registrando la cinética de parásitos en heces y las fases de *T. cruzi*.

Los resultados demostraron que la principal fase de *T. cruzi* observada fue el epimastigote en todos los estadios de los triatóminos; que entre más desarrollado estaba el insecto mayor cantidad de parásitos eliminaban; sin embargo, la fase más infectada fue la de quinto estadio; la parasitación sí afectó el desarrollo de los triatóminos de *Triatoma barberi* y de la especie testigo que se utilizó, *Triatoma longipennis*.

1. Introducción

La enfermedad de Chagas es una zoonosis endémica del Continente Americano, donde se han registrado casos de infección humana por *Trypanosoma cruzi*. En México, se considera que al menos un millón y medio de habitantes están infectados por *T. cruzi*, donde se registran 70,000 casos por año (Ramsey *et al.*, 2003). Se estima que más de 70 millones de habitantes están en riesgo de contraer la infección, dado que viven en zonas endémicas y que 20 millones más están igualmente en riesgo por residir o visitar esas regiones ocasionalmente (Ramsey *et al.*, 2003).

El agente causal es el protozoo flagelado *T. cruzi*, presenta tres fases principales de diferenciación: amastigote, tripomastigote y epimastigote; puede infectar tanto vertebrados que están formados por todos aquellos animales homeotermos incluyendo el humano, como los invertebrados que son insectos hemípteros reducidos llamados triatóminos. En el huésped vertebrado las fases de *T. cruzi* que pueden encontrarse son el tripomastigote sanguíneo y el amastigote, mientras que en el insecto se pueden identificar principalmente el epimastigote y el tripomastigote metacíclico (Miles, 2004; Buekens *et al.*, 2013).

Los triatóminos son conocidos en diversos lugares de Latinoamérica con diferentes nombres: chinche, chinche besucona, asesina, barbeiro, buscona, voladora, chupadora, vinchuca, chupasangre, chipo o turicata (Salazar *et al.*, 2005). Los géneros *Rhodnius*, *Triatoma* y *Panstrongylus*, comprenden las especies más importantes desde el punto de vista epidemiológico (Miles *et al.*, 2003; Buscaglia *et al.*, 2003). México es uno de los países con mayor número de especies de triatóminos, las cuales están presentes en todos los estados del país; de estos, dos géneros son los más importantes: *Triatoma* y *Meccus*. De las 31 especies registradas en nuestro país, 19 se han encontrado naturalmente infectadas con *T. cruzi* (Cruz-Reyes y Pickerin-López, 2006). Una de las principales especies de triatóminos en México que actúa como vector del parásito es *Triatoma barberi* (Unsiger, 1944), la cual se encuentra registrada en 12 estados: Colima, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tlaxcala, Veracruz y el Distrito Federal. En el estado de Hidalgo se han reportado 17 municipios infectados con triatóminos. Estos reducidos tienen cinco estadios ninfales además de la fase adulta, hembra o macho.

En cuanto a los triatóminos infectados con *T. cruzi* se conoce muy poco sobre las fases infectantes y si influyen sobre el desarrollo del insecto, pues ello permitirá comprender los aspectos biológicos que se relacionan con la colonización del parásito, así como aplicar metodologías de control de su transmisión y con ello evitar la infección.

2. Marco teórico

2.1. Factores epidemiológicos

La enfermedad de Chagas está ubicada en el hemisferio occidental, y se encuentra ampliamente distribuida en las zonas rurales y periurbanas de las ciudades tropicales y subtropicales. Es un problema de salud pública permanente en casi el 25% de la población latinoamericana, cuyas tasas de prevalencia varía de región en región; la prevalencia total de la infección por *T. cruzi* en el continente americano se estima en 16 a 18 millones de casos con 100 millones de individuos en riesgo de infección (Coura, 2007). De acuerdo con la OMS, este padecimiento figura entre las parasitosis más importantes en América, entre las cuales se encuentran, además, la malaria, schistosomiasis y leishmaniosis, entre otras (Hayes y Schoefield, 1992). Geográficamente está confinada en América y se extiende desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Chile y Argentina. Las condiciones sociales tienen mucha importancia para que se presente. Afecta principalmente a las clases más pobres de las regiones endémicas. La edad es importante en la epidemiología, se han encontrado casos de esta infección en personas desde temprana edad, desde los primeros meses de vida y de igual manera en la gente de mayor edad (Cervallos y Hernández, 1992). Cabe señalar que la infección ocurre por igual en el sexo masculino y femenino, no existiendo discriminación aparente entre los distintos grupos raciales expuestos a *T. cruzi*. Indudablemente, los mayores índices de prevalencia ocurren entre los grupos poblacionales socioculturalmente más pobres (WHO, 1960).

La enfermedad de Chagas se considera una de las mayores preocupaciones en materia de salud pública en América Latina (Texeira *et al.*, 2006). A pesar de los adelantos en los estudios epidemiológicos de la enfermedad, es difícil determinar con exactitud su incidencia y prevalencia. La distribución de los vectores y de los reservorios es mayor a la de los casos humanos de infección (Maldonado-Rodríguez, 2000) y la probabilidad de infección varía de acuerdo a las vías de transmisión, características patogénicas de los parásitos, la presencia o ausencia de transmisores y reservorios que se presenten en una región endémica.

Está ampliamente distribuida en América Latina, los países más afectados son: Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay, Uruguay, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua (Guzmán-Bracho, 2001; Werner, 2006). Sin

embargo, no deja de ser un problema de salud pública en la mayoría de los países del continente americano, entre ellos nuestro país. No existían antecedentes de encuestas seroepidemiológicas masivas como las llevadas a cabo en Argentina, Brasil y Venezuela, por lo que no se había establecido un título de corte para considerar infección en la población mexicana, según lo señalado por Camargo 1987 "el límite serológico cuantitativo entre individuos infectados y no, varía de acuerdo a la región, por lo que en los laboratorios locales deben realizarse estudios serológicos cuantitativos que delimiten las poblaciones chagásicas de las no chagásicas"(Trujillo-Contreras *et al.*, 1993). En México la infección fue descrita por primera vez por Luis Mazzoti en 1949. Actualmente se estima que en nuestro país existe una seroprevalencia nacional promedio de 1.6 % (Espinoza- Gómez *et al.*, 2002).

Hasta el momento se tienen registrados 31 especies de triatóminos de los cuales los más abundantes son: *T. longipennis*, *T. dimidiata*, *T. barberi*, *T. phyllosoma*, *Meccus pallidipennis*, *T. picturata* y *Rhodniux prolixus* (Salazar-Shenttino *et al.*, 2010). Las especies con mayor riesgo de infección según estudios hechos en los últimos años son: *M. pallidipennis*, *T. picturata*, y *T. longipennis* en los estados de Nayarit, Morelos y Michoacán principalmente (Vidal-Acosta *et al.*, 2000).

2.2 Agente etiológico

Trypanosoma cruzi es un protista de la clase Zoomastigophora, familia Trypanosomatidae, caracterizado por la presencia de un solo flagelo y una sola mitocondria, cuyo genoma se encuentra ordenado en una compleja y compacta región (dentro de la propia mitocondria, y cerca de la base del flagelo), denominada cinetoplasto. Es un parásito intracelular con un ciclo de vida que involucra vertebrados e invertebrados. La clasificación taxonómica más reciente es la siguiente (Adl *et al.*, 2012):

Reino protozoa

Sub-reino Eozoa

Filo Euglenozoa

Clase Zoomastigophora

Orden Trypanosomatida

Familia Trypanosomatidae

Género *Trypanosoma*

Especie *Trypanosoma cruzi*

Se ubica en esta clase debido a la presencia de una característica notable en su composición celular; un orgánulo llamado cinetoplasto con genoma propio (kDNA) de 24 micrómetros (μm), variando en tamaño entre especies. Su arreglo molecular es circular de dos tipos maxicírculos. Con un intervalo de 20 a 40 kilobases (kb), los maxicírculos codifican genes mitocondriales, es decir de carácter metabólico y los minicírculos de 0.5 a 10 kb, tienen como función la codificación de subunidades guía y de RNAs (gRNAs) de los maxicírculos (Lukes *et al.*, 2002; Simpson *et al.*, 2002).

El parásito se multiplica y se diferencia en el tracto digestivo de los insectos triatóminos. Ya que éste se alimenta de sangre y pueden infectarse al chuparle sangre a un animal portador de la infección, ingiriendo así al parásito en su estadio de tripomastigotes. Este parásito presenta principalmente 3 fases: tripomastigote, epimastigote y amastigote, que se pueden identificar por la posición del cinetoplasto con respecto al núcleo y la forma redondeada del amastigote (Figura 1). Cabe hacer mención que más de 10 fases también se han identificado, sin embargo, son fases inestables (García, y Azambuja 2010, Roellig *et al.*, 2013).

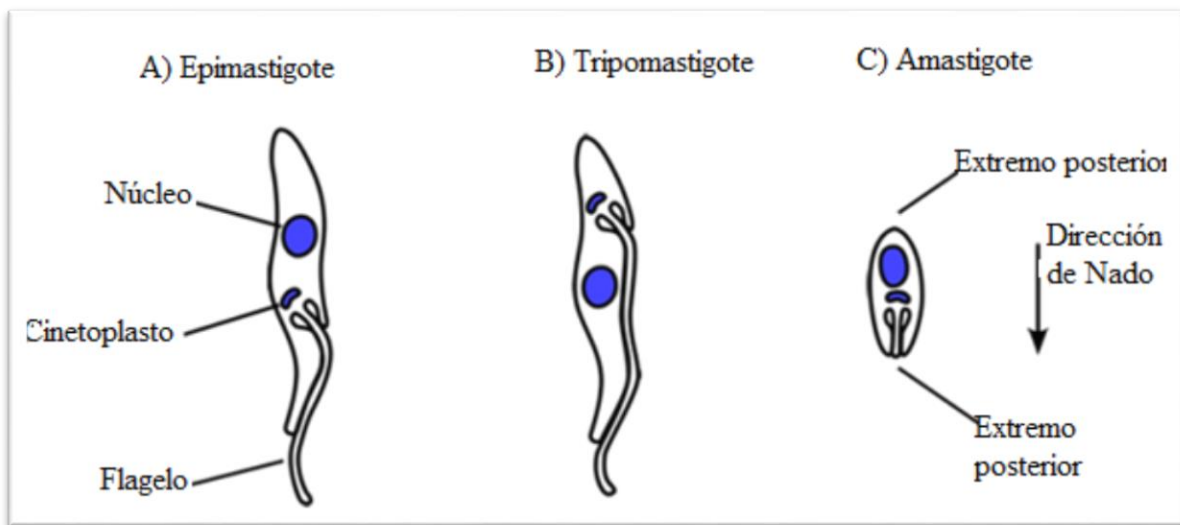


Figura 1. Fases morfológicas de las de los diferentes estadios de *T. cruzi* (Tomado Guzmán-Marín; 1999)

Amastigote: Es el estadio de desarrollo intracelular del ciclo de vida de *Tripanosoma cruzi* en hospederos vertebrados e invertebrados es esférico u ovoide, mide de 1.5 a 5 μm de diámetro, presenta núcleo, cinetosoma y cinetoplasto, el flagelo está reducido y envuelto por el cinetoplasto (Guzmán-Marín,1999).

Epimastigotes: Es la etapa replicativa extracelular, mide 20 μm , presenta un cuerpo alargado, el cinetosoma y el cinetoplasto están en la parte media del organismo justo por delante del núcleo, usualmente en la región anterior del cuerpo; el flagelo está dispuesto a lo largo de la membrana ondulante, emerge en la porción anterior distal y se continua como

undilipodio libre más pequeño que en los tripomastigotes. Se puede encontrar en el intestino medio del vector y en medios de cultivo (Benchimol Barbosa, 2006).

Tripomastigote: cuerpo delgado, cinetosoma y cinetoplasto posterior al núcleo, en la porción posterior del parásito. El undilopodio emerge por un lado del cuerpo y se extiende hacia la región anterior junto con la membrana ondulante y está libre anteriormente. La reproducción ocurre por fisión binaria y presenta pleomorfismo. Es la fase infectiva de los hospederos vertebrados e invertebrados. Fase que no es replicativa (Benchimol Barbosa, 2006).

2.3. Mecanismos de transmisión en la Enfermedad de Chagas

Las formas habituales de transmisión de la enfermedad de Chagas humana reconocidas son aquellas relacionadas directamente con el insecto vector, con la transfusión de sangre, la vía congénita y, más recientemente, las que ocurren vía oral dada por la ingestión de alimentos contaminados. Mecanismos menos comunes incluyen accidentes de laboratorio, manejo de animales infectados, trasplante de órganos y por la leche materna. Una vía teóricamente posible, pero extremadamente rara es la transmisión sexual (Guzmán Bracho, 1986, Crocco 1994).

2.3.1. Transmisión vectorial

La transmisión vectorial es la principal vía de contagio de la enfermedad de Chagas, la cual se estima en más del 80% de los casos conocidos, en áreas tradicionalmente endémicas y en nuevas áreas, explicando la mayoría de las 200,000 nuevas infecciones que ocurren anualmente en América Latina. La transmisión vectorial se realiza indirectamente, por el contacto de la materia fecal con parásitos, ya sea con el orificio de la piel producido por la picadura del triatómino para succionar sangre, o por el depósito de heces sobre mucosas del huésped. Otra vía de transmisión vectorial posible es la transmisión oral descrita desde la década de 1960, en casos aislados y en forma de brotes (Garrido *et al.*, 2007).

Se debe considerar el mecanismo primario de difusión de la enfermedad, ya que de él dependen las otras formas de transmisión. Entre las más de 120 especies de insectos vectores, todas de la subfamilia Triatominae, hay consenso de que cerca de 12 especies son las que importan para la infección humana, por su capacidad de invadir y procrear dentro de las casas.

Entre ellas, *Triatoma infestans* al sur y *Rhodnius prolixus* y *Triatoma dimidiata*, al norte de la línea del Ecuador (Garrido *et al.*, 2007).

Independientemente de las especies que se encuentren, todas las especies son transmisoras desde sus etapas ninfales hasta las adultas. Sin embargo, un dato interesante es que la capacidad transmisora del reduvido, además de su comportamiento, puede ser distinta para cada especie (Alejandre *et al.*, 1993), de aquí que las medidas profilácticas de esta enfermedad deben estar dirigidas principalmente al control de triatóminos (Guzmán, 2001; Ramsey y Schofield, 2003).

2.3.2. Transmisión transfusional

La transmisión transfusional de la enfermedad de Chagas, sugerida por Mazza, en 1936, fue confirmada en 1952 por Pedreira de Freitas, al publicar los dos primeros casos de pacientes infectados por esta vía. Se volvió la segunda vía más importante de propagación en los centros urbanos, siendo considerada la principal forma de transmisión en países no endémicos (Canadá, España, EEUU) y en países latinoamericanos que se encuentren en proceso de erradicación del vector (Guzmán *et al.*, 1999).

La posibilidad de infección por la transfusión de sangre, depende de varios factores, como la presencia de parasitemia en el momento de la donación, volumen de sangre transfundido, estado inmunológico del receptor, prevalencia de la infección por el *T. cruzi* entre los candidatos a donantes de sangre y de la calidad de la sangre transfundida. Con excepción del plasma liofilizado y derivados sanguíneos expuestos a procedimientos físico-químicos de esterilización (albúmina y gamaglobulina), todos los componentes sanguíneos son infectantes. Si se mantiene a temperatura ambiente, el *T. cruzi* permanece viable a 4° C de 18 a 250 días (Guzmán *et al.*, 1999).

2.3.3. Transmisión vertical o vía congénita

La prevalencia de la infección por *T. cruzi* en gestantes, es el principal factor de riesgo para la infección congénita, varía de 5 a 40% según el área geográfica. La infección congénita por *T. cruzi* continuará siendo un problema de salud pública en los países latinoamericanos por lo menos, durante los próximos 30 años, cuando se espera que el número de mujeres infectadas en edad fértil sea reducido significativamente (Guzmán *et al.*, 1999).

La principal vía de la transmisión vertical es la transplacentaria y puede ocurrir en cualquier fase de la enfermedad materna: aguda, indeterminada o crónica. La transmisión también puede suceder en cualquier momento de la gestación, siendo más probable en el último trimestre, u ocurrir al pasar por el canal del parto, por el contacto de las mucosas del feto con la sangre de la madre infectada (Leiby *et al.*, 1999).

Los factores relacionados con la transmisión congénita de la enfermedad de Chagas aún son poco conocidos, pero se sabe que la madre puede transmitir el parásito en una gestación y no transmitir en la gestación siguiente. El grado de parasitemia y las características de la población del parásito en las madres infectadas, factores placentarios, obstétricos, inmunitarios y de nutrición materna pueden estar relacionados con ese mecanismo de transmisión (Stahl *et al.*, 2013).

La infección materna por *T. cruzi* puede afectar el crecimiento y la madurez de los fetos infectados y causar aborto, prematuridad, crecimiento intrauterino retardado y malformaciones fetales. No hay un perfil clínico único de la enfermedad de Chagas congénita, lo que indica que las señales clínicas no son buenos marcadores de la infección y refuerza la necesidad de diagnóstico de laboratorio (Stahl *et al.*, 2013).

2.3.4. Transmisión por vía oral

La transmisión oral, común entre animales en el ciclo silvestre, es esporádica y circunstancial en humanos y ocurre por la ingesta de alimentos conteniendo triatóminos o sus deyecciones. Los brotes aparecen de forma súbita, afectando a un pequeño número de personas. Generalmente coinciden con épocas de calor, debido a alguna mayor actividad de los triatóminos (mayor movilidad de vectores, mayor hematofagia, mayor contaminación del ambiente con heces infectadas, mayor producción de casos agudos por la vía vectorial clásica (Baruch *et al.*, 2006)

La vía oral tuvo un realce en el 2005, debido al brote en Santa Catarina, Brasil. En ese episodio, fueron identificados 45 casos sospechosos de Enfermedad de Chagas Aguda relacionados a la ingesta de jugo de caña de azúcar, 31 con confirmación de laboratorio y cinco muertes (Baruch *et al.*, 2006).

Esta transmisión generalmente ocurre en lugares definidos, en un determinado momento, por diferentes tipos de alimentos generalmente encontrándose vectores o reservorios infectados en las inmediaciones del área de producción, manipulación o utilización de alimentos contaminados con heces y orina de triatóminos, o incluso por ingesta de triatóminos por hábitos alimentares regionales. Entre los alimentos, se pueden incluir sopas, caldos, jugos de caña de azúcar o así, comida casera, leche, carne de caza semicruda. De acuerdo con la temperatura, humedad y disecación, el *T. cruzi* puede permanecer vivo por algunas horas o días. A bajas temperaturas, su viabilidad puede ser de semanas. Se sabe que cocinar superficialmente los alimentos no elimina al agente, pero procedimientos como pasteurización, cocción a más de 45° C y liofilización lo eliminan (López *et al.*, 2000).

En la mayoría de los eventos, se puede comprobar la asociación de la ocurrencia de casos con el consumo de alimentos in natura, como jugo de caña (Santa Catarina - 2005 y Bahia - 2006), bacaba (Maranhão, Pará - 2006) y especialmente de asaí (Pará – 2006 y 2007, Amazonas - 2007). Un total de 170 casos y 10 óbitos (letalidad de 6,5%) fueron identificados. A partir de ese momento fueron definidos los criterios de caso sospechado y confirmado. (López *et al.*, 2000).

2.3.5. Transmisión por leche materna

La transmisión por la leche materna sólo fue sospechada en pocos casos descritos en la literatura, a pesar de lo relatado por Mazza y colaboradores, en 1936, y por Días, en 2006, sugiriendo reducida importancia en el contexto de la endemia y ciertamente no fue un inconveniente para recomendar el amamantamiento por la madre infectada. En dos casos sospechados hubo relato de fisura mamilar seguida de sangrado, durante el amamantamiento, sin poder rigurosamente, excluir la transmisión por la sangre y, en los dos casos descritos por Rassi y colaboradores, (2004) no fue posible descartar la transmisión transplacentaria (Segovia JCP,2000).

2.3.6. Transmisión por accidentes de laboratorio

Los accidentes de laboratorio también son posibles mecanismos de transmisión chagásica. En esos casos, la infección se puede deber al contacto con cultivos de *T. cruzi*, exposición a heces infectadas de triatóminos o sangre, de paciente o animal, conteniendo la forma tripomastigotes. A pesar de que la forma epimastigote es la predominante en cultivos

axénicos, los tripomastigotes pueden estar presentes y causar infección en el caso de contacto con mucosas o microlesiones de piel. Experimentalmente, ya se comprobó la posibilidad de infección a través de la mucosa oral y conjuntival (Andrade *et al.*, 1994).

2.3.7. Transmisión por trasplante de órganos

En las dos últimas décadas, con el aumento del número de trasplantes, esa vía de transmisión ha adquirido relevancia. La mayoría de los casos son por trasplante renal con un índice de transmisión de 35%. Pero ya está bien documentada en trasplantes hepáticos, cardíacos y médula ósea o sangre de cordón (Haro AI, 2003)

En los países de alta prevalencia, todos los candidatos a donantes pasan por serología para enfermedad de Chagas, pero, en los países en los cuales la prevalencia es baja, esa práctica no es universal, haciendo con que el diagnóstico sea más tardío, comprometiendo especialmente el pronóstico (Werner *et al.*, 2008)

2.3.8. Otros mecanismos de transmisión

Se podría especular sobre otras modalidades alternativas de propagación de *T. cruzi*, pero probablemente no tendrían, en el ámbito de la salud pública, significado relevante.

Los autores destacan que la dinámica y la ocurrencia de los diferentes mecanismos de transmisión variarán de acuerdo con las condiciones y circunstancias de cada región, local y momento. En el caso de las formas “hipotéticas”, se entiende que dependen de una elevada concentración tripanosómica y una población elevada de triatóminos (Werner *et al.*, 2008).

2.4. Ciclo biológico del parásito

Se inicia cuando un triatómino se alimenta de la sangre de un mamífero infectado que contiene tripomastigotes circulantes; éstos pasan al intestino del triatómino, se transforman en epimastigotes, se multiplican por fisión binaria longitudinal y a pocos días se encuentran como tripomastigotes metacíclicos en la porción distal del intestino del insecto. Cuando el vector infectado se alimenta, puede ingerir varias veces su peso corporal en sangre y defecar sobre la piel o mucosas del mamífero; de esta manera deposita junto con su excremento tripomastigotes metacíclicos infectantes. Cuando el insecto arrastra con sus patas la materia fecal, se introducen los tripomastigotes metacíclicos por la laceración inducida por la probóscide del insecto al alimentarse; también es posible que el mismo hospedero se infecte

a sí mismo al llevar las deyecciones a una solución de continuidad en la piel, hacia alguna mucosa o a la conjuntiva ocular (B-FM, RC 2004; López 1999).

Los tripomastigotes metacíclicos, una vez dentro del mamífero y después de pasar la barrera de la piel, mucosas o conjuntiva ocular, se introducen a las células del tejido celular cercano al sitio de penetración, en donde se transforman en amastigotes. Ahí se multiplican por fisión binaria hasta repletar la célula que infectan, es el momento en que salen hacia la circulación sanguínea para dirigirse a otro tejido y continuar su propagación sangre (B-FM, RC, 2004). El ciclo biológico se completa cuando un triatómino se alimenta de un mamífero infectado y adquiere el parásito que se encuentra en la sangre (B-FM, RC 2004; García, 1991).

El ciclo de vida del *T. cruzi* en el insecto involucra varios estados morfológicos que dependen del microambiente intestinal (Figura 2), entre ellos: amastigote, esferomastigote, epimastigote, tripomastigote (Kollien, 2001). Los amastigotes son esféricos u ovalados de 2-4 μm de diámetro, el epimastigote es alargado de 20 μm de longitud y tiene un flagelo libre, el tripomastigotes tiene una longitud de 20 μm , con un flagelo y una membrana ondulante a lo largo de su cuerpo. (Kollien, 2001).

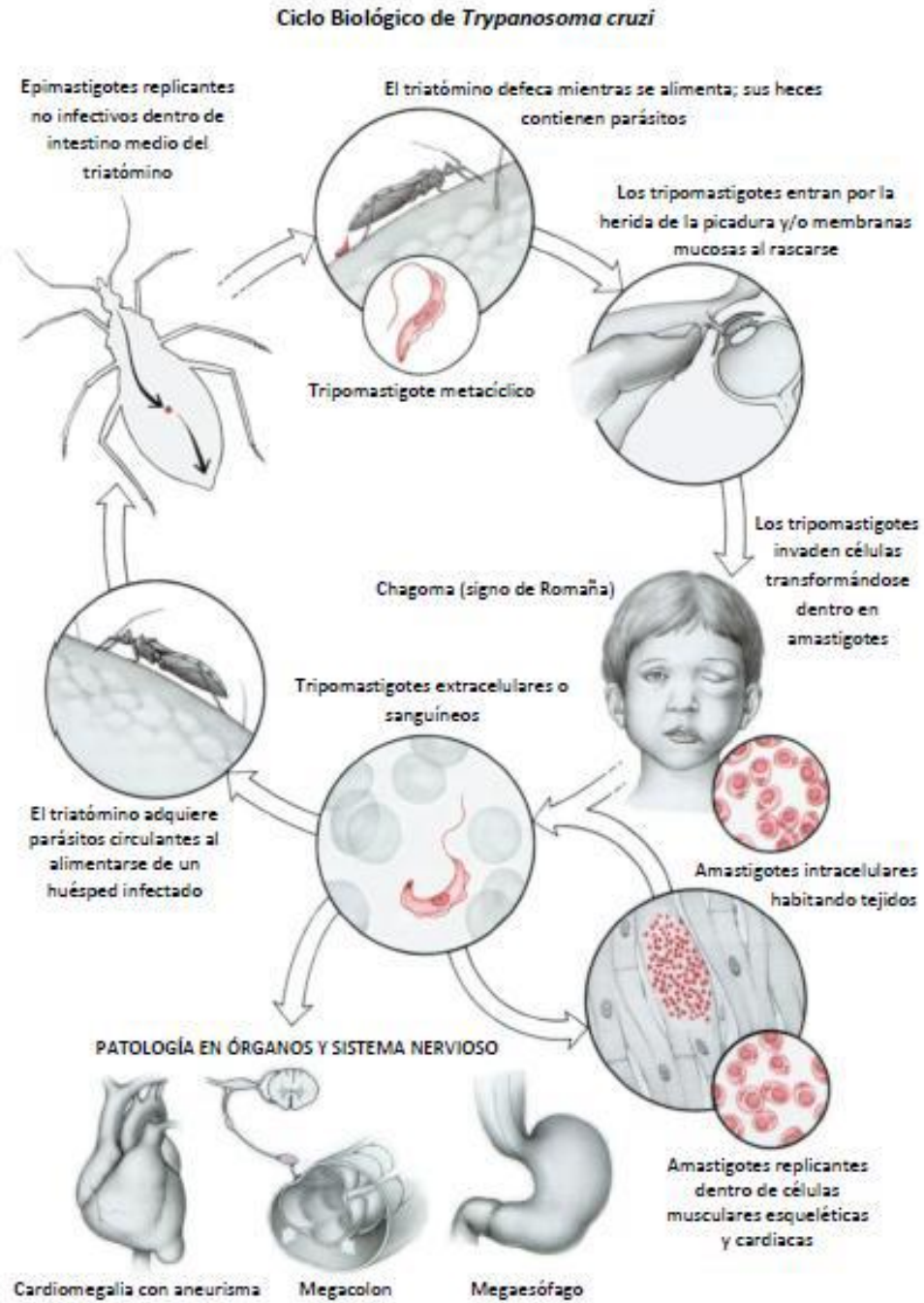


Figura 2. Ciclo de vida de *Trypanosoma Cruzii*. Tomado (C. M-C. 2003)

2.5. Manifestaciones clínicas

Los síntomas de la enfermedad de Chagas en el humano pueden variar en su gravedad, lo que ha hecho pensar que existen diferencias en la virulencia de las cepas circulantes e incluso en la resistencia natural a la enfermedad que existiera en algunas poblaciones. En la enfermedad de Chagas se pueden presentar tres fases:

Fase aguda. Este periodo se considera asintomático en aproximadamente el 70% de los infectados. El periodo de incubación es de unos 14 días y la duración del cuadro oscila entre 6-8 semanas. Se caracteriza por alta parasitemia e invasión tisular multiparenquimatosa (Souto *et al.*; 1990). Durante los primeros 15 días puede presentarse el llamado "chagoma de inoculación", un nódulo subcutáneo con adenitis regional en el sitio de la picadura; en casos de inoculación ocular, es posible identificar el "*signo de Romana*", edema bpalpebral unilateral, con adenitis retroauricular, característico de la enfermedad, aunque poco frecuente. Esta fase se puede manifestar con fiebre, linfadenopatías, hepatoesplenomegalia y mal estado general. Las Complicaciones a la infección se han registrado como: miocarditis aguda o meningoencefalitis, principalmente en niños, ancianos y sujetos inmunocomprometidos (en éstos, por reactivación o infección aguda). El 5% de los niños fallece durante esta etapa (Souto *et al.*, 1990).

Fase subclínica, (indeterminada): es una fase silenciosa que puede extenderse hasta 30 años antes de presentar el daño característico de la fase crónica; en este periodo pueden manifestarse alteraciones electrocardiográficas aisladas particularmente arritmias y taquicardias, que en algunos casos puede llegar a ocurrir muerte súbita sin causa aparente si no se establece un diagnóstico oportuno de la enfermedad. La presencia de parásitos circulantes es ocasional y para identificarlos es necesario utilizar métodos muy sensibles, como el hemocultivo y el xenodiagnóstico o en fechas recientes la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) de DNA (Becerril-Flores, 2014)

Fase crónica. En este proceso existen alteraciones en corazón y músculo liso, sobre todo esófago y colon. Se ha estimado que el 30% de las personas en la fase indeterminada desarrolla la fase crónica, que incluye cardiopatía crónica (27%) y alteraciones crónicas digestivas neurológicas (es la alteración encontrada con más frecuencia en los sujetos afectados. El 6 y 3% respectivamente) la afección cardiaca en esta fase es la alteración

encontrada con más frecuencia en los sujetos afectados. El crecimiento ventricular es común, aunque también se puede observar un crecimiento auricular (Becerril Flores, 2014).

2.6. Diagnóstico

El procedimiento diagnóstico del mal de Chagas varía dependiendo de la fase de la enfermedad en la que se encuentre el paciente, durante la fase aguda, la manera más rápida de efectuar el diagnóstico clínico es mediante un frotis sanguíneo. Al mirar por el microscopio, se detecta fácilmente la presencia del parásito en la sangre extendida. Esto se debe a que, en esta fase, la presencia del parásito en sangre es muy importante (Cervallos y Hernández, 1998).

Este diagnóstico de la enfermedad de Chagas puede, no obstante, confirmarse mediante aspiración del contenido de los ganglios linfáticos, donde es también segura la presencia del parásito (siempre que haya infección) (Cervallos y Hernández, 1998).

Durante la fase crónica, la presencia del parásito en sangre ya no es tan importante, y por ello la técnica de la detección directa por frotis es mucho menos efectiva, en este caso, debemos recurrir a la serología, o diagnóstico indirecto (Prata, 2001). La serología no consiste tanto en localizar al parásito como en constatar la reacción inmunológica que éste ha producido. Cuando nos encontramos en la fase crónica de la enfermedad, lo más adecuado es buscar la presencia de anticuerpos que nuestro sistema de defensa haya fabricado para combatir al parásito. No obstante, esta comprobación puede arrojar falsos positivos para tripanosomiasis, ya que si el paciente está sufriendo otra parasitosis (leishmaniasis, principalmente), la serología puede ser positiva (Prata, 2001).

2.7. Tratamiento

Una de las prioridades principales del control de la enfermedad es evitar la transmisión dentro del hogar combatiendo el vector intradomiciliario con insecticidas compuestos de piretroides sintéticos como Permetrina, Deltametrina y Lambdacihalotrina, la llegada de esto, significó un progreso importante para el control de la enfermedad de Chagas (Beaver *et al.*, 1986).

La prevención de la parasitosis no solo debe estar dirigida a interrumpir la transmisión vectorial, sino también la que se produce por transfusión sanguínea, trasplante de órganos, infección congénita o por accidentes de laboratorio (Beaver *et al.*, 1986).

Actualmente se cuenta con dos medicamentos para el tratamiento de esta parasitosis. Los medicamentos tripanocidas están indicados en la infección aguda del niño y del adulto, en la infección congénita y en la crónica reciente. Con el tratamiento. En las fases aguda y crónica reciente, se administran nifurtimox a dosis diarias oral de 10 a 12 mg/kg de peso en pacientes de hasta 40 kg y de 7.5 mg/kg al día, los que exceden este peso. Otro medicamento utilizado es benznidazol, el cual se administra 7.5 mg/kg en pacientes de hasta 40 kg de peso y 5mg/kg al día para los que sobrepasan dicho peso. Los dos medicamentos se administran en dos o tres dosis diarias por 30 a 60 días. En la fase crónica se utiliza nifurtimox de 8 a 10 mg/kg al día durante 60 a 90 días cada ocho horas y benznidazol de 5 mg/kg al día por 60 días cada 8 o 12 horas, el tratamiento de la infección congénita se hace con nifurtimox de 10 a 15 mg/kg al día o benznidazol 10 mg/kg al día, comenzando con la mitad de la dosis en niños bajos de peso (Beaver *et al.*, 1986; Cuyas y García, 1995; Kennet, 1982).

Hasta el momento no existe un fármaco del todo efectivo e inocuo para el paciente contra la enfermedad, dado que los medicamentos, no son por completo eficaces en todas las fases de la enfermedad o producen grandes efectos colaterales. Los pacientes con enfermedad crónica avanzada no se benefician

Efectos colaterales de tratamiento

Los efectos secundarios se presentan en 30% de los casos, especialmente en adultos. Puede producir anorexia, pérdida de peso, manifestaciones gastrointestinales como náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea, dermatitis y compromiso del SNC con insomnio, alucinaciones, parestesias y psicosis. Las reacciones de toxicidad y los efectos colaterales debidos a BNZ y a NFX pueden ser importantes. Nifurtimox provoca más comúnmente manifestaciones del aparato digestivo tales como epigastralgia, anorexia, náuseas, vómitos y pérdida de peso. Está contraindicado en mujeres embarazadas y en pacientes con insuficiencia renal y hepática (Apt *et al.*, 2005).

Benznidazol. Es también un fármaco tripanomicida. Actúa uniéndose en forma covalente a los intermediarios de la nitrorreducción con los componentes del parásito, ADN, lípidos y proteínas. Es eficaz en el tratamiento de la fase aguda, en la fase crónica indeterminada y en la crónica determinada, como se ha demostrado en estudios realizados en niños en Brasil y Argentina (Apt *et al.*, 2005).

Los efectos adversos se dividen en tres tipos:

- Dermatológicos: erupción cutánea que aparece entre los 7-10 días de tratamiento, edema generalizado, fiebre, adenopatías, mialgia y artralgia.
- Hematológicos: depresión de la médula ósea con trombocitopenia, púrpura y agranulocitosis, que es la manifestación más grave.
- Compromiso neurológico: polineuropatía, parestesia y polineuritis periférica.

En animales de experimentación se ha demostrado un efecto mutagénico y teratogénico, lo que no se ha evidenciado en el hombre. Está contraindicado en mujeres embarazadas y en pacientes con insuficiencia hepática y renal (Apt *et al.*, 2005).

2.8. Transmisores de *T. cruzi*

2.8.1 Ubicación taxonómica

Los insectos transmisores de la enfermedad de Chagas son conocidos como triatóminos, son insectos pertenecientes al orden Hemíptera, suborden Heteróptera, familia Reduviidae y subfamilia Triatominae. Todos los miembros de esta subfamilia son hematófagos, que se considera como característica reciente en términos evolutivos (Tartarotti *et al.*, 2006).

Reino – Animalia

Phyllum - Arthropoda

Clase - Insecta

Orden - Hemíptera

Familia - Reduviidae

Subfamilia - Triatominae

Géneros - *Triatoma**Dipetalogaster**Rhodnius**Panstrongylus**Eratyrus**Belminus**Paratriatoma***2.8.2. Aspectos morfológicos que caracterizan a la subfamilia Triatominae:**

Son insectos que tienen su cuerpo dividido en tres secciones o regiones que son cabeza, tórax y abdomen, (Figura 3). La extremidad anterior de los insectos está representada por la cabeza, ésta puede ser cilíndrica, subcilíndrica, sub ovoide o de forma cónica de acuerdo al taxón, se identifica por la presencia de un rostro o pico recto ubicado por debajo de la cabeza, que consiste en un labio segmentado en que aloja las partes bucales siendo finas y delgadas denominadas estiletes y constituyen dos mandíbulas y dos maxilas. Poseen antenas de cuatro segmentos en ambos lados de la cabeza, justo en la región anterior de los ojos; en el segundo segmento ostentan vellosidades que son finas y largas, las cuales se insertan en depresiones redondas, llamadas tricobotrios, cuya distribución parece ser característica en las diversas especies, (Figura 4), (Salomón, 2012; y R Z, 1981). La relación entre la cabeza y el resto del cuerpo es de mayor importancia taxonómica. El tórax está dividido en tres segmentos que son el pro, meso y metatórax, la región dorsal es conocida como notum, la región lateral como pleura y el área ventral como esternón. Algunas características que presenta el abdomen es que puede ser convexo o plano.

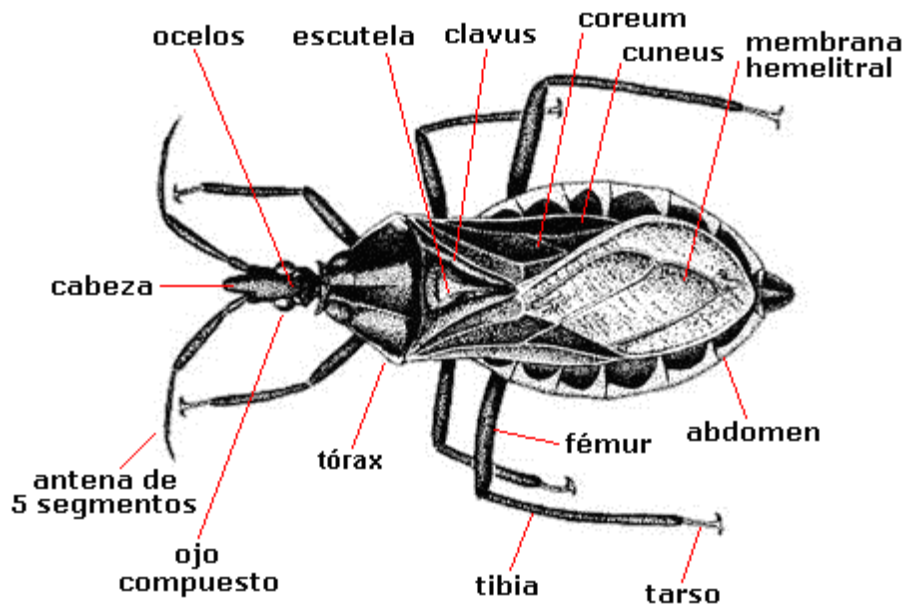


Figura 3. Vista dorsal de un triatómino que muestra de una manera general cada una de las partes que forman el cuerpo de este insecto principalmente las tres secciones en las que se divide que son cabeza, tórax y abdomen (tomado de Lent, 1979).

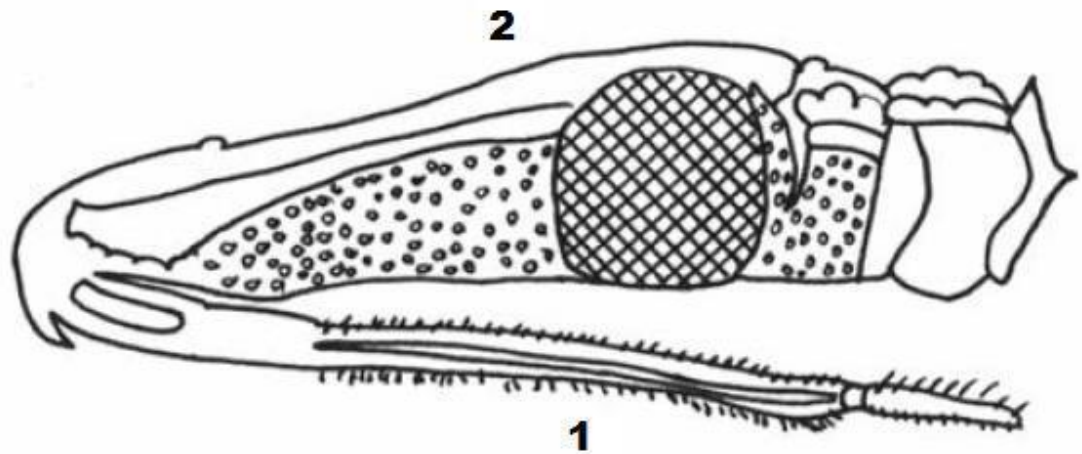
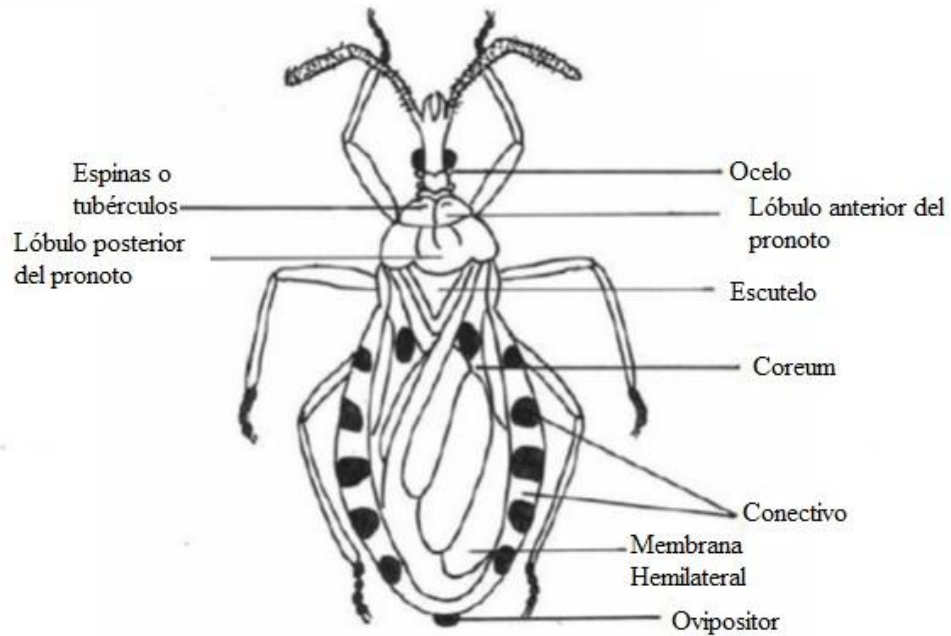


Figura 4. Estructura cefálica de los triatóminos. Vista lateral de la estructura cefálica general de los triatóminos; en donde se puede observar el labio segmentado que aloja las partes bucales que son finas y delgadas (estiletos) y constituyen dos mandíbulas y dos maxilas (1), y sus antenas (Salomón, 2012; R Z, 1981).



El pronoto posee un lóbulo anterior y otro posterior, que puede poseer espinas o tubérculos de importancia taxonómica, el mesonoto está formado por un escutelo. El abdomen en los adultos tiene siete segmentos visibles, el primer segmento está escondido y los últimos tres son parte de las placas genitales de ambos sexos (Legeros ,1981) Figura 5.

Figura 5. Vista dorsal general de un triatómino hembra (R Z, 1981).

Las ninfas no solo carecen de alas y placas genitales desarrolladas, sino también de ocelos, escutelo, y conectivo (Figura 6), en ellas su tórax posee tres porciones más o menos nítidas y en el abdomen se pueden observar diez segmentos, aunque los últimos son muy reducidos, las características del tórax en una vista dorsal permite reconocer cualquiera de los cinco estadios ninfales y la morfología de los últimos segmentos abdominales de las ninfas de quinto estadio permiten determinar el sexo de estos cuando llegan a la fase adulta (R Z, 1981).

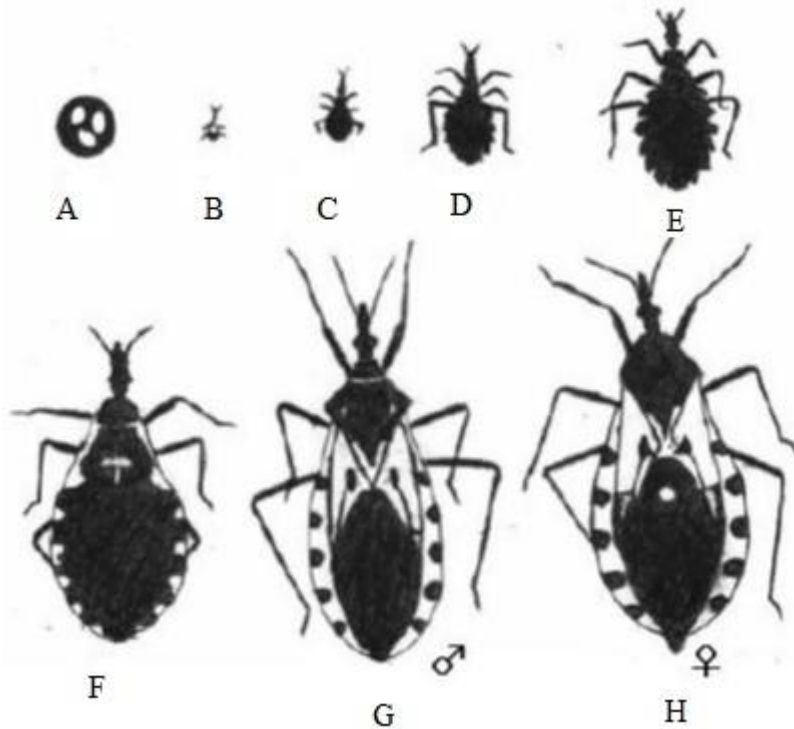


Figura 6. Estadios morfológicos por los que pasa un triatómino: A) Huevo; B, C, D, E, F) De 1° a 5° estadio, por último, G) un Adulto Macho y H) Adulto Hembra (tomado de Lent 1979).

2.9 Distribución geográfica de triatóminos

En México, 19 de las 31 especies de triatóminos presentes se reportan como vectores de transmisión, cuyo orden de importancia está establecido en especies domiciliarias, peridomiciliarias y silvestres, distribuidos ampliamente en todo el territorio nacional. Los

más abundantes y principales especies son: *Rhodius prolixus*, *T. barberi*, *T. dimidiata*, *T. pallidipennis*, *T. phyllosoma*, *T. longipennis*, *T. proctata*, *T. bassolsae*, *T. mexicana* y *T. gerstaeckeri*, (Figura 7), (Becerril, *et al.*, 2007 y Vidal-Acosta, *et al.*, 2000).

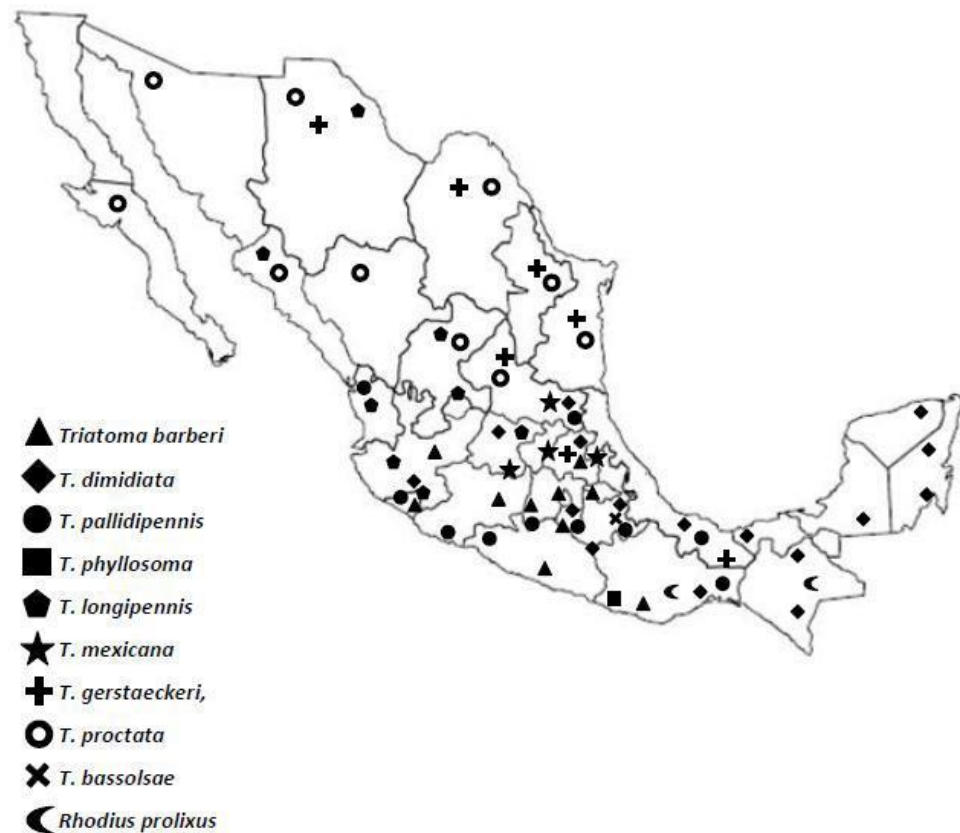


Figura 7. Principales especies de triatóminos domiciliarias y peridomiciliarias distribuidas en México en donde se muestra que la especie a estudiar *Triatoma barberi* se ubica en los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, México, Oaxaca, Tlaxcala, Morelos, Distrito Federal e Hidalgo, tomado de (C, 2003).

2.10. Triatóminos en el estado de Hidalgo.

En el estado de Hidalgo la Enfermedad de Chagas comienza a considerarse un problema de salud pública. Se sabe que existe una seropositividad de 0.78% y en el 2001, se notificaron 7 casos agudos confirmados. En el Laboratorio Estatal de Salud Pública de Hidalgo de 1996 a 2001 se estudiaron 5 552 triatóminos, los cuales se identificaron taxonómicamente, se les realizó la búsqueda de *T. cruzi* en deyecciones y se obtuvieron los registros geográficos de su colecta (Téllez-Rendón, *et al.*, 2002). Posteriormente dicha información fue correlacionada con los datos de distribución de casos humanos. Los triatóminos encontrados en el estado son: *T. dimidiata*, *T. gerstaeckeri*, *T. mexicana* y *T. barberi*, y se distribuyen principalmente en Huejutla, Molango e Ixmiquilpan. La positividad de infección de los insectos estudiados a *T. cruzi* fue de 12.5%. El mayor porcentaje de positividad por especie lo presentó *Triatoma dimidiata* con 57.9%. Además, es la especie más frecuente y ampliamente distribuida en el estado, no obstante que *Triatoma barberi* es la asociada al domicilio. En cambio, *Triatoma dimidiata* es una especie que está en proceso de domiciliación, como en otros sitios del país y en otros países. Esta capacidad de adaptación a la vivienda humana representa un elemento de alto riesgo para adquirir la infección por *T. cruzi*, con lo cual aumentará la población en riesgo de contraer la Enfermedad de Chagas (Becerril *et al.*, 2007, C, 2003), (Figura 8).

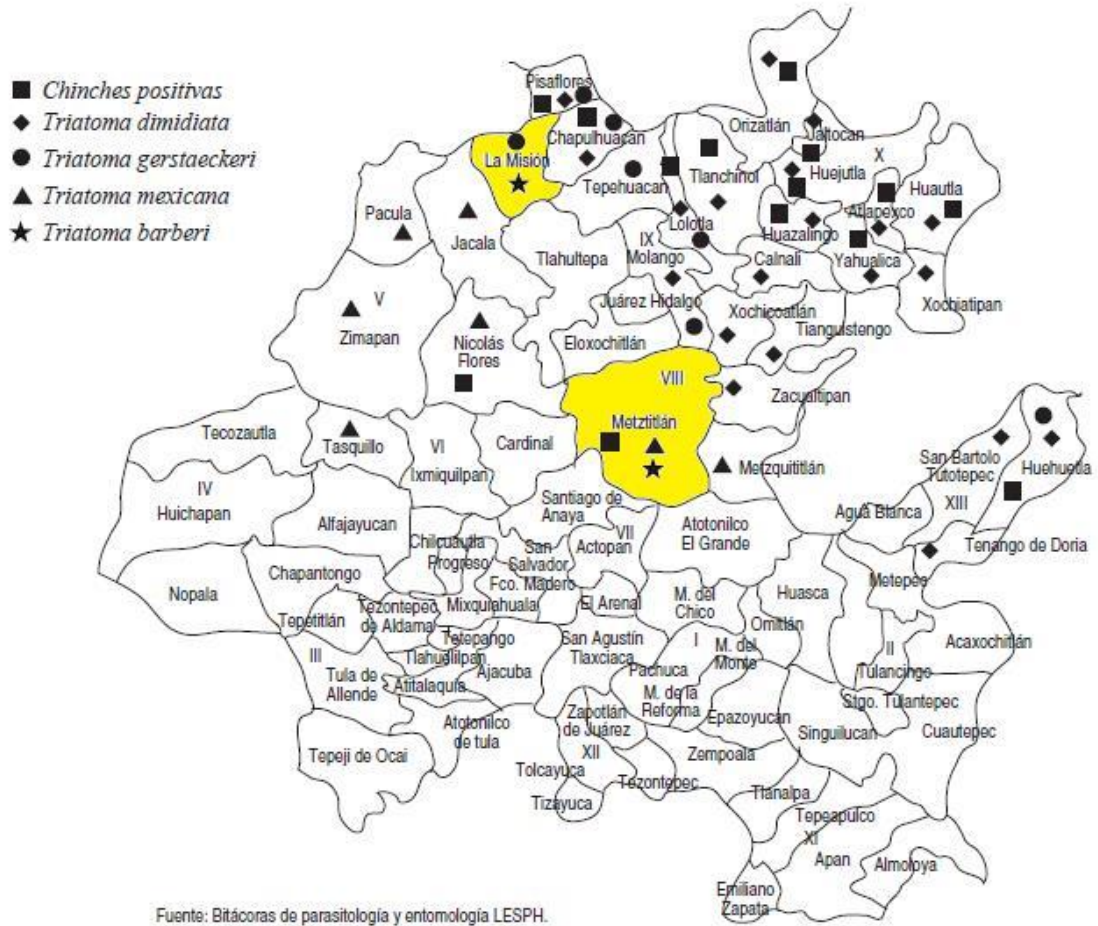


Figura 8. Distribución geográfica de *Triatoma barberi* en el estado de Hidalgo, se observa mayor distribución en los municipios de Metztitlán y la Misión, además de encontrarse triatóminos positivos en la localidad de Metztitlán tomado de (Cruz Reyes, 2006).

2.11 *Triatoma barberi*

Es considerada la especie endémica más importante en México transmisora de la enfermedad de Chagas por las siguientes razones: por ser de hábitos domésticos y peridomésticos, porque generalmente coexiste en la misma casa con otras especies domésticas como *Triatoma dimidiata* y *Triatoma pallidipennis* y por presentar amplia distribución geográfica que abarca 14 estados principalmente en la región central del país (Evangelista –Martínez 2007), (Figura 9). Se distribuye en 12 estados; colima, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tlaxcala, Veracruz y el Distrito Federal. Su importancia como vector radica en su amplia distribución

dentro del territorio nacional. Así como de sus hábitos alimentarios nocturnos y de acuerdo con las observaciones hechas en el laboratorio, prefiere sangre de mamíferos, su defecación la efectúa al momento de alimentarse y son atraídas por la luz (Martínez Ibarra *et al.*, 2005; Salazar- Schentino *et al.*, 2005). El ciclo de vida de *Triatoma barberi* oscila entre 180 a 210 días en condiciones de laboratorio (Becerril- Flores, 2014).

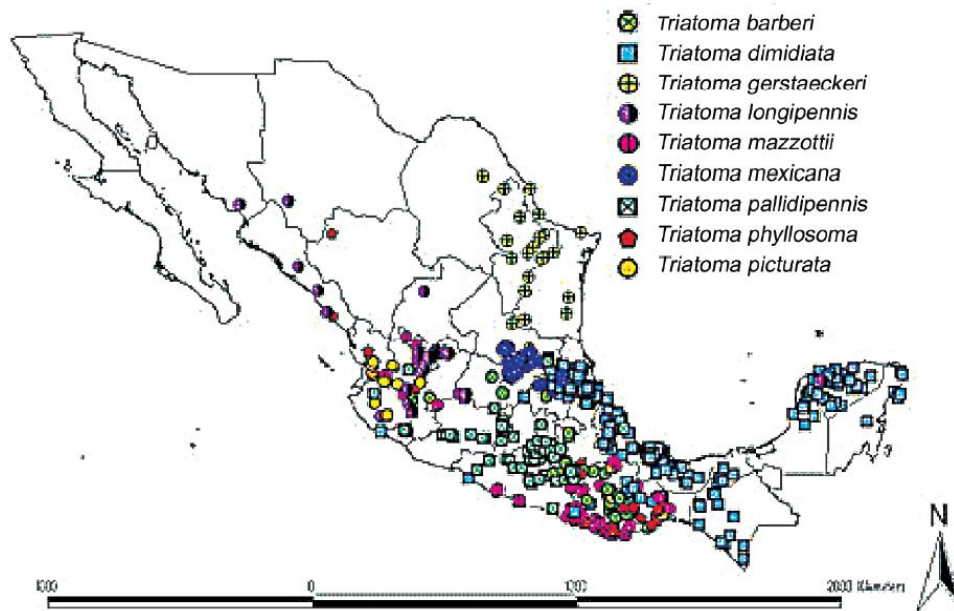


Figura 9. Distribución geográfica de las especies de triatóminos reportadas en México en donde se observa que las especies de triatóminos se ubican la mayor parte en el sureste del país, en el caso de *Triatoma. barberi* la especie de interés para este estudio la podemos encontrar en estados del centro de México (tomado de Alejandro Cruz-Reyes, 2006).

2.11.1 Características morfológicas

Las principales características de *Triatoma barberi* son: longitud de los machos 16-18 mm, longitud de las hembras 18.5-20mm, color negro, con marcas color rojo oscuro a naranja en el conexivo, cabeza granulosa, ligeramente rugosa y convexa. El pronoto es totalmente oscuro de forma trapezoidal, el lóbulo anterior es ligeramente elevado. Presenta un escutelo rugoso. Hemielitros oscuros que se encuentran por debajo del vértice del abdomen en los dos sexos. Conexivo de color rojo oscuro a naranja-rojo, con marcas negras de extensión variada (Lent y Wygodzinsky, 1999. *Triatoma barberi* es considerada la especie

endémica trasmisora de la enfermedad de Chagas más importante en México (Evangelista-Martínez *et al.*, 2010)

2.12 Control de la transmisión de *T. cruzi* por *Triatoma barberi*

Los agentes transmisores de *T. cruzi* siempre han estado presentes en Latinoamérica (Teixeira *et al.*, 2006). En México se realizó en 1956 una intensa campaña de control de paludismo, una de cuyas prioridades, definida desde su inicio, fue el control del vector; para ello se rociaron, anualmente, con insecticidas (particularmente DDT y Dieldrín), alrededor de millón y medio de viviendas, donde los triatóminos se habían domiciliado o estaban en proceso de hacerlo. La mayoría de los autores sudamericanos afirman que el DDT es virtualmente inocuo contra los triatóminos; sin embargo, los nativos de muchas de las zonas palúdicas rociadas intensamente con este insecticida relatan que durante varios días después de las fumigaciones barrían decenas de chinches muertas o moribundas, hasta que terminaron por desaparecer. Esta información se ha corroborado al mostrar a los informantes, durante las encuestas realizadas en esas áreas, ejemplares de diversas especies de triatóminos, que resultaron fácilmente reconocidos por las personas de edad, pero que eran desconocidos por los menores de 30 años. Asimismo, mientras que en ese tipo de poblaciones las personas de mayor edad suelen ser seropositivos a *T. cruzi*, los jóvenes, en su inmensa mayoría, son negativos, lo que indica que en muchas regiones la transmisión clásica se centró en comunidades en donde no se realizaban actividades antimaláricas (Goldsmith *et al* 1979).

3. Antecedentes

En 1908, cuando Carlos Chagas estaba a cargo de la campaña contra la malaria en el pueblo de Lassance, en el estado de Minas Gerais, Brasil (Lewinsohn, 2004), Él es informado que en las viviendas de los obreros que estaban construyendo el ferrocarril central de Brasil, había unos insectos hematófagos que se les conocía como barbeiros, tal vez, porque las picaduras que ocurrían en la noche eran más frecuentes en la cara (Chagas, 1909). Fue así, que Carlos Chagas, examina microscópicamente el contenido intestinal de estos barbeiros y observa unos protozoos flagelados, similares en cuanto a su morfología y movimiento a los tripanosomas causantes de la enfermedad del sueño (Chagas, 1909).

El 14 de abril de 1909, Carlos Chagas examina a una niña de 2 años, a quien detecta fiebre, hepato y esplenomegalia; por la sospecha de malaria, examina el frotis sanguíneo y encuentra un protozoo flagelado, similar al observado en los barbeiros. Es así que se da el primer caso humano descrito en el mundo. Asimismo, Chagas logró reproducir, por primera vez, la parasitemia en animales de experimentación, con la sangre de la niña infectada. Denominó al parásito *Schizotrypanum cruzi*, en honor a Oswaldo Cruz, médico brasileño, su mentor y guía de sus estudios (Chagas C, 1909).

Desde 1909, cuando Carlos Chagas anunció sus descubrimientos en Brasil, sobre evidencias clínicas de la enfermedad que lleva su nombre, el agente causal y los vectores que transmiten a este último, se iniciaron las investigaciones en América Latina. En México en 1928 se reportó la presencia del primer triatómino *Triatoma dimidiata* (Hoffman, 1928), pero no fue hasta 1936 que se registra el primer caso humano de una infección con *T. cruzi* diagnosticado en nuestro país (Mazzoti, 1936).

En México esta parasitosis es de gran importancia. Es uno de los principales padecimientos que pueden causar la muerte. Se considera que existen dos millones de casos y 71,000 personas resultan infectadas con *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) por año (Ramsey, *et al*, 2003). La transmisión al humano ocurre mediante varios mecanismos, el más frecuente es mediante las deyecciones de insectos reducidos hematófagos denominados triatóminos, quienes defecan sobre un individuo durante el momento en que le están picando (Brenner 1973, García *et al* 2000). Por tanto, los habitantes que viven en las zonas donde se detecta la presencia de triatóminos quedan en riesgo de infección. Sin embargo, la capacidad

transmisora del insecto, puede ser distinta para cada especie (Alejandre *et al* 1993), de aquí que las medidas profilácticas de esta enfermedad deben estar dirigidas principalmente al control de las diferentes especies de los transmisores (Guzmán-Bracho 2001, Ramsey & Schofield 2003). Existen, al menos, 31 especies de triatóminos descritas en el país, de las cuales, nueve son consideradas como importantes por su contribución al mantenimiento de la enfermedad en humanos y animales (Cruz-Reyes y Pickering-López 2006). La zona occidental del país se considera endémica, lo que se ha demostrado por el número de casos presuntivos de enfermedad, detectados serológicamente o mediante las manifestaciones clínicas y por los reportes de los bancos de sangre (Trujillo-Contreras *et al.*, 1993). Existen programas de fumigación y uso de insecticidas en las zonas endémicas y zonas vulnerables para la sobrevivencia de triatóminos transmisores, estas zonas no han disminuido a la fecha (Guzmán-Bracho,2001). Estos vectores ocupan diversos ecotopos naturales, como mamíferos y nidos de aves, cuevas, palmeras, o fisuras en las rocas (Cuaresma H, Wygodzinsky 1989). Estudios han demostrado que *E. mucronatus* es un triatómino selvático que se asocia con los nidos de XENARTHRA, Didelphidae y colonias de quirópteros en huecos de árboles y cuevas. (Gaunt M, Miles 200;M Cuaresma H, Wygodzinsky 1989).Una de las especies de triatóminos más importantes en México es *Triatoma barberi* (Usinger 1944) por las siguientes razones: por ser de hábitos domésticos y peridomésticos (Zárate 1983, Salazar, *et al*, 2005), porque generalmente coexiste en la misma casa con otras especies domésticas como *T. dimidiata* y *T. pallidipennis* (Zárate & Zárate 1985) y por presentar amplia distribución geográfica que abarca 14 estados principalmente en la región central del país (Guzmán-Bracho, 2001; Peterson *et al.*, 2002).

A pesar del conocimiento de la trasmisión de *T. cruzi* a través de los triatóminos aún no se conocen los factores que se presentan en el interior del insecto que permiten la colonización del parásito e igualmente su trasmisión por la defecación. Varios estudios demuestran el ciclo de vida del parásito, sus patrones de alimentación y defecación demostrando que varía para cada especie, por ejemplo (Martínez Ibarra) demuestran que el ciclo de vida puede llegar a durar hasta poco más de 100 días en *Triatoma Sonoriana* y 465 días para *Triatoma barberi*, sin embargo, no demuestran cómo influye la infección por *T. cruzi* en estos ciclos de desarrollo. Por ejemplo, Almeida y Cardozo ,2014, demuestran que el ciclo de vida de *Triatoma carvalhoi* es de 504 días, sin embargo, no demuestran si con

T. cruzi modifican su ciclo de vida. Por el contrario en algunos otros insectos se ha visto que la presencia de endoparásitos puede modificar el ambiente intestinal de sus huéspedes transmisores tal como es el caso de parásitos del género *Leishmania* por ejemplo *Leishmania longipalpis* quien se ha demostrado que modifica el ambiente intestinal de flebotominos, sus transmisores, provocando variaciones en el pH y conduciendo a inactivación de enzimas proteolíticas esto origina que el mosquito disminuya su capacidad para degradar alimentos y por tanto su desarrollo (Guzmán-Bracho 2001, Peterson *et al.*, 2002).

De acuerdo (Eichler S SG,2002) Se ha observado que bacterias como *Rhodococcus rhodnii* y *Nocardia sp*, presentes en el intestino de triatóminos, particularmente en *Rhodnius prolixus* y *Triatoma infestans*, respectivamente, afectan el desarrollo de algunas especies de tripanosomátidos como: *Trypanosoma rangeli* y *Blastocriphidia triatoma*.

Por otro lado, muchos insectos también albergan asociaciones de microorganismos comensales. Estos simbioses representan una colonización nueva por cada especie de hospedero, o bien, varios eventos de transferencia horizontal entre las especies (Rio *et al.*, 2004).

Existen estudios donde mosquitos del género *Anopheles* mueren durante el primer o segundo día después de la infección y está relacionada con la densidad de parásitos que existen dentro del intestino, debido a los esporozitos infecciosos que existen en las glándulas salivales se infectan por *Plasmodium gallinaceum* (Carwardine, 1997).

Para la transmisión de *T. cruzi* es de gran importancia el tiempo que transcurre entre el momento de la picadura y la defecación del insecto, ya que no todos los triatóminos defecan durante o inmediatamente después de alimentarse, además es importante considerar la presencia de tripomastigotes metacíclicos en las heces del triatómino (Wood, 1997).

los insectos poseen además de un sistema de control nervioso, un sistema neuroendócrino y un sistema endócrino análogo al de los vertebrados. El desarrollo de los insectos está controlado fundamentalmente por dos categorías de hormonas, los ecdisteroides, que desencadenan el proceso de muda, y las hormonas juveniles que condicionan la calidad de esas mudas. La alimentación sanguínea es el factor desencadenante del proceso de muda en triatóminos. La ingesta genera el estímulo actívale y provee los

nutrientes para el desarrollo (Jiménez *et al.*, 2012). No existen estudios para ver si la muda es afectada por *T. cruzi*.

4. Justificación

La enfermedad de Chagas constituye uno de los problemas más importantes de salud en Latinoamérica. El estudio y conocimiento de la biología de los vectores que pueden transmitir a *T. cruzi* en una población puede constituir un importante avance epidemiológico y representar una de las principales estrategias para el control de la enfermedad. Si se evita la transmisión entonces la gente que vive en zonas endémicas, lo cual representa más de 50% del territorio nacional, no correrá riesgo de adquirir la enfermedad de Chagas, la cual conduce a discapacidad de la gente principalmente por problemas cardiacos y por tanto habrá menos ausencias laborales, mejor rendimiento en su vida, en sus trabajos y en sus casas; el hecho de que una persona se enferme de esta parasitosis causa gastos económicos en medicamentos, dispositivos médicos como son los marcapasos, atención médica en hospitales y/o clínicas que pueden conducir a hospitalización o cirugías, todo ello causa una inversión muy grande de dinero. Por otro lado, la gente que no está infectada alcanza su esperanza de vida promedio, pero por la enfermedad de Chagas puede reducirse hasta la mitad o menos.

Estudiar el desarrollo de los triatóminos infectados por el parásito permite conocer si hay un efecto negativo sobre el insecto a causa de la presencia de *T. cruzi* lo cual podría permitirnos conocer un mecanismo que evite la transmisión o bien señalar la fase más trasmisora sobre la cual hay que estudiar una estrategia que permita su eliminación.

Por último, el conocimiento científico de la interacción *T. cruzi* - triatómino es una aportación a la ciencia, lo cual no se conoce hasta el momento.

5. Objetivo general

- Evaluar el efecto de la infección con *Trypanosoma cruzi* sobre el desarrollo de *Triatoma barberi*.

5.1. Objetivos particulares

- Determinar el desarrollo biológico de *Triatoma barberi* infectado y no infectado con *Trypanosoma cruzi*.
- Determinar el grado de infección de *T. cruzi* y tiempo de su interacción con *Triatoma barberi*.
- Determinar la fase de *T. cruzi* que más infecta a *Triatoma barberi*.

6. Material y Método

6.1. Mantenimiento de triatóminos en el laboratorio

Los triatóminos se mantuvieron en el laboratorio dentro de recipientes de plástico que contienen cartones plegadizos en la parte de abajo y otro cartón plegado a manera de abanico y cubiertos con una malla para facilitar su alimentación a 28°C, 40-60% humedad, estos se mantienen así para su sobrevivencia (Figura 10).



Figura 10. Mantenimiento de la colonia de *T. barberi* con períodos con humedad de 40-60%, temperatura de 28° C y la alimentación se realizó una vez por semana, con ratones.

6.2. Selección de triatóminos y obtención de *T. cruzi*

Se seleccionaron 30 triatóminos, cinco por cada estadio, excepto del primer estadio porque no se tenían triatóminos de primer estadio, se pesaron cada uno de los triatóminos antes de alimentarlas en una balanza analítica, se colocó el ratón infectado CD-1 en una tabla de unicel (Figura 11), para que se alimentaran los triatóminos por una hora. Se volvieron a pesar los insectos para calcular la cantidad de sangre que ingirieron, así saber la cantidad de parásitos que consumieron cada uno de los triatóminos.

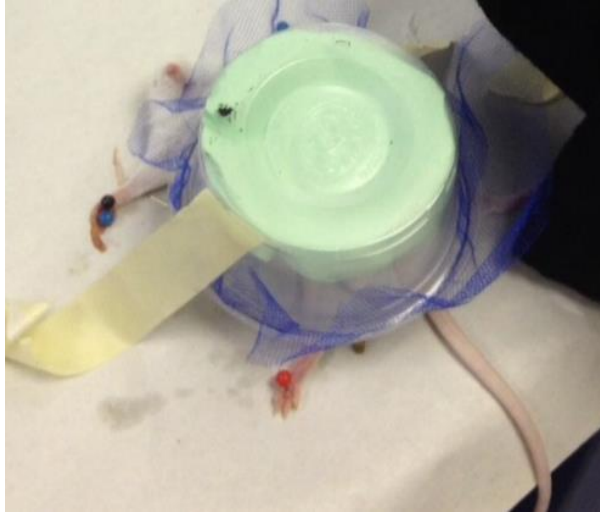


Figura 11, Triatóminos alimentándose de ratón infectado con *T. cruzi*

6.3. Cálculo de la densidad de la sangre de ratón

Se hizo un corte mínimo de la cola del ratón para la extracción de la sangre; se obtuvo 10 μ l de sangre se colocó en un portaobjetos y se pesó en una balanza analítica; esto se realizó nueve veces para obtener la densidad de la sangre del ratón, esto por medio de un promedio y más adelante poder calcular la sangre que ingirió cada triatómino, Figura 12).



Figura 12. Corte de cola para la obtención de sangre.

6.4. Determinación del número de parásitos en sangre de ratón en cámara de

Neubauer:

Se realizó un corte mínimo de la cola del ratón infectado, y se le presionó para la obtención de 10 μ l de sangre, los cuales se colocaron en 40 μ l de cloruro de amonio al 0.87%. Se tomó una alícuota de 10 μ l colocándola en la cámara de Neubauer y se realizó el conteo en los cinco cuadros marcados en la figura 13. El número total de parásitos contados en la cámara se multiplica por 5 y este se multiplica X10⁶.

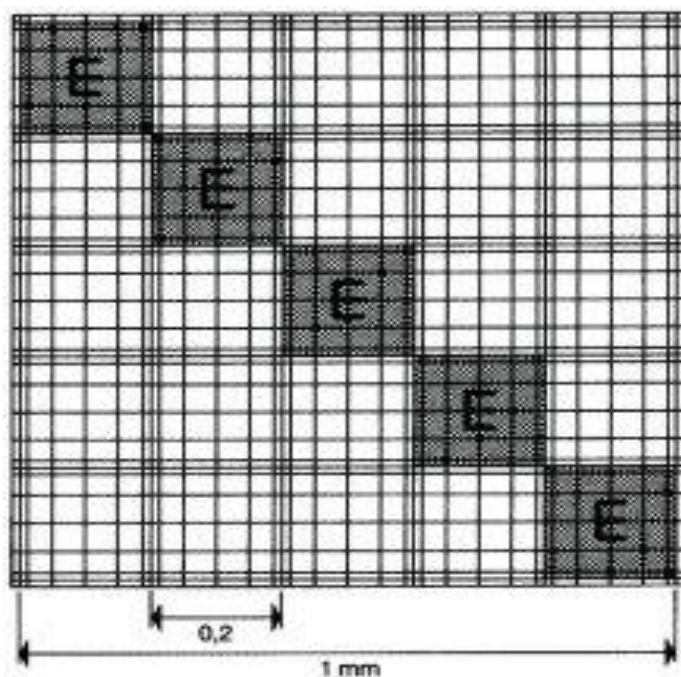


Figura 13. Cámara de Neubauer, las cuadrículas marcadas son utilizadas para el apoyo en el conteo de los parásitos.

6.5. Calculo de parásitos ingeridos por triatómino

Se calculó el promedio entre la diferencia del peso de los triatóminos antes y después de comer, se dividió entre el promedio de la densidad de la sangre, este se multiplicó por la cantidad de parásitos que se contó en la cámara Neubauer.

6.6. Determinación del ciclo de desarrollo de *Triatoma barberi*

A los siete días de la post-infección se extrajo las heces de cada uno de los triatóminos ayudándose de unas pinzas de disección se presionó el abdomen para que defecaran; se colocó en un portaobjetos con solución salina 1%, se observó al microscopio para confirmar la presencia de parásitos y posteriormente se realizó la tinción Giemsa. A los diecinueve días se extrajo 1 μ l de heces y se colocó en un microtubo de 1.5 mL se le agregó 9 μ L de solución salina al 1% y se colocó en una cámara de Neubauer; esto se realizó para cada una de los triatóminos, de los diferentes estadios. El conteo se realizó hasta el día 91, porque para volver a contar a la siguiente semana los triatóminos ya estaban muertos (Figura 14).



Figura 14. Extracción de heces de triatóminos.

6.7. Infección de triatóminos controles (*Triatoma longipennis*) con *T. cruzi*

En este paso se seleccionaron cinco triatóminos de cada uno de los siguientes estadios; segundo tercero y cuarto, para hacer una comparación con *Triatoma barberi*, los pasos realizados con *T. barberi* se realizó con *Triatoma longipennis*.

6.8. Observación del comportamiento de triatóminos infectados y no infectados

Se seleccionaron al azar insectos *Triatoma longipennis* y *Triatoma barberi* no infectados para observar si existe un cambio con los que están infectados.

7. Resultados

7.1. Efecto del desarrollo de *Triatoma barberi* por la presencia de *Tripanosoma. cruzi*

Para saber si la fase de triatóminos influye en el desarrollo y la eliminación de *T. cruzi* en sus heces se infectaron cinco triatóminos de cada uno de los estadios desde 2do hasta adultos y se determinó su seguimiento de metaciclogenia tal como se describió en la sección de material y método. En la (Figura 15) se muestran los resultados, se pudo observar que todas las fases fueron infectadas; que la fase donde se produjo mayor cantidad de parásitos es la de 5to estadio; que el menor tiempo registrado donde ya se detectaron parásitos fue el día 7; entre más avanzada sea el estadio, mayor cantidad de parásitos. Después del día 50 disminuye la cantidad de microorganismos, sin embargo, aun después del día 91 se siguen observando en las deyecciones de los insectos en todas las fases.

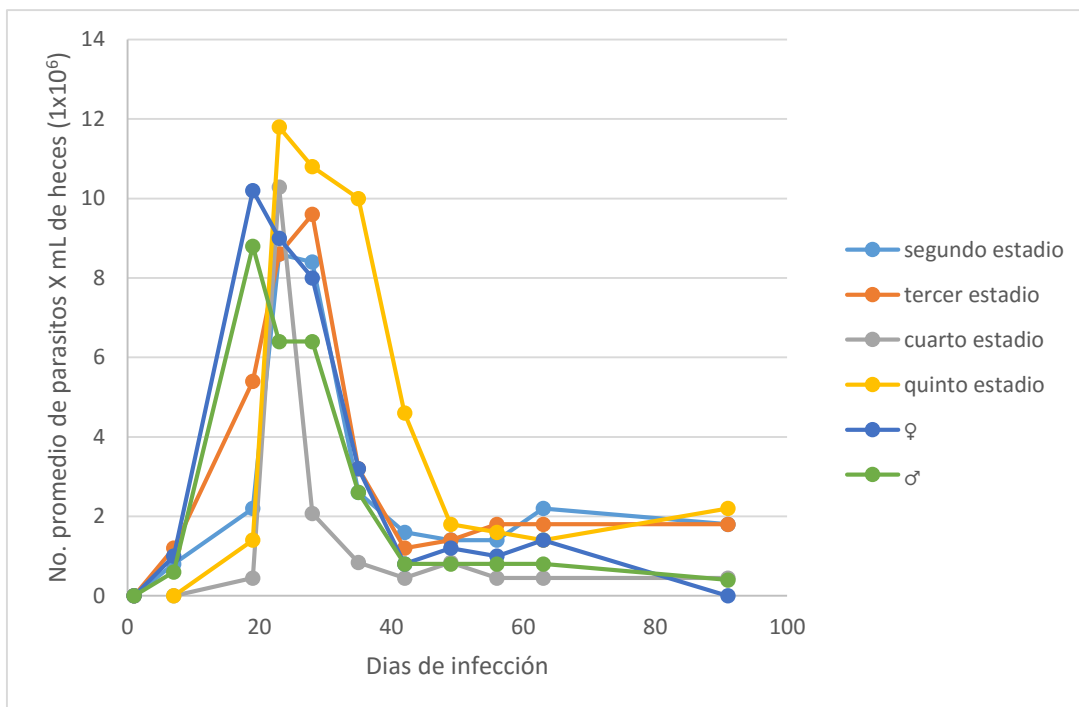


Figura 15. Cinética de metaciclogenia de *T. cruzi* en los diferentes estadios de *Triatoma barberi*.

7.2. Efecto del desarrollo de *Triatoma longipennis* por la presencia de *T. cruzi*

Al igual que en *Triatoma barberi* se determinó si la fase de triatóminos influye en el desarrollo y la eliminación de *T. cruzi* en las heces de *Triatoma longipennis*. Como se observa en la (Figura 16), se pudo observar que las tres fases que se trabajaron se infectaron sin embargo comienza su infección al día 14 y que se mantuvo la infección hasta el día 70, día en que ya se empezaron a morir los triatómicos de esta especie; la fase donde se produjo mayor cantidad de parásitos es la de 4to estadio y entre más avanzada sea el estadio mayor cantidad de parásitos. A diferencia de *Triatoma barberi* la cantidad de parásitos fue aumentando con el tiempo y se observa que por ningún momento disminuye; sin embargo, aunque en el gráfico no se muestra, cabe mencionar que los triatóminos no completaron los 90 días pues se murieron todos.

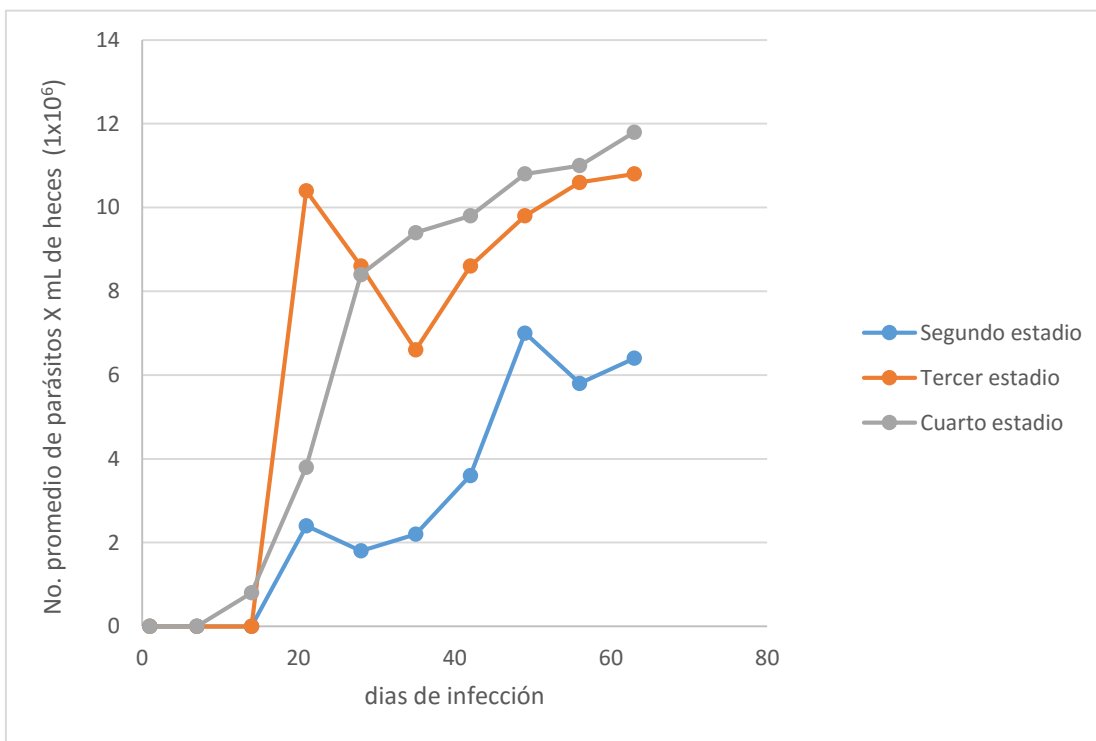


Figura 16. Cinética de metaciclografía en los diferentes estadios de *Triatoma longipennis*.

7.3. Presencia de las diferentes fases de *T. cruzi* sobre el desarrollo de los triatóminos en *T. barberi*

Con la finalidad de investigar las fases de *T. cruzi* que puedan estar presentes en cada uno del estadio de *T. barberi* se infectaron cinco ejemplares de cada estadio del triatómino. En las (figuras 17) se puede observar que todas las fases estudiadas se infectaron con *T. cruzi*, cuyas cantidades totales oscilan entre 40 y 50×10^6 parásitos / ml de sangre., las máximas cantidades de parásitos oscilan entre los días 20 y 35, sin embargo, en el caso de las hembras desde aproximadamente desde el día diez hasta el día 45 se observa una cantidad significativa de parásitos en sus heces. La fase que se encontró con mayor cantidad fue el epimastigote, mientras que los tripomastigotes se encontraron en alrededor de 10 millones / ml de sangre.

Las fases de triatómino que arrojaron mayor cantidad de parásitos son las de quinto estadio y después las de cuarto estadio ninfal, por lo que se puede pensar que las de quinto son las de mayor riesgo.

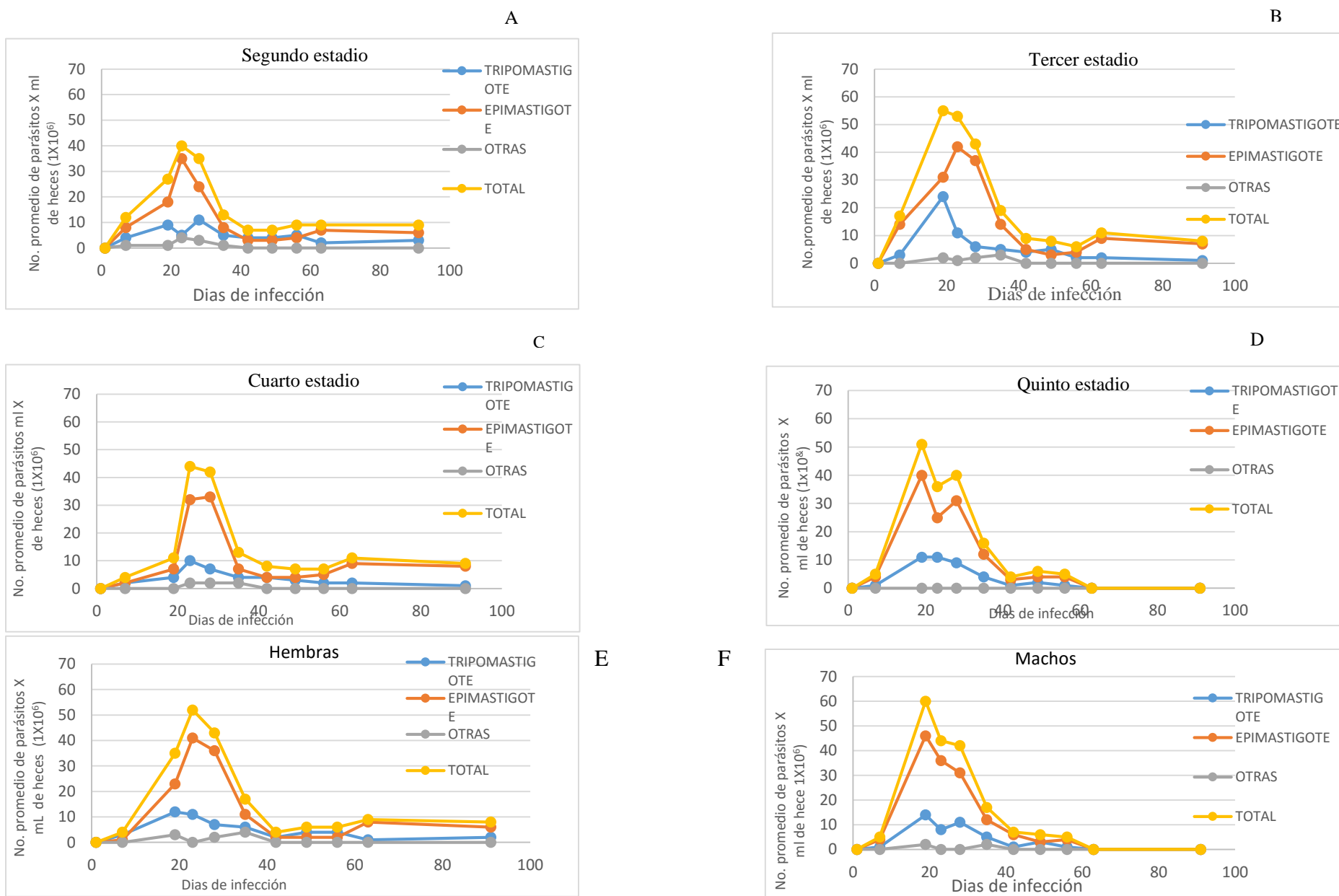


Figura. 17. Cinética de las diferentes fases de *T. cruzi*, presentes en triatóminos de A) 2^{do} estadio, B) 3^{er}estadio, C) 4^{to} estadio, D) 5^{to} E) ♀ y F) ♂.

7.4. Presencia de las diferentes fases de *T. cruzi* sobre el desarrollo de los triatóminos *T. longipennis*

De igual manera se realizó la determinación de presencia de formas de *T. cruzi* en las diferentes fases de triatóminos, en este caso con *Triatoma longipennis*. En las gráficas siguientes (Figura 18) se muestran que las tres fases estudiadas se infectaron con *T. cruzi*, cuyas cantidades totales oscilan entre 40 y 90×10^6 parásitos / ml de sangre., la máxima cantidad de parásitos oscila entre los días 25 y 55; en esta determinación los parásitos se mantienen constantes al contrario de *T. barberi* que llegan a una disminución con el tiempo. En el tercer estadio se observa una cantidad significativa de parásitos en sus heces desde aproximadamente el día 20 al día 60; la fase que se encontró con mayor cantidad fue el epimastigote, mientras que los tripomastigotes se encontraron en alrededor de 10 a 15 millones de parásitos / ml de sangre.

Las fases de triatómino que arrojaron mayor cantidad de parásitos son las de cuarto estadio y después las de tercer estadio ninfal, ya que son las que presentan mayor cantidad de tripomastigotes sanguíneos. En este estudio se piensa que los triatóminos de mayor riesgo son las de cuarto estadio, y que son de mayor riesgo que *Triatoma barberi*, sin embargo, no es el punto principal de interés puesto que se pretendía estudiar especies del estado de Hidalgo.

7.4. Presencia de las diferentes fases de *T. cruzi* sobre el desarrollo de los triatóminos *T. longipennis*

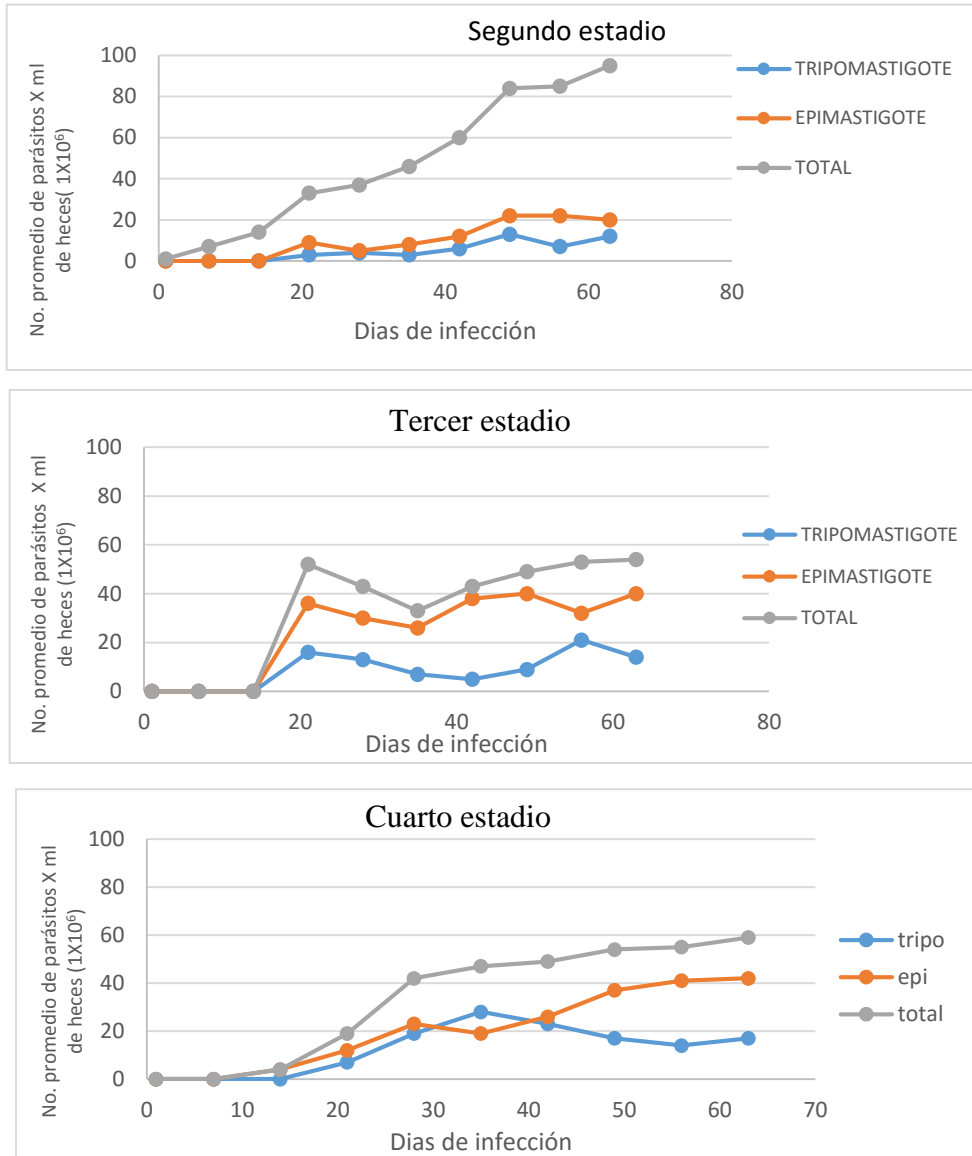


Figura. 18. Cinética de las diferentes fases de *T. cruzi*, presentes en A) 3^{er}estadio y C) 4^{to} estadio.

7.5. Cambio de estadios de *Triatoma barberi*

Los triatóminos sufren un proceso llamado ecdisis, esto ocurre más rápidamente cuando se alimentan los triatóminos con la sangre. La tabla 1 muestra que el cuarto estadio es el que tarda menos días en mudar a quinto solo son 28 días, y el que tarda más días es el de tercer estadio a cuarto, son 42 días. En los triatóminos no infectados el proceso de muda e realiza en menor tiempo, podemos ver que el tiempo de muda de estos últimos oscilan entre 20 y 35 días mientras que cuando están infectados tardan desde 28 hasta 42, y de acuerdo al análisis estadístico de chi2 podemos ver que hay una diferencia significativa.

		Infectadas				No Infectadas		
Estadios de triatóminos	Segundo estadio	Tercer estadio	Cuarto estadio	Quinto estadio	Segundo estadio	Tercer estadio	Cuarto estadio	5o estadio
Tiempo en mudar (días)	35	42	28	42	30	35	20	30
% ejemplares que mudan	100	60%	80%	100	100	62.5%	100%	80%
Tiempo en que murieron los triatóminos	98	98	98	104	Siguen vivas	Siguen vivas	Siguen vivas	Siguen vivas

Tabla 1. Periodo de muda de cada fase de *T. barberi*, infectadas y no infectadas

7.6. Cambio de estadios de *Triatoma longipennis*

En la (Tabla 2). Se muestran como *T. longipennis* infectada no llega a sufrir el proceso de muda en ningún estadio y mueren al día 68, al contrario de las no infectadas en el cual día 65 mudan al 100% y a un siguen con vida. Lo anterior hace pensar que el parásito si afecta a los triatóminos igual como sucedió en *T. barberi*. Sin embargo, en *T. longipennis* los triatóminos tardaron más en mudar.

		Infectadas		No	Infectadas
	Segundo estadio	Tercer estadio	Cuarto estadio	Tercer estadio	Cuarto estadio
Tiempo en mudar (días)	No mudaron	No mudaron	No mudaron	65	65
% ejemplares que mudan	No mudaron	No mudaron	No mudaron	100%	100%
Tiempo en que murieron los triatóminos	68	68	68	Siguen vivas	Siguen vivas

Tabla 2. Periodo de muda de cada fase de *T. longipennis*. infectadas y no infectadas

8. Discusión

En el presente trabajo se evaluó el efecto que tiene *T. cruzi* sobre el desarrollo de *Triatoma barberi* en que se investiga si el protozoario es capaz de modificar el comportamiento del insecto ya que como bien se sabe un microorganismo presente en el intestino de un insecto tiene que alimentarse y por ende puede afectar ya sea por ocupación del espacio y por los nutrientes que deberían ser utilizados por el triatómino, pero en este caso el parásito los utiliza y de alguna manera puede quitarle su alimento. Durante este trabajo se emplearon algunas fases de otra especie de triatómino, en este caso *Triatoma longipennis* el cual se utilizó como control del comportamiento de *T. barberi* ya que de lo contrario se iban a obtener resultados que no se sabría hasta qué punto es normal el comportamiento de la especie *T. barberi* y cuando es afectada por factores externos y no del mismo insecto. Se ha visto que el comportamiento de los triatómicos podría variar entre cada especie, pero también puede cambiar cuando están infectados con *T. cruzi* y además cambia entre cada fase del triatómino como fue observado en este trabajo. Este resultado también se observa en el trabajo de Loza y Noeiraum (2010) quienes hacen una comparación de capacidad vectorial entre *Triatoma guasayana* y *Triatoma infestans* y en que describen que *Triatoma guasayana* presentan una mayor infección en el tercer a quinto estadio por el contrario encontraron que los triatóminos de segundo estadio y los machos no se infectaron. En *Triatoma infestans* se infectaron todos los estadios señalando que *Triatoma infestans* es el vector con mayor eficacia para transmitir al parásito porque se encuentra en todos los estadios. No hay que olvidar que el tamaño puede influir en la cantidad de parásitos pues en la mayor parte de las especies de triatómicos el quinto estadio es más grande que el tercero y cuarto e incluso que el adulto. En esta tesis también sucedió lo mismo, el quinto estadio presenta mayor cantidad de parásitos que en los adultos, y a su vez en hembras mayor cantidad que en machos, esto se explica si se toma en cuenta el tamaño del insecto más que su capacidad de reproducirse en el interior del insecto.

Se determinó si la fase tripomastigote que es la fase infectiva que se encuentra en todas las fases de los triatómicos y el resultado observado fue que se encuentra en todos por lo que todas las fases del insecto pueden ser de riesgo pro entre mayor grado de madurez mayor cantidad de parásitos.

Como se muestra en los resultados se puede observar que el quinto estadio de *Triatoma barberi* es el más infectado por *T. cruzi* seguida de las hembras. En este caso su tamaño es más grande en comparación con los otros estadios, y se explica porque el intestino es de mayor tamaño entre más avanzada sea la fase del triatómino, por lo tanto, en el momento de la alimentación ingirieron mayor cantidad de parásitos que otros estadios ya que necesita mayor energía para mudar a el último estadio. En el caso de las hembras, de igual manera necesitan de más alimentación debido a que existe un mayor gasto de energía cuando existe la cópula y para la ovoposición, esto explica porque se presenta mayor cantidad de parásitos, hay mayor cantidad o volumen de sangre en el intestino de los triatóminos. Lo anterior se puede explicar con las observaciones hechas por Ramírez Pérez (1999) donde indica que la pleura de los triatóminos es elástica y expansible, lo que posibilita una considerable dilatación del abdomen durante la pleura membranosa durante la alimentación, por eso entre mayor sea el estadio más se dilata el abdomen lo que favorece mayor contenido de sangre y por tanto mayor cantidad de parásitos se encontrarán en el intestino, al contrario de los demás estadios que son de menor tamaño (Ramírez Pérez 1999). El cuarto estadio de *Triatoma longipennis* es el más infectado por *T. cruzi*, seguido del tercer estadio y por último el de segundo estadio. en este no se tuvieron más ejemplares de triatóminos. Aquí sucede lo mismo que en *Triatoma barberi*. Pero se encontró mayor cantidad de parásitos debido a que estos triatóminos son de mayor tamaño el de cuarto estadio es tres veces más grande que *T. barberi*.

En la cinética de la metaciclogenia de *T. cruzi*, en *Triatoma barberi* se observa que la fase predominante es epimastigote tanto en *Triatoma* como en *Triatoma. longipennis*. La forma de epimastigote no se encuentra habitualmente en sangre del hospedero vertebrado, pero aparece durante el ciclo evolutivo en el tubo digestivo de los invertebrados transmisores y en los medios de cultivos. Tiene capacidad reproductora, multiplicándose por división binaria, tanto en el insecto como en los cultivos. En los resultados se observa una cantidad mayor de epimastigotes lo cual indica que resta capacidad infectiva de *T. cruzi*, sin embargo, sigue teniendo riesgo de transmitir al parásito por la presencia de tripomastigotes, aunque estén en baja cantidad. Cuando los insectos pican aun mamífero infectado se llevan consigo tripomastigotes los cuales pasan al intestino del triatomino para después convertirse en epimastigotes; es posible que el intestino esté lleno de sangre que permite al parásito

reproducirse en grandes cantidades en fase de epimastigote ya que es la fase replicativa; en cambio el tripomastigote no se replica y se encontrará en un intestino con menos sangre por eso cuando se hace una deyección se encuentran en mayor cantidad los epimastigotes, de aquí la gran abundancia de esta fase en los triatóminos analizados.

Se ha demostrado la presencia de epimastigotes en el hospedador vertebrado, de acuerdo con Witremundo Torrealba, 1999, particularmente en rabipelados en donde se observa que la presencia de los epimastigotes se localiza específicamente en el lumen de la glándula odorífera de estos animales.

Por primera vez queda demostrado el equilibrio que existe entre la presencia de epimastigotes y tripomastigotes dentro del intestino de triatóminos y por tanto estos últimos permiten la existencia y multiplicación de la fase replicativa extracelular, el epimastigote y la coexistencia de la fase infectante, el tripomastigote, sin embargo no podemos descartar que la presencia de epimastigotes y tripomastigotes metacíclicos en el vertebrado puede significar una modificación substancial en la concepción clásica del mecanismo de transmisión de la enfermedad de Chagas o un mecanismo de escape alternativo, para este parásito.

La fase del triatómino donde se encontró una mayor cantidad de parásitos es la de quinto estadio, seguida de la de cuarto estadio ninfal, por lo tanto, se espera que el de mayor riesgo para contraer la enfermedad es el de quinto estadio; esto se puede explicar por el tamaño del insecto ya que esta fase ninfal es más grande que las restantes, incluyendo las adultas. Para entender esta situación es necesario saber que el alimento sanguíneo provoca receptores de expansión y nutrición en los triatóminos, y por tanto la cantidad de nutrientes que existe en cada estadio tiene un efecto en el desarrollo de los tejidos del insecto, lo que hace que muden más rápidamente, de acuerdo a la cantidad de sangre que ingieran; por el contrario, si no se alimentan tardan más en mudar e incluso si no se alimentan entonces llegan a morir más rápidamente en comparación con los alimentados en tiempos menos prolongados. De acuerdo a los resultados aquí obtenidos se pudo observar que en *T. barberi* el tiempo en que mudan fue menor entre menos avanzada sea la fase, por ejemplo, mudan más rápido las ninfas de 1° y 2°, que las de tercero y cuarto y a su vez estas mudan más rápido que las de 5° y adultas.

Un factor que también influye en el tiempo para mudar y por tanto de desarrollo es el hecho de que estén infectados los triatóminos con *T. cruzi*. En este trabajo se pudo observar que los ejemplares infectados se tardan más días en mudar cuando están infectados con *T. cruzi* en comparación con los no infectados, esto se puede explicar porque es posible que los insectos obstruyan el epitelio del intestino de los insectos y por tanto se comporten como una barrera que interfiere con la absorción de sus alimentos, o tal vez que los parásitos provoquen una reacción en el insecto ocasionando que éste pueda obtener sus alimentos ya que en estas chinches infectadas su peso y tamaño se observó reducido. En este trabajo se observó que las no infectadas en estado adulto se alimentaron en un promedio de once semanas, una vez por semana durante una hora en las que ellas si aceptaban el alimento. Por otro lado, las infectadas se alimentaron solo por siete semanas y después murieron; lo anterior también se presentó en el trabajo de Friend, *et al*, 1975, en el que se observa que si *Rhodinux Prolixus* no se alimenta adecuadamente no existe un cambio de estadio, las tres primeras fases pueden realizar cambio de muda con una ingesta sanguínea completa, pero los estadios cuatro y cinco normalmente requieren comer más de una vez para mudar. Los adultos pueden vivir varios meses e incluso más de un año. En los resultados que se obtuvieron en esta tesis se pudo observar que el tiempo que tardan para mudar es mayor a *Triatoma longipennis* que *Triatoma barberi*, pero hay que tomar en cuenta que la primera tiene mayor tamaño que la segunda.

Hasta el momento no existen estudios realizados sobre el efecto que tiene la carga parasitaria de los triatóminos sobre su ecdisis, pero en nuestro caso se observa que si existe algún efecto. En *Triatoma barberi* infectado se observa que existe un cambio de muda que oscila entre los días 28 y 42, sin embargo, en los triatóminos no infectados la muda se realiza entre los días 20 y 30. En *T. longipennis* infectado al día 68 no existió ningún cambio de muda en ninguno de los triatóminos, por lo tanto, el parásito afecta el proceso de muda debido a que los triatóminos infectados solo se alimentaron dos veces más después de la infección al contrario de las no infectadas, la alimentación adecuada para los triatóminos lleva a cabo la ecdisis.

En *Triatoma barberi* mueren los triatóminos infectados al día 98 y las no infectadas siguieron vivas a lo largo del experimento, por más de 100 días. En *T. longipennis* los

triatóminos mueren al día 68 y las no infectadas siguen vivas. En ambos casos el parásito afecta al triatómino por eso se mueren los que se encuentran infectados. Estos resultados se pueden explicar con los trabajos realizados por Pollit L.C *et al*, 2015 y por Sinden R. E *et al*, 2007 en donde se demuestra que parásitos del género *Plasmodium* pueden afectar a sus hospederos invertebrados del género *Anopheles* ocasionando alteración en la variabilidad tanto del mosquito como de las especies que están colonizando a este insecto, por lo que es entendible que *T. cruzi* afecte el desarrollo de *T. barberi*.

Los resultados de este trabajo demuestran por primera vez el efecto que tiene la presencia de *T. cruzi* sobre los estadios de desarrollo de *Triatoma barberi* tanto por la carga parasitaria como por la fase del parásito y permite entender si todos los estadios del insecto son de riesgo para la transmisión del parásito en la enfermedad de Chagas, por otro lado alienta a continuar con los estudios sobre el desarrollo de los triatómicos y sobre todo si existe alguna sustancia del parásito que afecta su desarrollo.

9. Conclusiones

- A mayor estadio de desarrollo de los triatóminos mayor es la cantidad de parásitos que están infectando excepto en adultos que es menor que las de quinto estadio, sin embargo, las hembras desarrollan mayor parasitación que los machos.
- La fase de *T. cruzi* que se encuentra con mayor frecuencia es el epimastigote en *Triatoma barberi* y *Triatoma longipennis*, por lo tanto, los estadios estudiados son riesgosos.
- La ecdisis de los triatóminos es afectada por la presencia de *T. cruzi* impidiendo que se lleve a cabo.
- La parasitación por *T. cruzi* puede provocar la muerte de los triatóminos.

10. Bibliografía

Abuhab A, Trindade E, Aulicino GB, Fujii S, Bocchi EA, Bacal F. (2013). Chagas' cardiomyopathy: The Economic Burden of an Expensive and neglected disease. *International journal of cardiology*.13 ,7.

Adl SM, Simpson AG, Lane CE, Lukes J, Bass D, Bowser SS. (2012). The revised classification of eukaryotes. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*. 5, 93

Andrade A.L ZF, Martelli C.M. (1994). An Epidemiological Approach to Study Congenital Chagas' Disease Método Epidemiológico na Investigação da Infecção Congênita pelo *Trypanosoma cruzi*. *Cad Saúde Públ*.10,6.

Baruch W.A GIH, Jercic M.I, Morales L.J, Muñoz P, Hauk I.N, San Martín A.M, Sapunar J.P, Torres M.H, Zulantay I.A. (2006). *Guías Clínicas de la Enfermedad de Chagas*. 91,48

Becerril, FMA. (2014). *Parasitología médica de las moléculas a la enfermedad*. Editorial McGraw Hill-Interamericana.

Becerril-Flores M.A R-FE, Imbert-Palafox J.L, Gómez-Gómez J.V, Figueroa-Gutiérrez Z A.H. (2007). Human Infection and Risk of Transmission of Chagas Disease in Hidalgo State, México. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 76, 5.

Benchimol Barbosa PR. (2006) The oral transmission of Chagas' disease: an acute form of infection responsible for regional outbreaks. *International journal of cardiology*. 112,132

Beier JC (1998) Malaria parasite development in mosquitoes. *Annu Rev Entomol* 43: 519–543.

Borror D.J DDM. (1979) *An Introduction to the Study of Insects*. Holt RaW, editor. New York.

Camargo M. E. (2003) Conocimiento Actual sobre el la Distribución de los Triatóminos en México. In: Pública INdS, editor. *Iniciativa para la Vigilancia y el Control de la Enfermedad de en la República Mexicana México*.

Camargo M, Takeda GK. (1979) Diagnóstico de laboratorio. En: Brener Z, Andrade S, ed. *Trypanosoma cruzi e deonca de Chagas*. Rio Guanabara Koogan 84,175-198.

Camargo, M. E. (1987). Diagnóstico sorológico da doença de Chagas. *Ars Cardiología*. 9: 29-38.

Castillo D WM. (2000) Aspectos del Comportamiento de los Triatominos (Hemiptera: Reduviidae), Vectores de la Enfermedad de Chagas. *Biomédica* 20,5.

Cervillos AM y Hernández R. (1998). *Trypanosoma cruzi* y la enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana), Departamento Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.19, 2

Cruz-Reyes, A. y Pickerin- López, J.M. (2006). Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years-A review. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz* 101,345-354.

Cruz, R.A y Camargo, C.B. (2001). *Glosario de términos en parasitología y ciencias afines*. Mexico: Plaza y Valdez Editores, México, D.F.347 p.

Cura N. Estela and Segura L. Elsa. (1998) Quality Assurance of the serologic Diagnosis of Chagas Disease rev. *Panam Salud Publica/Pan Am J. Public Health* 3:4.

Chagas C. Nova. (1909) tripanozomiazé humana. Estudios sobre la morfología del ciclo evolutivo de *Schizotrypanum cruzi* n. Gen., n.sp. agente etiológico de nova entidade mórbida de homén – Ueber eine neu trypanosomiasis des Menschen. Studien uber Morphologie und Entwicklungszyklus de *Schizotrypanum cruzi*.

Crocco Liliana. (1994) *Enfermedad de Chagas y sus vectores* Universidad Nacional de Córdoba, 1994

Durvasula RV, Gumbs A, Panackal A, Kruglov O, Taneja J, Kang AS. (1999) Expression of a functional antibody fragment in the gut of *Rhodnius prolixus* via transgenic bacterial symbiont *Rhodococcus rhodnii*. *Med Vet Entomol*. 13,2

Espinoza-Gomez F, Maldonado-Rodriguez A, Coll-Cardenas R, Hernandez-Suarez CM, Fernandez-Salas I. (2002). Presence of triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and risk of

transmission of Chagas disease in Colima, Mexico. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 97(1):25-30.

Evangelista –Martínez, Z., Imbert- Palafox, J.L, Becerril-Flores, M.A y Gomez-Gomez, J.V.(2010). Morphologic analysis of eggs of *Triatoma Barberi* Usinger(Hemitera:Reduvidae). *Neotropical Entomology*. 39, 207-213.

Facultad de Medicina UNAM www.facmed.unam.mx □

Friend W-G, J-J y B Smith fisiología de los triatóminos con especial referencia a la alimentación por sangre capitulo VII.

García, E.S. y Azambuja, P. (1991) Developmet and Interactions of *Tripanosoma cruzi* within the insec.

García ES y Azambuja P. (1999) Biological Factors Involving *Trypanosoma cruzi* Life Cycle in the Invertebrate Vector, *Rhodnius prolixus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Río de Janeiro. 94.

Guzmán Bracho M. (1986) Importancia de la enfermedad de Chagas en México. *Rev Latinoam Microbiol*; 28: 275-283.

Guzmán-Marín E Z-CJE, Acosta-Viana K.Y. Rosado-Barrera M.E. (1999) Importancia de la caracterización de cepas de *Trypanosoma cruzi*. *Rev Biomed*. 10:7.

Goldsmith RS, Kagan IG, Zárate R, Reyes González MA, Cedeño Ferreira J. Estudio epidemiológico de la enfermedad de Chagas en Oaxaca, México. *Bol Of Sanit Panam* 1979; 87: 1-19

Garrido, C.J., Rivas, L. y Montiel, L. (2007). Guía para diagnóstico, manejo y tratamiento de la enfermedad de Chagas en fase aguda a nivel de establecimientos de salud. Venezuela: Direccion General de Epidemiologia.Ç

Haro AI. (2003). de Algunos hechos históricos relacionados con la enfermedad de Chagas. *Rev Mex Patol Clin*. 50: 109-12.

Hayes R. & Schoefield CJ. (1992). Estimaciones de las tasas de incidencia de infecciones y parasitosis Crónicas a partir de la Prevalencia: la Enfermedad de Chagas en América latina. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. 108: 308-306.

Jimenez-Coello M, Acosta-Viana KY, Guzman-Marin E, Gomez-Rios A, OrtegaPacheco A. (2012). Epidemiological Survey of Trypanosoma cruzi Infection in Domestic Owned Cats from the Tropical Southeast of Mexico. Zoonoses Public Health. 2:102-9.

Lent H WP. (1979) Revision of the triatominae (HEMIPTERA, REDUVIIDAE), and their significance as vector of Chagas´disease. American museum of Natural History. 163,136.

López F. J., Flores H. R. & Ramos C. (2000). Diagnosis of Chagas´ disease. Rev.Latinoam. Microbiol. 42: 121-129.

Loza Murguía Manuel Noireau F, (2010) Capacidad vectorial de Triatoma guasayana (Wygodzinsky y Abalos) (Hemiptera: Reduviidae) en comparación con otras dos especies de epidemia. Departamento Cruz, Bolivia. Trans R Soc Trop Med Hyg 91: 653-656. [Links]

Lukes, J., Guilbride, D.L., Votypka, J., Zikova A., Benne, R y Englund, P.T. 2002. Kinetoplast DNA Network: Evolution of an Imprpbable structure. Eukaryotic Cell. 1:495-502.

Maldonado, Capriles J. Systematic Catalogue of the Reduviidae and their significance as vectors of Chagas disease. Bolletin of the American Museum of Natural History 1990; 63:125-520.

Mazzoti L: Gac Med México 1940; 70:417-420.

Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas Disease. Lancet Infect Dis. 2001.

Pollitt LC, Churcher TS, Dawes EJ, Khan SM, Sajid M. (2015). Costs of crowding for the transmission of malaria parasites. Evol Appl. 6: 617–629. Ramsey JM, Alvear AL, Ordoñez R, Muñoz G, Chaves V, Lopéz R, Leyva R. (1999) Program and Abstracts of the 48 “Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene”. DC.

Ramsey Willoquet JM. (1999). La importancia de la enfermedad de Chagas en la salud pública de México, Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas.

RC. B-FMR. In: Hill MG, editor. Parasitología Médica de las moléculas a la enfermedad. Mexico 2004. p. 300.

R Z. (1981) El *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) y su relación con la enfermedad de Chagas. Editorial Universidad Estatal a Distancia. 10.

Salazar Scheetino PM, De Haro Arteaga. (1998). Land Uribarren Berrueta Chagas Disease in México, Parasitology today. 4:12.

Salazar-Schettino, MP; Rojas-Wastavino, GE; Cabrera-Bravo, M; Bucio-Torres, MI; Martínez-Ibarra, JA; Monroy-Escobar, MC; Rodas-Retana, A; Guevara-Gómez, Y; Vences-Blanco, MO; RuizHernández, AL; Torres-Gutiérrez. (2010) E Revisión de 13 especies de la familia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) vectores de la enfermedad de Chagas, en México Journal of the Selva Andina Research Society, vol. 1. 57-80.

Schoefield C J. (1994). Triatominae Biología y Control.

Schofield, C. J. (2000) Biosystematics and evolution of the Triatominae, Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 16(sup.2):89-92.

Salomon CJ. First century of Chagas' disease: an overview on novel approaches to nifurtimox and benznidazole delivery systems. J Pharm Sci. 2012;101(3):888-94.

Segovia JCP. (2000). Un caso de tripanosomiasis. Arch Hosp Rosales (San Salvador) 8, 24-54.

Sinden RE, Dawes EJ, Alavi Y, Waldock J, Finney O. (2007). Progression of *Plasmodium berghei* through *Anopheles stephensi* is density-dependent. PLoS Pathog. 3: 195 doi:

Stahl P, Ruppert V, Meyer T, Schmidt J, Campos MA, Gazzinelli RT. (2013). Trypomastigotes and amastigotes of *Trypanosoma cruzi* induce apoptosis and STAT3 activation in cardiomyocytes in vitro. Apoptosis. 24:24.

Souto, R.P., Fernández, O., Macedo, A.M., Campbell, D.A., Zingales, B. (1996). DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 83:141–152.

Tay, J y Biaggi, A. M. de B. (1964). Localidades nuevas de triatomíneos mexicanos y su infección natural por *Trypanosoma cruzi*, *Rev. Fac. Med. Mex.*, 6(5):305-311.

Townsend Peterson A S-CV, Ben Beard C, Ramsey aJM. (2002) Ecologic Niche Modeling and Potential Reservoirs for Chagas Disease, Mexico. *Emerging Infectious Diseases.* 8(7):6

V. HLyB. (1985) Immune Response to South American Trypanosomiasis and its Relationship to Chagas' Disease. *British Medical Bulletin* 41(2):5.

Vidal-Acosta V I-BS, Martínez-Campos C. (2000) Infección natural de chinches Triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud Pública de México.* 42(6):8.

Werner Apt, Arribada A, Zulantay I, Solari I. Sánchez G, Mundana K. (2005). Itraconazole or allopurinol in the treatment of chronic american trypanosomiasis. The results of clinical and parasitological examinations 11 years post treatment. *Ann Trop Med Parasitol* 99,41.

World Health Organization. Division of Control of Tropical Diseases. Chagas Disease Elimination. Technical Report series 811. Geneva 1998.

Zarate LG, Tempelis CH. (1981). The biology and behavior of *Triatoma barberi* (Hemiptera: Reduviidae) in Mexico. II. Influence of a single versus a double feeding on the time that blood meal antigens remain serologically detectable. *Journal of medical entomology.* 18(2):99-106.

Zárate GL, Zárate R. A. (1985). Checklist of triatomidae (Hemiptera: Reduviidae) of Mexico. *Int J Entomol.* 27; 102-127.

Werner A. B HGI, Jercic M.I, Jofré M. L, Muñoz C.P, Noemí H. I, San Martín A.M, Sapunar P. J, Torres H. M Zulantay A. I. (2008). Part III. Enfermedad de Chagas en donantes de banco de sangre. *Rev Chil Infect.*