



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA  
ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA**

**EVALUACIÓN DE LOS RIESGOS DE ADQUISICIÓN DE LA  
ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EL ESTADO DE HIDALGO POR  
TRIATOMINOS INFECTADOS CON *Trypanosoma cruzi***

**TESIS**

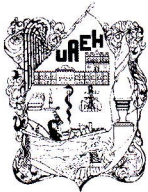
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN QUÍMICA**

**PRESENTA:**

**RAÚL MARINES LUGO**

**DIRECTOR DE TESIS: DR. MARCO ANTONIO BECERRIL FLORES**

**Mineral de la Reforma, Hgo; Noviembre 2014**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

Licenciatura en Química

**M. en A. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO,  
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DE LA U.A.E.H.,  
Presente:**

Por este medio le comunico que el Jurado asignado al pasante de Licenciatura en Química **Raúl Marines Lugo**, quien presenta el trabajo de titulación "**Evaluación de los riesgos de la enfermedad de Chagas en el Estado de Hidalgo por triatomos infectados con *Tripanosoma cruzi***" después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación firman de conformidad los integrantes del Jurado:

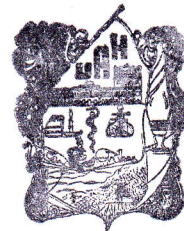
PRESIDENTE:	Dra. Maricruz Sánchez Zavala
PRIMER VOCAL:	Dr. Marco Antonio Becerril Flores
SEGUNDO VOCAL:	Dra. Carmen Balderas Delgadillo
TERCER VOCAL:	Dra. Myriam Meléndez Rodríguez
SECRETARIO:	Dr. José Roberto Villagómez Ibarra
PRIMER SUPLENTE:	Dr. Julián Cruz Borbolla
SEGUNDO SUPLENTE:	Dr. Eva María Molina Trinidad

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

ATENTAMENTE  
"Amor, Orden y Progreso"  
Mineral de la Reforma, Hidalgo a 25 de noviembre de 2014.

Dra. Susana Rojas Lima  
Coordinadora Adjunta de la Lic. en Química.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE HIDALGO



CENTRO DE INVESTIGACIONES  
QUÍMICAS



Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería,  
Carretera Pachuca - Tulancingo Km. 4.5, Ciudad del Conocimiento,  
Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma,  
Hidalgo, México, C.P. 42184  
Tel. +52 771 7172000 ext. 2218  
quimica.icbi@uaeh.edu.mx



Durante el desarrollo de esta tesis, se contó con el apoyo económico de una beca para programas de capacitación/Becas a estudiantes. Numero de partida 420-0001-0001-0001-0000-0000. Recursos otorgados por: 110102-011111 Federal Especifico Promep. Centro de costos: Área Académica de Medicina 02320200.

La parte experimental se desarrolló en el Laboratorio anexo de Histología y en el Bioterio del Icsa, a cargo del Dr. Marco A. Becerril Flores.

## *Dedicatorias:*

*Quiero dedicar este trabajo a:*

*A mi madre, por darme la vida, creer en mí y porque siempre me apoyaste. Mamá gracias por darme una carrera para mi futuro.*

*A mi padre, porque a pesar de tu ausencia física siempre estuviste conmigo apoyándome desde el cielo.*

*A mi esposa por seguir a mi lado dándome su apoyo incondicional, por su amor y su comprensión. Gracias Ate!!!*

*A mi hija por ser el tesoro que Dios me regaló, gracias por ser el motor y la motivación de seguir luchando en esta vida. Gracias por tu entrega y amor hija. !!!*

**Un día mi padre me dijo: Si llega a suceder que no despiertas por la mañana siguiente, y si resulta que hoy es tu último día en la tierra. ¿Estarías orgulloso de lo has hecho en esta vida? Porque si no lo estuvieras será mejor que empieces a mejorar la cosas!!!**

### *Agradecimientos:*

*Gracias Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el trayecto de mi camino hacia ti.*

*Siempre, toda mi gratitud a cada uno de los seres que interviene con su presencia, fuerza y apoyo, bajo todas las circunstancias que se han presentado a lo largo de mi vida. Todos ocuparan un lugar en mi mente y en mi corazón. ¡Gracias!*

### *Doctor Marco A. Becerril:*

*Gracias por haberme permitido trabajar en su equipo, palabras me faltan para agradecer su apoyo y expresarle mi gratitud en cada momento de este trabajo. He aprendido mucho de su experiencia, pero sobre todo gracias por brindarme su amistad.*

### *A mi familia:*

*Por ser mi apoyo y razón de existir, gracia por estar conmigo en la buenas y en las malas, gracias por acompañarme a lo largo del camino, haciéndola cada día más gracias a su cariño*

# ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	iii
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	iv
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	v
<b>RESUMEN</b> .....	vi
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>I. ANTECEDENTES HISTÓRICOS</b> .....	3
<b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....	13
2.1 Morfología.....	14
2.2 Ciclo biológico del <i>T.cruzi</i> .....	16
2.3 Mecanismos patogénicos.....	18
2.4 Cuadro Clínico.....	18
2.5 Tratamiento.....	21
2.6 Factores epidemiológicos.....	22
2.7 Mecanismos de transmisión.....	23
<b>III. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA</b> .....	26
<b>IV. JUSTIFICACIÓN</b> .....	27
<b>V. HIPÓTESIS</b> .....	28
<b>VI. OBJETIVOS</b> .....	29
6.1 Objetivo General.....	29
6.2 Objetivos particulares.....	29
<b>VII. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	30
7.1 Tipo de estudio.....	30
7.2 Definición de la población de estudio.....	30
7.3 Determinación del tamaño muestral.....	30
7.4 Fuente de recolección de información.....	34

7.5 Técnicas de recolección de información.....	35
7.6 Búsqueda y captura de <i>triatominos</i> .....	35
7.7 Estandarización del crecimiento de <i>T. cruzi</i> en medio de cultivo.	37
7.8 Estandarización de la infección de <i>T. cruzi</i> en ratones.....	39
7.9 Determinación y estandarización de técnicas para la evaluación de la infectividad y virulencia de <i>T. cruzi</i> .....	41
7.10 Aislamiento de cepas de <i>T. cruzi</i> en ratones CD-1 y medios de cultivo.....	42
7.11 Estandarización de curva de crecimiento <i>in vitro</i> .....	44
7.12 Determinación de la virulencia <i>in vivo</i> .....	46
<b>VIII. RESULTADOS</b> .....	48
<b>IX. DISCUSIÓN</b> .....	58
<b>X. CONCLUSIONES</b> .....	61
<b>XI. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fotografía del Dr. Carlos Chagas (izquierda), y del Dr. Oswaldo Cruz (derecha).....	3
Figura 2. <i>T. cruzi</i> . Protozooario flagelado responsable de la enfermedad de Chagas o mal de Chagas-Mazza.....	14
Figura 3. Diferentes especies de triatomas.....	15
Figura 4 <i>Triatoma mexicana</i> .....	16
Figura 5. Ciclo biológico del t. cruzi.....	17
Figura 6. Nifurtimox.....	21
Figura 7. Benznidazol.....	21
Figura 8 Inoculación intraperitoneal en ratones CD-1.....	39
Figura 9. <i>T. cruzi</i> obtenido de la muestra de sangre de ratón CD1 infectado. ....	43
Figura 10. Inoculación en medio de cultivo LIT.....	44
Figura 11. Corte histológico de ratón CD1.....	47
Figura 12. Mapa del Estado de Hidalgo.....	51



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tamaño muestral.....	31
Tabla 2. Distribución de Tamaño Muestral según estrato, jurisdicción y localidad.....	32
Tabla 3. Fases de triatominos encontrados en las diferentes Jurisdicciones.....	48
Tabla 4. Relación de triatominos infectados con <i>T. cruzi</i> .....	50
Tabla 5. Porcentaje de triatominos infectados.....	52
Tabla 6. Número total de triatominos colectados.....	52
Tabla 7. Cinética de positividad de <i>T. cruzi in vivo</i> en ratones CD1.....	53
Tabla 8. Cinética de desarrollo de aislados de <i>T. cruzi in vitro</i> ..	55
Tabla 9. Resumen de parasitemia de las cepas aisladas.....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS

µg	Micro gramos
µL	Micro litro
CETS	Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea
ELISA	Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas
ENSE	Encuesta Nacional Seroepidemiológica
FCS	Suero fetal bovino
g	Gramos
HAI	Hemaglutinación Indirecta
IFI	Inmunofluorescencia Indirecta
LESPH	Laboratorio Estatal de Salud Pública de Hidalgo
LIB	Infusión de hígado
LIT	Medio de Liver Infusion Tryptose
mg	Mili gramo
mL	Mili litro
NNN	Medio de Novy, Nicolle y McNeal
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PBS	Buffer de fosfatos (phosphate buffered saline)
<i>T. cruzi</i>	<i>Tripanosoma cruzi</i>
TNR	tasa de no respuesta
TrA	Trypanosomiasis Americana

## RESUMEN

Los triatominos son una subfamilia de hemípteros (chinchas verdaderas) que son característicos por sus hábitos hematófagos. Se encuentran en casi toda América y son vectores de *Trypanosoma cruzi*, que es el agente causal de la enfermedad de Chagas o Trypanosomiasis Americana (TrA). Las estimaciones actuales de Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que más de 16 millones de personas están infectadas con este parásito y 100 millones más están en riesgo de contraer la enfermedad.

La transmisión de la enfermedad de Chagas por estos vectores representa más del 80% de la transmisión total del *T. cruzi*. La magnitud de la infección en el territorio nacional es discutible, ya que los cuadros clínicos no son característicos, confundándose con enfermedades comunes. Aunque aparentemente poco intensa, la infección Chagásica se distribuye en todo el país, pero particularmente en los estados de Chiapas, Hidalgo y Veracruz.

El objetivo de este proyecto es el de conocer las diferentes especies de triatominos que predominan en el Estado de Hidalgo, su capacidad para invadir las viviendas y su grado de infectividad. Este estudio se llevó a cabo en diferentes localidades de las 13 jurisdicciones existentes en el Estado, seleccionadas de manera aleatoria.

De los resultados obtenidos se puede deducir que la enfermedad de Chagas es un importante problema de salud pública, ya que se encontró los triatominos del parásito y además el protozoario del mismo. También se encontraron diferentes especies de triatomas (*dimidiata*, *barberi* y *mexicana*) y se lograron aislar 33 cepas de *T. cruzi*.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, también conocida como tripanosomiasis americana, es un problema de salud pública en 17 países latinoamericanos, donde es endémica, con más de 16-18 millones de infectados y con una población en riesgo estimada en 100 millones (Zingales y col., 1998). Debido a su impacto económico, a partir del año 1993, la OMS la considera como la enfermedad parasitaria más grave en América (Zingales y col., 1998);

Actualmente se conocen más de 100 especies de triatominos en América, y se ha señalado que más de la mitad han sido infectadas de manera natural o experimentalmente con *T. cruzi*. Es muy probable que todas las especies sean capaces de transmitir el parásito, aunque las especies de mayor significancia epidemiológica son las que colonizan fácilmente las viviendas humanas; se esconden en las grietas y hendiduras de las casas rurales, saliendo por la noche para alimentarse de sus ocupantes que permanecen dormidos. Sin embargo, existen especies selváticas que invaden las casas, atraídas por la luz y pueden contribuir a la transmisión de *T. cruzi* hacia los humanos.

La adquisición de la enfermedad de Chagas se realiza a través de diferentes mecanismos: por deyecciones de los triatominos, el trasplante de órganos, la ingestión de leche materna, los accidentes dentro del laboratorio, el desollamiento de animales silvestres, la vía trasplacentaria, el consumo de carne semicruda de animales parasitados y de bebidas contaminadas con materia fecal de triatominos y por la transfusión sanguínea; el 80% de la transmisión ocurre por las heces de los triatominos (Souto y col., 1996).

La magnitud de la infección en el territorio nacional es discutible, ya que los cuadros clínicos no son característicos, confundiéndose con enfermedades comunes (Craig y Faust, 1975). Para 1990 el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, tenían registrados 300 casos agudos comprobados. Cada vez hay más reportes de nuevos casos en diferentes estados de la República Mexicana. Aunque aparentemente de manera poco intensa, la infección Chagásica se distribuye en casi todo el país, pero particularmente en los estados de Chiapas, Hidalgo y Veracruz (Búa y col., 1990)

Más de 60 especies de triatóminos se han reportado con infección natural o experimental con *T. cruzi* (Craig y Faust, 1975). En México la enfermedad de Chagas es uno de los principales problemas de salud, se estima que 1.6 millones de habitantes están infectados y de estos 155 000 son niños (Guzmán, 2001; Velasco y col., 1992). También en México se ha visto esta variabilidad clínica, además de que es un país donde se presenta la mayor variabilidad de especies de insectos redúvidos denominados triatomos que son los transmisores de *T. cruzi*. Hay 32 especies registradas, para cada una con diferente capacidad de transmisión (Zarate y Zarate, 1985).

El objetivo de este proyecto fue dar a conocer las diferentes especies de triatomos que predominan en el Estado de Hidalgo, su gran capacidad para invadir las viviendas y su alto grado de infectividad. Este estudio se llevó a cabo en las diferentes localidades de las 13 jurisdicciones existentes en el Estado de Hidalgo, seleccionadas de manera aleatoria a través de un diseño de tipo transversal.

## I. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Las parasitosis son un gran problema en América Latina y de éstas, la Enfermedad de Chagas ocupa unos de los primeros lugares en cuanto al número de casos notificados (Búa y col., 1990). Estimaciones actuales de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que esta enfermedad es endémica en 17 países americanos y se estima que actualmente de 16 a 18 millones de personas están infectadas con este parásito y que además otros 100 millones de personas están en riesgo de contraer la infección, lo que representa una prevalencia del 4% de la población total de Latinoamérica (Hayes y Schoefield 1990).

La enfermedad de Chagas fue descubierta por el Dr. Carlos Justiniano Ribeiro Chagas, en el año 1909 en Minas Gerais Brasil (Hayes y Schoefield, 1990). Él demostró al agente etiológico, junto con algunos vectores, huéspedes y reservorios, y dedujo correctamente la mayor parte del ciclo de transmisión del parásito. En la actualidad se conocen alrededor de 120 especies de triatomos en toda Latinoamérica y más de la mitad de las especies se han señalado infectadas de forma natural o experimentalmente con el *T. cruzi* (Lent y Wygodzinky, 1979), (Maldonado y Capriles, 1990).

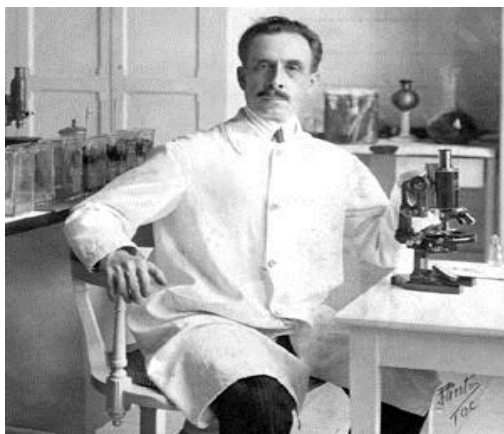


Figura 1. Fotografía del Dr. Carlos Chagas (izquierda), y del Dr. Oswaldo Cruz (derecha).

En su publicación escrita en portugués y alemán, Dr. Ribiero Chagas señala los hallazgos que observó durante la expedición sobre la campaña antipalúdica en Minas Gerais en Brasil, dirigida por el Dr. Oswaldo Gonzales Cruz (ver Figura 1). El Dr. Chagas reportó que las viviendas de la gente que visitó tenían en el interior chinches hematófagas denominadas “barbeiros” en gran cantidad. Que constantemente les picaban, sobre todo en las noches.

Al enviarle ejemplares de estos insectos al Dr. Oswaldo Cruz, encontraron protozoarios flagelados que pertenecen a la especie *Trypanosoma cruzi* y que en ese entonces se le denominó *Schizotrypanum cruzi*, y se infectaron varios animales como cobayos y monos de la especie *Callithrix penicillata*. Después de 20 a 30 días se encontraron tripanosomas en su sangre. Posteriormente el Dr. Chagas siguió con la investigación y examinó a la gente de estas viviendas, de entre ellos a dos niños, una niña de 2 años llamada Berenice, que presentaba un cuadro agudo, en la cual detectó al *T. cruzi* en su sangre, de la misma manera que el otro niño, José de 8 años de edad en donde observó al mismo parasito en la sangre del niño. A su vez, también encontró parásitos en sangre de animales, como el gato. Con la sangre de los niños infectó nuevamente cobayos y macacos y estos desarrollaron la parasitemia. Así mismo, los barbeiros libres de infección se alimentaron de los macacos y en los insectos se desarrollaron trypanosomas. Todo esto demostró el ciclo biológico del *T. cruzi*, solo que el Dr. Chagas pensó que la transmisión era por picadura. Sin embargo, Brumpt en 1914, descubrió que la transmisión era por las deyecciones y no por la picadura. Desde entonces, se empezaron a reportar casos de la Enfermedad de Chagas en diferentes países como el Salvador, Venezuela, Perú, Paraguay, Panamá, Chile y en México por Luis Mazzoti, procedentes del estado de Oaxaca (Tanowitz, y col., 1992).

La enfermedad de Chagas es una enfermedad endémica causada por *T. cruzi*, que es protozoo que se transmite a los seres humanos por insectos hematófagos de la familia Reduviidae, subfamilia Triatominae (Velasco-Castrejón y col., 1990). El *T. cruzi* se transmite al hombre en las deyecciones de sus vectores las chinches Triatominas, y no en la picadura de estas (Ortega y Tay, 1972). Las chinches se infectan alimentándose de mamíferos infectados y después conservan la infección durante toda la vida.

La infección con *T. cruzi* tiene un periodo de incubación de 4-10 días, periodo en el cual, por lo general no se presentan síntomas. Posteriormente, la infección presenta 3 fases: aguda, indeterminada y crónica.

La infección puede ser mortal y a menudo conduce a lesiones muy debilitantes de los órganos vitales, especialmente el corazón y el tracto intestinal. Además, ya que la enfermedad es incurable, salvo durante las primeras fases, y no hay vacunas, el control depende mucho de la eliminación de las poblaciones domésticas de los insectos vectores (Cura y Segura, 1998). Las especies de mayor significancia epidemiológica son las que colonizan fácilmente las viviendas de los humanos, viven en grietas y hendiduras de las casas rurales y salen por la noche para alimentarse de sus ocupantes dormidos. Sin embargo, muchas de las especies principalmente silvestres, invaden las casas (atraídos por la luz) contribuyendo así a la transmisión del *T. cruzi* (Schoefield, 1994).

Los triatominos son grandes insectos hematófagos. Los adultos típicos miden desde 1.0 cm de longitud hasta 6.5 cm, ellos succionan cantidades de sangre variables para su alimentación. Menos de 0.5 ml para las ninfas en los primeros estadios hasta 6.0 ml para los adultos.



Poseen cuerpo segmentado en cabeza, tórax y abdomen. Tienen sexos separados, tubo digestivo completo y un aparato excretor, ambos terminados en una cavidad común compuestos de tubos de Malphigio, estos forman una orina rica en hialuronidasa que suele contener un gran número de tripomastigotes y que según algunos autores puede ser más infectante que el excremento (Velasco-Castrejón y col., 1991). La importancia principal de los triatominos reside en su gran capacidad de transmitir el parasito protozoario *T. cruzi*, que es el agente causante de la enfermedad de Chagas.

El *T. cruzi* es un hemoprotozoario flagelado que presenta cuatro fases en su ciclo biológico: amastigote, epimastigote, tripomastigote y esferomastigote. Dos huéspedes pueden ser sus vectores: un insecto reduvido hematófago, conocido en México como "**chinche hocicona**" que alberga en su intestino la fase flagelada metacíclica y un vertebrado que incluye al hombre, donde el parásito es intracelular en su fase de amastigote (sin flagelo). Además del hombre también muchos de los animales domésticos y silvestres actúan como reservorio (Velasco-Castrejón y Cols, 1998).

La transmisión por vectores representa más del 80% de la transmisión total de *T. cruzi* (Hayes y Schoefield, 1990). Siguiendo en importancia está la transfusión sanguínea, así como otras formas menos comunes. El potencial de transmisión está en relación directa con otros factores como la capacidad de defecación temprana del insecto, es decir, si defeca mientras se alimenta, o si defeca después, característica que los convierte en malos transmisores. (Guzmán-Bracho y col., 1998a)

En la actualidad se ha confirmado que la presencia de triatominos está estrechamente relacionada con las condiciones de pobreza que afectan a gran parte de la población tipo rural en América latina. Estas viviendas son en su mayoría de adobe, caña y su techo son de hoja de palmera o bien de paja. Estas condiciones de vivienda son ideales para la colonización del vector, este a su vez encuentra numerosos refugios como los recovecos de la construcción, así también en muebles, y diversos objetos. También se encuentran en zonas peridomiciliarias como gallineros o corrales lo que mantiene la endemividad Chagásica.

*T. cruzi* y sus vectores están distribuidos por todo el continente Americano y algunas Islas del Caribe. También se ha señalado la presencia de triatominos en partes de África, Asia, y Australia, que aunque carecen de importancia epidemiológica y no se ha registrado la presencia del agente causativo de la enfermedad de Chagas en el viejo mundo.

La enfermedad de Chagas se encuentra con más frecuencia en las regiones descubiertas del tipo sabana, de Centroamérica y de Sudamérica, tales como Venezuela, Colombia, Chile, Brasil, Argentina, Bolivia y Paraguay. Sin embargo, en el año 1991 y mediante la iniciativa del Cono sur, estos países hacen un compromiso para eliminar el vector de la enfermedad de Chagas y así lograr abatir la enfermedad en un 70% (Herrera y col., 1971).

En el año 1973 países como Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela se reúnen con el mismo propósito el de la iniciativa Andina con el tamizaje en bancos de sangre y posteriormente en 1997 con una segunda fase enfocada al control de los vectores.

En el año de 1997, Uruguay es certificado como un país libre de la transmisión de la enfermedad de Chagas por transfusión vía sanguínea y libre de vectores. Así mismo países como Belice, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá y México están dentro de la iniciativa de América Central en 1993 para eliminar la enfermedad de Chagas, cuya primera fase se enfoca al control de la enfermedad, en los bancos de sangre, mediante el tamizaje de las muestras de donadores. La segunda fase que se enfoca específicamente en el control del vector, esto da comienzo en 1997, y de manera muy importante se hace un compromiso para que en el año 2010 se tenga controlada la enfermedad en estos países (Herrera y col., 1971).

En México, el conocimiento de los triatominos es muy antiguo, en 1528 Antonio Herrera, al reseñar la expedición de Francisco de Garay a Panuco, Veracruz, describe que el ejército expedicionario fue víctima de molestos mosquitos y pitos que pican y dejan señal como chinches y suelen causar calenturas (Lent y Wygodzinky, 1979).

Fray Bernardino de Sahagún en su obra indica la existencia de los triatominos y los describe como "cucarachillas pardillas" con dos alas, son ponzoñosas y en donde pican causan comezón e hinchazón (Mazzoti, 1940).

En 1591 Juan Cárdenas habla del Reino de Nueva Galicia, el cuál comprendía los Estados actuales de Aguascalientes, Jalisco, Zacatecas, Durango, San Luis Potosí y Nayarit, y menciona: "las chinches que llaman Compostela, más enojosas y malas que las arañas" (Herrera y col., 1971).

En México, los dos primeros casos de la enfermedad de Chagas fueron descubiertos por Mazzoti en 1940, los cuales procedían del estado de Oaxaca. En México, particularmente las áreas rurales son áreas endémicas, ya que se han reportado el trasmisor, reservorios y casos humanos de enfermedad

La morbilidad asociada con la enfermedad de Chagas muestra grandes diferencias geográficas, determinadas por diversos factores socioeconómicos que facilitan la infección humana y por la existencia de transmisores eficaces.

La mortalidad debido a esta parasitosis varía con diversos factores, entre ellos el periodo clínico, la edad y el estado general inmunitario del enfermo, así como la virulencia de la variante geográfica involucrada del complejo *T. cruzi* (Schoefield, 1994).

En la República Mexicana se distribuyen un mínimo de 32 especies de triatomos pertenecientes a géneros distribuidos en todos los estados. Las especies mexicanas de mayor importancia son: *R. prolixus*, *Triatoma dimidiata*, *Triatoma barberi*, *Triatoma longipennis*, *Triatoma phyllosoma*, *Triatoma picturata*. Algunos autores refieren que México es el país latinoamericano que tiene mayor población de triatomos (Lent y Wygodzinsky, 1979).

En México se estima una incidencia anual de 44,000 nuevos casos con una prevalencia actual de 1,610,000 personas infectadas (OPS 1996) (Ramsey Willoquet, 1992). La magnitud de la infección en el territorio nacional es discutible, ya que los cuadros clínicos no son característicos, confundándose con enfermedades comunes. Para el año 1990 el instituto

Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos tenía registrados 300 casos agudos comprobados y nuevos estados iniciaban su aportación en este tipo de casos como Aguascalientes, Colima, Campeche, Durango, Guanajuato, Querétaro, Quintana Roo, San Luís Potosí y Sinaloa. En otros estados, la casuística se ha incrementado y amenaza con continuar ascendiendo como en Jalisco, Veracruz, Oaxaca, Zacatecas, Nayarit y Chiapas (Tay y col., 1992).

Por otro lado, los resultados obtenidos de la encuesta Serológica Nacional en 1990, sugieren que aunque aparentemente de poca intensidad, la infección Chagásica se distribuye en todo el país, particularmente en los estados de Chiapas, Oaxaca, Hidalgo y Veracruz. A través de esta encuesta se descubrieron varios focos endémicos, entre ellos tres localizados en nuestro estado, uno en los llanos de Apan y otro en la región del Mezquital y, otro más situado en la región de la Huasteca (Mazzoti L, 1940). En 1987 ya se tenía conocimiento en nuestro estado de por lo menos un caso de TrA con antecedentes epidemiológicos y miocarditis confirmada clínicamente o en autopsia (Tay y col., 1980).

En nuestro estado se sabe de la presencia de triatominos (*Triatoma barberi* y *Triatoma mexicana*), desde hace algunos años (Tay y col., 1980; Lauren y col., 1985; Salazar-Scheetino, 1998), así como de *Triatoma dimidiata* y *Triatoma gerstaecken* (Laboratorio Estatal de Salud pública de Hidalgo, Reporte 1998 y 1999).

El Laboratorio Estatal de Salud Pública de Hidalgo (LESPH) junto con el Departamento de Desarrollo en Estrategias de Salud Pública en estado reportan que para el año 1998 se recolectaron diferentes especies de triatominos, algunos de los cuales, al ser analizados fueron positivos para *T. cruzi*. En 1999 se siguieron haciendo estudios entomológicos de los

vectores encontrados (Laboratorio Estatal de Salud pública de Hidalgo, Reporte 1998 y 1999).

En cuanto a los casos agudos de la enfermedad de Chagas en 1997, se reportaron tres casos agudos confirmados por frotis y por gota gruesa. Para el año de 1998 solo se reportó un caso agudo al igual que para el año 1999.

En cuanto a la serología, el LESPHE y el Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea (CETS) realizaron pruebas de hemaglutinación indirecta a diferentes pruebas, las cuales son confirmadas en el INDRE. En 1996, de 43 sueros estudiados por serología en el LESPHE, dos de ellos resultaron positivos (28.5%) y para 1997, de 43 sueros estudiados se obtuvieron 8 muestras positivas (18.6%). En 1998 se realizaron 35 serologías encontrándose 19 positivas (22.35%) y en 1999 se realizaron 35 serologías de las cuales 11 fueron positivas (39%) (LESPHE, Reporte 1998 y 1999).

En 1994 una encuesta centinela realizada en 18 bancos de sangre de la Secretaría de Salud mostró que con base en la seropositividad el riesgo por una transfusión sanguínea en nuestro estado oscilaba entre 0.2 y 2.8 %, teniendo prevalencias mucho más altas que en otros estados de la República Mexicana.

Desde 1995 el CETS comienza a implementar el tamizaje en los hemodonadores. En 1996 se tamizan 10,157 sueros, resultando 245 sueros positivos y 82 confirmados (0.8%). En 1997 de 10,527 sueros tamizados 302 son positivos 31 se confirman (0.29%). Para 1998 se tamizan 12,122 sueros dando 303 positivos y confirmándose 34 (0.28%) y en 1999 se analizan 8,474 sueros, siendo positivos 89 y confirmándose 17

(0.20%). Estos datos nos motivan a estudiar a fondo la situación del estado de Hidalgo, en relación a la presencia de vectores transmisores de la enfermedad de Chagas (Guzmán y García, 1998).

## II. MARCO TEÓRICO

El protozoario *T. cruzi* es un agente etiológico de la enfermedad de **Chagas** o **Trypanosomiasis** Americana. 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 región denominada cinétoplasto. Es un parásito intracelular con un ciclo de vida que involucra vertebrados e invertebrados (Zingales, y col., 1998). El *T. cruzi* mide aproximadamente 20 milésimos de milímetro junto con su flagelo y su membrana ondulante, estructuras que, agitándose y vibrando permite su movilización dentro de la masa de la sangre. El *T. cruzi* se reproduce asexualmente por fisión binaria.

Como el resto de los tripanosomas, el *T. cruzi* pasa una etapa de su vida en la sangre y/o en los tejidos del huésped vertebrado, y otra parte vive en el tracto digestivo de los vectores invertebrados.

El *T. cruzi* pertenece a la subespecie **A. stercoria**, debido a que el parásito desarrolla su fase infecciosa en el tracto digestivo del insecto.



## 2.1 Morfología:

El *T. cruzi* se presenta tres formas distintas: *amastigotes*, *epimastigote* y *tripomastigotes*, como se observa en la Figura 2.

- **Amastigotes:** esférico u ovalado, es la forma reproductiva en el interior de las células mamíferas (principalmente en células musculares y nerviosas).
- **Epimastigote:** alargado y con el cinétoplasto localizado anteriormente al núcleo, es la forma reproductiva en el tracto digestivo de los invertebrados y en medios de cultivo.
- **Tripomastigotes:** también alargado pero con el cinétoplasto localizado posteriormente al núcleo. Se encuentra en la sangre de los mamíferos y es la forma infectante de ellos. Esta forma no se divide (Craig y Faust, 1975).

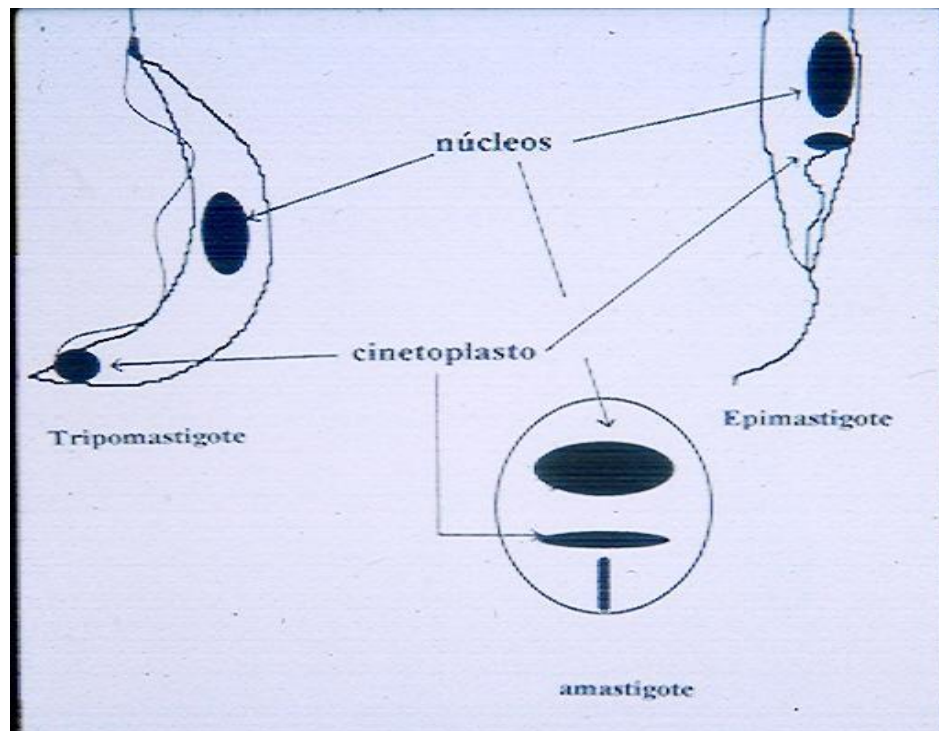


Figura 2. *T. cruzi*, protozoario flagelado responsable de la enfermedad de Chagas o mal de Chagas-Mazza.

La infección en el humano puede ser adquirida por diversos mecanismos; el más importante sanitariamente es por la picadura de los triatominos infectados. En las figuras 3 y 4 se representan algunas especies de triatomas. Otros mecanismos son: la transmisión por transfusión de sangre o de los componentes sanguíneos, la transmisión por trasplantes de órganos; la transmisión de la madre al producto por vía trasplacentaria, neonatal e ingesta de leche materna (Chagas connatal).

Son menos frecuentes los accidentes de laboratorio, la ingestión de los triatominos infectados, de carne cruda o insuficientemente cocida y de alimentos o bebidas contaminadas con materia fecal o con orina, entre otros mecanismos particularmente raros (Cervallos y Hernández, 1998).



Figura 3. Diferentes especies de triatomas



Figura 4. *Triatoma mexicana*

## 2.2 Ciclo biológico del *T. cruzi*:

*T. cruzi* es un protozoario hemoflagelado cuyo ciclo de vida involucra la transmisión por insectos hematófagos de la familia Reduviidae de los que en México existen 7 géneros, con aproximadamente 30 especies distribuidas a lo largo del territorio nacional; estos transmisores, llevan las formas infectantes (tripomastigotes metacíclicos) de *T. cruzi* en su materia fecal, la cual es depositada en la piel durante o después de la alimentación. En la Figura 5, se representa el ciclo biológico del *T. cruzi*.

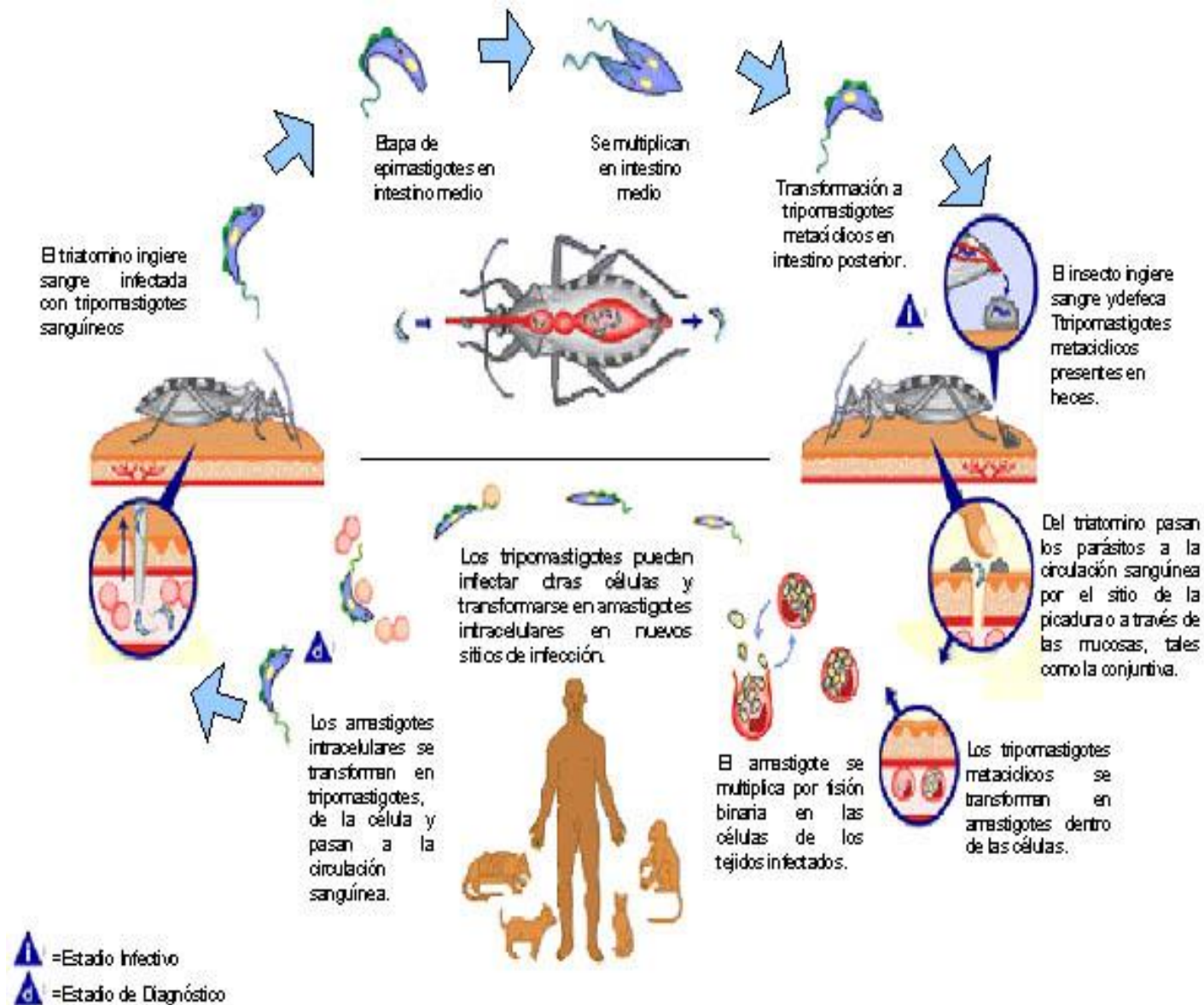


Figura 5. Ciclo biológico del *T. cruzi* (Facultad de Medicina UNAM)

### **2.3 Mecanismos patogénicos:**

El parásito al penetrar al hospedero por lesiones en piel o mucosa, puede invadir gran variedad de células, donde se transforma para dar lugar al amastigotes, el cuál es la forma replicativa intracelularmente. Eventualmente, estas formas intracelulares dan lugar a las formas de tripomastigotes que se encuentra frecuentemente en sangre, por medio de la cual se disemina a otras células y tejidos. Durante esta fase sanguínea puede ser ingerido por el transmisor (OMS, 2002). Dentro del vector, estas formas se transforman en epimastigote, forma móvil y replicativa en el intestino medio del transmisor; esta forma es la que se reproduce más fácilmente en cultivos convencionales para *T. cruzi*. Este parásito presenta diferencias antigénicas entre sus fases así como también antígenos compartidos y ninguna los presenta inmunodominantes; a diferencia de otros tripanosomátidos no se le han comprobado mecanismos de variación antigénica (Búa y col., 1990).

### **2.4 Cuadro clínico:**

La sintomatología de la infección por *T. cruzi* es tan variada como las lesiones que produce el agente etiológico, los síntomas aparecen posteriores a un periodo de incubación de 4 a 12 días. La historia natural de la enfermedad se caracteriza por presentar tres fases:

**Fase aguda:** De los individuos infectados cursando la fase aguda, aproximadamente el 70% cursan asintomáticos. En esta fase los síntomas y/o signos aparecen alrededor de 10 días después del inicio de la infección. Se caracteriza por manifestaciones muco-cutáneas ocasionadas por la entrada del parásito y la presencia del parásito en sangre periférica. En

esta fase de la enfermedad se presentan signos y síntomas relacionados con la puerta de entrada del parásito al organismo y manifestaciones sistémicas; las cuales incluyen el signo de Romaña (1935), que es un edema bpalpebral unilateral, poco doloroso y de un aspecto violáceo, acompañado frecuentemente de adenopatías o bien el chagoma de inoculación en otras partes del cuerpo que consiste en una zona indurada de eritema e hinchazón con inflamación de los ganglios locales. Las manifestaciones sistémicas descritas incluyen: fiebre vespertina, hiporexia, cefalea mialgias, adenitis, linfangitis, hepato-esplenomegalia y artralgias. Esta fase es mortal aproximadamente en el 1% de los pacientes por miocarditis aguda o meningoencefalitis, generalmente presentándose en niños que se infectan en el primer año de vida o en ancianos, siendo raros y muy severos. En general, los síntomas persisten por 4 a 8 semanas y luego desaparecen (Souto, R.P., Fernández, O., Macedo, 1990).

**Fase indeterminada:** Dura entre 10 y 20 años, se caracteriza por la ausencia de manifestaciones clínicas y raramente se observan parásitos en sangre. La multiplicación del parásito es lenta y el diagnóstico se realiza principalmente mediante pruebas serológicas (Craig y Faust, 1975).

**Fase crónica:** Después de la fase indeterminada alrededor del 30% de los infectados pasan a esta fase. El 27% de los infectados desarrollan miocardiopatía después de 10 a 20 años de la primo infección y puede llevarlos a la muerte; el 6% presentan megas digestivos, principalmente en esófago y colon y en menor proporción (3%) en el sistema nervioso periférico (Craig y Faust, 1975).

El diagnóstico depende de la etapa de la enfermedad debido a la presencia de formas parasitarias y de anticuerpos anti-*T.cruzi*, por esta razón los métodos utilizados son parasitológicos e inmunológicos (Cervallos y Hernández, 1998).

Los métodos parasitológicos sirven para demostrar la presencia del parásito en sangre y son de elección en la fase aguda de la enfermedad, donde la parasitemia es elevada y constante. La observación microscópica de tripomastigotes en sangre puede realizarse por examen directo, gota gruesa o frote. Pueden emplearse métodos de concentración como lo es el Strout. Otros métodos de expansión son el xenodiagnóstico, hemocultivo, la inoculación de animales de laboratorio y estudios histopatológicos.

Los métodos inmunológicos son útiles para demostrar la presencia de anticuerpos específicos generados por la infección, estos métodos son de elección principalmente en fase crónica e indeterminada. Existen múltiples métodos serológicos útiles para realizar el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* en el humano, siendo los más empleados y recomendados por la OPS/OMS las técnicas de Hemaglutinación indirecta (HAI), Inmunoensayo enzimático (ELISA) e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) (OMS, 2002).

En la mayoría de los textos de parasitología no se menciona como posible ningún tratamiento, indicándose solamente ciertos paliativos para disminuir el malestar general que provoca la enfermedad durante la fase aguda, tratamientos quirúrgicos para las mega vísceras, y una terapia de sostenimiento o trasplantes de corazón para casos de miocardiopatías.

## 2.5 Tratamiento

Existen dos fármacos con acción tripanomicida, que fueron descubiertos en 1972 y 1978, respectivamente, el nifurtimox (Bayer) y el benznidazol (Roche), cuyas estructuras se observan en las figuras 6 y 7, respectivamente, los cuales disminuyen la duración y gravedad de la enfermedad aguda. Sin embargo, su eficacia en la erradicación los parásitos es moderada por la forma intracelular del parásito. Los pacientes en tratamiento deben ser vigilados estrechamente ya que la frecuencia de efectos colaterales es muy alta.

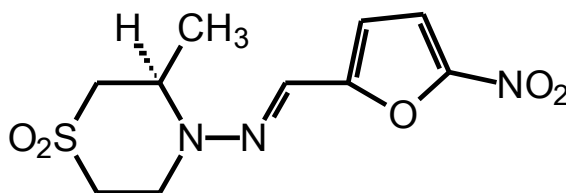


Figura 6. Nifurtimox

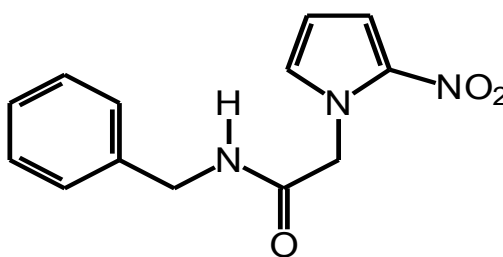


Figura 7. Benznidazol



No existe tratamiento satisfactorio para la enfermedad crónica. Históricamente, no se recomienda el uso de antiparasitarios en esta etapa debido a que el dogma prevaleciente era que el daño en esta fase era de tipo autoinmune, y a la poca eficacia de los medicamentos disponibles. La cardiopatía y la patología gastrointestinal son tratadas únicamente de manera sintomática (OMS, 2002).

## **2.6 Factores epidemiológicos**

La enfermedad de Chagas está confinada en el hemisferio occidental, y se encuentra ampliamente distribuida en las zonas rurales y periurbanas de las ciudades tropicales y subtropicales. 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. De acuerdo con la OMS, la enfermedad de Chagas 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). La enfermedad, geográficamente está confinada en América y se extiende desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Chile y Argentina.

En México se ha dicho que la enfermedad de Chagas no tiene importancia. Existe toda una gama de suposiciones al respecto: desde las que la consideran un padecimiento exótico y le niegan cualquier importancia, hasta las que la asumen como un importante problema de la salud pública mexicana (Salazar y col., 1978), (Maleiro, 1991). Sin embargo, esto no concuerda con los repetidos reportes que señalan la existencia del agente etiológico, reservorios naturales y del transmisor.

Las condiciones sociales tienen mucha importancia en la enfermedad de Chagas, la cual afecta principalmente a las clases más pobres de las regiones endémicas. La edad es importante en la epidemiología, ya que la infección la adquieren frecuentemente los niños comprendidos entre los primeros meses de nacidos y los 2 años de edad (Cervillos y Hernández, 1992).

## **2.7 Mecanismos de transmisión**

El *T. cruzi* puede ser transmitido al hombre por diferentes vías:

**Por transfusiones de sangre.** La transmisión del *T. cruzi* por transfusión sanguínea ha pasado a constituir, después de la vectorial, la segunda causa de infección Chagásica en diversas regiones de América, no obstante es el más prevenible a través del control de bancos de sangre y de los donantes. Este tipo de transmisión presenta una compleja sintomatología y su manejo suele ser difícil, más que nada porque no se piensa en ella. Entre un 10 y 20% de los que se infectan no presentan sintomatología. Entre los sintomáticos, la gravedad del cuadro depende de su respuesta inmune.

**Por trasplantes de órganos.** Desde donantes infectados.

**Transmisión congénita.** A través de la placenta de la madre infectada. A veces el parásito atraviesa la placenta desde la madre infectada al feto. La mayoría de los recién nacidos infectados de esta manera no presentan síntomas evidentes, no obstante si se identifica en ellos la enfermedad, los tratamientos actuales son altamente efectivos con elevados porcentajes de curación. Por esta razón es importante el estudio diagnóstico de la enfermedad durante el embarazo mediante pruebas de laboratorio y la

detección de las infectadas para diagnosticar la infección en sus hijos en el momento del nacimiento y proceder al tratamiento temprano con elevados índices de curación (Cervallos y Hernández, 1992).

**Transmisión vectorial** (a través del insecto vector). Esta vía de transmisión representa más del 80% de todos los casos de enfermedad de Chagas. Como ya se comentó los triatominos ingieren parásitos cuando chupan sangre de un organismo infectado. Cuando este pica a una persona sana, al llenarse, de sangre, defeca, y junto a las heces elimina a los parásitos. Si la persona se rasca se presentan excoriaciones por las que entran los tripanosomas generando la infección. Es decir, que la transmisión no es por la picadura sino por las heces que el insecto elimina mientras se alimenta. Finalmente, hay que considerar que los triatominos muertos son capaces de mantener los parásitos vivos durante días (Crocco, 1994).

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).

Aunque se sabe que los triatóminos están presentes en la mayor parte de México, hay regiones dentro de cada estado del país donde aún no existen estudios con información lo suficientemente completa para conocer índices entomológicos de estos insectos y el riesgo de transmisión de *T. cruzi*. Entre ellos se encuentra el estado de Hidalgo, el cual ha sido poco estudiado, este estado consta de 84 municipios (INEGI, 2001), y se

sabe que existen cuatro especies de triatóminos: *Triatoma barberi* (Usinger), *T. dimidiata* (Latreille), *T. mexicana* (Herrich-Schaeffer) y *T. gerstaeckeri* (Stal), (Barrera y col., 2001). Además, en Hidalgo está presente la transmisión al humano desde que se realizó la ENSE y se reportó el 1.5% de individuos seropositivos a *T. cruzi* (Velasco *et al* 1992). Estos dos hechos hacen necesaria la creación de un programa de vigilancia epidemiológica y control de la transmisión en el estado de Hidalgo. Sin embargo, esta medida no se puede ejecutar si no se cuenta con datos precisos que permitan conocer tanto las zonas infestadas por los triatóminos como el riesgo de transmisión de *T. cruzi* que existe en los distintos municipios del Estado (Becerril y Ángeles, 2010).

### **III. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA**

Conforme a la encuesta seroepidemiológica realizada en el año 1990, en donde el Estado de Hidalgo se encuentra entre los 4 estados con mayor seropositividad Chagásica y teniendo en cuenta que en dicha encuesta centinela efectuada en los bancos de sangre en 1994, la seroprevalencia observada en nuestro estado es mayor que en los demás estados, y debido a que en nuestro estado se conoce la existencia del vector, se desea ampliar esta información y buscar intencionadamente estos vectores mediante un estudio que abarque todo el estado y nos pueda dar así un panorama de forma general en toda la entidad de la existencia de triatomíneos. Por lo que se pretende determinar lo siguiente:

- ¿Cuál es la frecuencia de triatomíneos en los diferentes municipios del Estado de Hidalgo?
  
- ¿Cuáles son los principales factores de riesgo asociados a estos?
  
- Identificar las especies de triatomíneos transmisores de *T. cruzi* en el Estado de Hidalgo.

#### **IV. JUSTIFICACIÓN**

Este protocolo se justifica en virtud de que en el control de las enfermedades transmitidas por vector en el Estado de Hidalgo, se tiene bien documentada la existencia de *Triatoma barberi*, *Triatoma mexicana*, *Triatoma dimidiata* y *Triatoma gerstaeckeri*, como transmisores de la enfermedad de Chagas. A partir de 1997, el LESP y el departamento de Desarrollo de Estrategias de Salud de la Subdirección de Salud Pública en el Estado de Hidalgo, dan a conocer que existen localidades donde se ha reportado la presencia de triatominos infectados con *T. cruzi*, otras donde no se tienen datos registrados de la presencia de estos, donde la seropositividad en los habitantes es cada vez más frecuente. Debido a lo anterior, es muy importante, para determinar la presencia de vectores infectados en nuestro territorio, la realización de este estudio, así como aplicar medidas específicas para la vigilancia epidemiológica, como el uso de insecticidas de gran efecto residual y bajo impacto ambiental en casas infestadas por los triatominos, el mejoramiento de la vivienda rural y, seguir valorando el riesgo para la enfermedad por transfusión.

## **V. HIPÓTESIS**

En el Estado de Hidalgo existen diferentes especies de triatominos. Si existen altas prevalencias serológicas de anticuerpos anti *T. cruzi* o enfermedad de Chagas en la entidad, entonces esto sugiere la existencia de triatominos infectados.

## **VI. OBJETIVOS**

### **6.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el riesgo de adquirir la enfermedad de Chagas en habitantes que representan cada una de las 13 jurisdicciones sanitarias del Estado de Hidalgo, mediante la presencia de triatominos infectados con *T. cruzi* y la capacidad de este último para ocasionar parasitemias en ratones.

### **6.2 OBJETIVOS PARTICULARES**

- a) Identificar los diferentes tipos de triatominos que prevalecen en el Estado de Hidalgo.
- b) Determinar la presencia de triatominos infectados con *T. cruzi* mediante observación de examen directo de sus heces y la metaciclogenia que presenta.
- c) Determinar la cinética de parasitemias de cada una de las cepas de *Tripanosoma* aisladas.
- d) Evaluar el riesgo para adquirir la enfermedad de Chagas por la presencia de triatominos infectados con *T. cruzi* y la parasitemias en ratones que este produce.



## VII. MATERIAL Y MÉTODOS

### 7.1 Tipo de estudio:

**Diseño:** Se llevó a cabo un estudio epidemiológico de tipo transversal, observacional y comparativo.

**Ubicación Espacio Temporal:** El estudio se llevó a cabo en las 13 Jurisdicciones Sanitarias del Estado de Hidalgo, de donde se seleccionaron por muestreo aleatorio simple 36 localidades.

### 7.2 Definición de la población de estudio:

**1.- Criterios de Inclusión:** Se incluyeron todas las viviendas habitadas de las localidades seleccionadas a través de muestreo aleatorio simple, utilizando reemplazo en las que se encontraban desocupadas.

**2.- Criterios de Exclusión:** Aquellas viviendas donde sus moradas no accedieron a participar en el estudio.

**3.- Criterios de Eliminación:** Aquellas viviendas de donde la información del cuestionario está incompleta.

### 7.3 Determinación del tamaño muestral:

**Tamaño de la Muestra:** La determinación de tamaño muestral se realizó con base en la prevalencia reportada de triatominos que fue del 5.3%. Se utilizó la formula poblacional de diferencia de proporciones.

$$n = \frac{Nz^2 \frac{1 - \infty}{p} (1 - P)}{(N - 1) d^2 + Z^2 \frac{1 - \infty}{2P} (1 - P)}$$

Donde:

N = Tamaño de la población.

n = Mínimo tamaño muestral requerido.

P = proporción esperada de la población.

Z  $\infty$  = Cuartil de la distribución normal.

d = Precisión absoluta requerida para ambos lados de la proporción.

Inicialmente se estratificó la entidad en 4 subgrupos, según el tamaño de las localidades con respecto a la población (Tabla 1). Se determinó incrementar con una tasa de no respuesta (TNR) del 5%, la cual se incluyó en el tamaño muestral.

Tabla 1. Tamaño muestral.

<b>ESTRATO</b>		<b>LOCALIDADES</b>		
	<b>NÚMERO</b>	<b>POBLACIÓN</b>	<b>%</b>	<b>LOCALIDADES</b>
< 500	3203	455.285	19.3	18
501 - 2499	721	713.096	30.3	12
2500 - 14,999	96	488.666	20.8	5
+ 15000	16	697.496	29.6	1
<b>TOTALES</b>	<b>4036</b>	<b>2,354.543</b>	<b>100</b>	<b>36</b>

Con base en la fórmula, se determinó el siguiente tamaño muestral por área de estrato y localidad (Tabla 2). La determinación muestral se efectuó con el paquete estadístico EPIDAT versión 1.0 de OPS/OMS teniendo una precisión absoluta de 5 y relativa de 8 con un nivel de confianza del 95%. Siendo el tamaño muestral total de 1826 según se muestra en el siguiente cuadro:

Tabla 2. Distribución de tamaño muestral según tipo 1, tipo 2 y Jurisdicción

JURISDICCIÓN	ESTRATO	POBLACIÓN	TOTAL VIVIENDA	TAMAÑO MUESTRAL
<b>PACHUCA</b>	1	117	25	25
	1	106	24	24
	1	284	60	60
	1	235	59	56
SUBTOTAL				<b>165</b>
<b>TULANCINGO</b>	1	280	53	26
	2	1078	171	20
	2	571	82	20
	3	3520	652	28
	4	18340	3096	40
SUBTOTAL				<b>134</b>
<b>TULA</b>	1	158	124	27
	3	2803	546	107
SUBTOTAL				<b>134</b>
<b>HUICHAPAN</b>	1	74	15	15
	1	61	20	20
	1	283	60	26
	2	591	121	73
SUBTOTAL				<b>135</b>
<b>ZIMAPAN</b>	1	219	50	26
	1	476	77	26
	2	519	109	58
	2	525	91	44
SUBTOTAL				<b>154</b>
<b>IXMIQUILPAN</b>	1	377	39	26
	2	627	111	108
SUBTOTAL				<b>134</b>
<b>ACTOPAN</b>	1	345	29	29
	2	559	95	95

SUBTOTAL				<b>124</b>
<b>MEZTITLAN</b>	1	700	159	134
SUBTOTAL				<b>134</b>
<b>MOLANGO</b>	3	3555		67
	3	2557		67
SUBTOTAL				<b>134</b>
<b>HUEJUTLA</b>	1	234	53	26
	1	192	25	26
	2	983	183	62
	2	562	62	41
SUBTOTAL				<b>155</b>
<b>APAN</b>	2	1055	189	60
	2	1463	206	54
	2	802	144	58
SUBTOTAL				<b>172</b>
<b>TIZAYUCA</b>	3	3713	655	134
SUBTOTAL				<b>134</b>
<b>TEPEHUA</b>	1	201	41	41
	1	403	77	77
SUBTOTAL				<b>118</b>
TOTAL				<b>1826</b>

### **Técnica de Muestreo:**

Unidad final de muestreo: La vivienda.

### **Muestreo polietápico:**

Se obtendrá el mapa de cada una de las localidades seleccionadas de manera aleatoria. Las viviendas seleccionadas se elegirán de acuerdo al muestreo aleatorio simple con reemplazo, se utilizara el croquis de las localidades como marco de muestreo. Se muestrearan tantas viviendas como la asignación proporcional que la muestra para cada comunidad, y solo una por semana a través de la técnica de espiral. Para determinar la vivienda a estudiar se seleccionará la décima vivienda de cada manzana.

### **7.4 Fuente de recolección de información:**

Se diseñó un cuestionario para la obtención de información referente a los datos sociodemográficos y de la vivienda, y un formato para registrar los datos de los vectores. Para el llenado del cuestionario, la información se obtuvo mediante la entrevista a sujetos adultos. Si en el domicilio no se encontró a un individuo capaz de brindar la información, se regresó hasta en 2 ocasiones en horarios diferentes. Cuando no se encontraron en 2 ocasiones, quedaron eliminados del estudio, y se sustituyeron con los individuos de la vivienda contigua a la derecha, que cumplieron con los criterios de selección.

## **7.5 Técnicas de recolección de información:**

La información requerida acerca de las variables mencionadas se obtuvo a partir de una entrevista directa mediante la aplicación de un cuestionario *ad-doc*, así como de la búsqueda intencionada de los triatominos en el área doméstica, la observación de las características físicas de la vivienda y la búsqueda de rastros de las deyecciones de los triatominos, la cual integra información sociodemográfica, entomológica y de hábitos higiénicos. Como se mencionó anteriormente, se realizó una búsqueda intencionada de triatomas dentro y fuera de la vivienda, a partir de lo cual se obtuvieron los índices entomológicos.

## **7.6 Búsqueda y captura de triatominos:**

**Evidencias directas.** Para inducir la salida de los insectos, se roció ligeramente la pared con una mezcla de insecticidas con piretroides diluido en agua al 5% (se utilizaron soluciones comerciales como Baygón), lo que provoca irritación y salida de los triatominos. Después de transcurridos 25 min, se examinó la vivienda durante 15 a 30 min, usando lámparas sordas para observar dentro de las grietas o fisuras y a través de objetos que cuelguen de la pared. Únicamente se recolectaron triatominos que salieron durante los 30 min exactos de observación (el tiempo exacto es importante para poder determinar algunos parámetros, como la densidad de población). Se recomienda buscar muy minuciosamente en los pisos de tierra, se introducen en las grietas las pinzas para sacar las chinches vivas en todos sus estadios, (incluyendo huevo).

Todos los ejemplares vivos se contaron y guardaron en frascos con ventilación adecuada y etiquetados con la clave proporcionada por el personal.

Se reportó al encuestador la siguiente información: número de ejemplares capturados, estadio en el que se encuentran, condiciones del ejemplar (vivo, muerto, restos, etc.), y sitios de la vivienda en que fueron capturados cada uno. Toda esta información deberá ser consignada en la cédula correspondiente.

**Evidencias indirectas.** Se buscaron intencionadamente cascarones de huevos, exuvias y huellas fecales como pruebas indirectas de la presencia de triatominos. Las huellas de materia fecal, generalmente presentan una mezcla de color negro o pardo muy oscuro con rayas blanquecinas, tienen apariencia de gotas y se buscaron sobre las paredes, detrás de calendarios, fotografías, ropa colgada u otros objetos. Se recomienda además buscarlas en sitios cercanos a camas o catres, en el peri domicilio o en los sitios donde duermen los animales.

Una vez obtenidas las muestras, se procedió a su análisis en el laboratorio, se clasificaron entomológicamente, determinando su género, especie y estadio, utilizando las claves descritas.

El estudio parasitoscópico en heces permitió determinar la infectividad de los triatominos. Se obtuvieron las deyecciones de los triatominos vivos por medio de compresión abdominal con pinzas y por medio del examen en fresco, el cual se observó usando un microscopio través de lente 40x. Los triatominos que resultaron positivos se volvieron a examinar para determinar su índice metaciclogénico, comprimiendo nuevamente su abdomen y haciendo un extendido, el cual se fijó con

etanol y se hizo la tinción de Giemsa. El frote se observó en objetivo de inmersión mediante el conteo de 100 formas del parásito, de esta manera se obtuvo el porcentaje de tripomastigotes metacíclicos, determinando así el índice metaciclogénico. Este índice es uno de los parámetros para considerar la efectividad de un triatomino en la transmisión de un parasito.

Todos los ejemplares recolectados se recibieron en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, en donde se clasificaron entomológicamente y se realizó su estudio parasitoscopico mediante examen en fresco de las heces del triatoma. A todas las muestras que resultaron positivas se les realizó un frotis, que se tiñó con colorante de Giemsa para su estudio metaciclogénico. A una de cada 10 muestras negativas se le hizo un frotis, que se revisó para determinar el número de tripomastigotes.

## **7.7 Estandarización del crecimiento de *T. cruzi* en medio de cultivo.**

### **a) Establecimiento de diferentes medios de cultivo para el óptimo crecimiento de *T. cruzi*.**

El *T. cruzi* es un parásito de accesible manejo crece en la mayoría de los medios de cultivo utilizados para este propósito, entre los que se han reportado los medios LIT (Infusión de Triptosa-Hígado) y el N.N.N. (Novy, Nicolle, y McNeal) se encuentran entre los mejores para un crecimiento rápido y óptimo.

### **b) Preparación de medio de cultivo N.N.N.**

Se suspenden 900 g de agua destilada fría, 14 g de Agar Nutritivo y 6 gr de Sodio. Se disuelve perfectamente el agar y la solución llevándola a ebullición. Se esteriliza a 120° C durante 20 min, se toma una muestra de sangre de borrego, conejo o humana, se deja enfriar el agar a 50°C y se



añaden de 50 a 100 mL de sangre agitando para homogenizar. Se reparte en tubos estériles. Se inclinan los tubos para solidificar. Se agrega solución de Ringer aproximadamente una y media veces la cantidad de fase sólida. Se incuba a 37°C a 24 hrs para prueba de esterilidad.

### **c) Preparación de medio de cultivo LIT**

Se pesan 4 g de NaCl, 0.4 g de KCl, 8 gr de fosfato disodico anhidro, 2 g de glucosa, 5 g de Triptosa, 5 g de LIB, 25 g de Hemina, 100 mL de FCS y 100 mL unidades de Antibióticos y 100 µg por litro de estreptomicina.

Después de pesadas las sustancias se colocan en un matraz Erlenmeyer, enseguida se agregan 895 mL de agua destilada y se agita hasta disolución, esta se esteriliza durante 15 min a 15 libras de presión previo ajuste a pH de 7.2 con NaOH y HCL 0.1 M. Se agregan 100 mL de FCS, 5 mL de solución de hemina estéril a 5 mg/mL y los antibióticos (para inactivar el suero se tiene que calentar a 68°C por 60 min

### **Supervivencia del *T. cruzi* en solución de cloruro de amonio al 0.87%**

Para este método se prepara una solución de cloruro de amonio, pesando 0.87 g en 100 ml de agua destilada, se toma una muestra de sangre del ratón huésped y se añade una porción de esta solución, se coloca en la cámara de Neubauer para conteo.

### **Supervivencia del *T. cruzi* en solución fisiológica al 0.9%**

Se pesan 0.9 g de Cloruro de Sodio en 100 mL de agua destilada, esta solución es netamente de supervivencia y de preservación del tripanosoma.

## **Crecimiento del *T. cruzi* a temperatura ambiente y a 28°C**

*T. cruzi* posee un ciclo de vida digenético, ya que alterna su vida entre dos hospedadores multicelulares: uno vertebrado y otro invertebrado; es capaz de sobrevivir a temperaturas que oscilan entre 24-28°C (triatominos y cultivos axénicos) y 36-37°C (Sangre de mamíferos), el pH ideal se encuentra entre 7.2 y 7.3 (sangre de mamíferos).

## **7.8 Estandarización de la infección de *T. cruzi* en ratones**

### **Inoculación intraperitoneal en ratones CD-1**

El experimento se realizó en ratones CD-1 de 6 a 8 semanas de edad, en 5 ratones diferentes. La dosis utilizada fue de  $1 \times 10^5$  tripomastigotes por cada ratón en un volumen de 200  $\mu$ L de inculo, administrados vía intraperitoneal, como se observa en la Figura 8.



Figura 8. Inoculación intraperitoneal en ratones CD-1

## **Detección de tripomastigotes sanguíneos en muestras de sangre de ratones CD-1 infectados.**

A los ratones CD-1 previamente inoculados, se toma una muestra de sangre de cada uno y se coloca sobre un portaobjeto cubriéndolo con un cubreobjetos, posteriormente se observa con el microscopio con lente ocular 10x y 40x para comprobar existencia en cada uno y realizar conteo de acuerdo a los días de inoculación.

### **a) Determinación de parasitemia en campo abierto.**

En caso de infección temprana se colocan 10  $\mu$ L de sangre sobre un portaobjeto se coloca el cubreobjetos y se cuentan los organismos existentes en el área total para calcular el número de parásitos por cada mL de sangre.

### **b) Determinación de parasitemia en cámara de Neubauer:**

Esta determinación se realizó obteniendo unas gotas de sangre del ratón infectado, las gotas se colocan sobre un portaobjeto y se toman 10  $\mu$ L de sangre y 90  $\mu$ L de solución salina de fosfatos PBS. Se toma una alícuota de 10  $\mu$ L y se coloca en la cámara y se realiza el conteo en la zona central de la cuadrícula.

## **7.9 Determinación y estandarización de técnicas para la evaluación de la infectividad y virulencia de *T. cruzi*.**

### **Inoculación intraperitoneal en ratones CD-1**

Se continúa con la inoculación en ratones CD-1 en 5 ratones diferentes para cada ratón aislado de 6 a 8 semanas de edad. La dosis utilizada fue de  $1 \times 10^5$  tripomastigotes por cada ratón en un volumen de 200  $\mu\text{L}$  de inóculo.

#### **a) Conteo de parásitos**

Para este conteo se toma una muestra de sangre de la punta de la cola del ratón, se deposita sobre un portaobjetos y se cubre con un cubreobjetos, se observa al microscopio con lente 10x y 40x, y se realiza el conteo, se anota el número de organismos vistos y se reporta de acuerdo a los días de infección.

#### **b) Determinación de curva de parasitemia en ratones CD-1**

Esta determinación se realiza obteniendo unas gotas de sangre de la punta de la cola del ratón infectado, las gotas se colocan sobre un portaobjeto, se toman 10  $\mu\text{L}$  de sangre y se mezclan con 90  $\mu\text{L}$  de solución salina de fosfatos PBS. Se toma una alícuota de 10  $\mu\text{L}$ , se coloca en la cámara y se realiza el conteo en la zona central de la cuadrícula.

#### **c) Evaluación de virulencia por parasitemia y mortalidad**

La susceptibilidad a la infección con *T. cruzi* es influenciada directamente por la información genética de los ratones. Los ratones de cepas consanguíneas son homogéneos, consecuentemente, la variabilidad de la respuesta a la infección en un ratón con cepa puede deberse a cambios en la infectividad y/o virulencia de la cepa del parásito.

## **7.10 Aislamiento de cepas de *T. cruzi* en ratones CD-1 y medios de cultivo.**

### **a) Aislamiento de *T. cruzi***

Las cepas de *T. cruzi* se trataron de aislar a partir de animales de experimentación capturados en el campo o a partir de triatomíneos. Hasta el momento solo se han intentado aislar a partir de animales silvestres, todos ellos corresponden a roedores del campo. Los animales se capturaron con trampas y enseguida se durmieron bajo anestesia con cloroformo absoluto. Se transportaron al laboratorio y se les extrajo de 1 y 2 mL de sangre por punción cardiaca.

### **b) Detección de tripanosomas por tinción y aislamiento**

Una vez inoculados los ratones con la sangre de los animales capturados se revisó la presencia de parásitos en sangre bajo sospecha, es decir, en caso de que los ratones inoculados presentaran el pelo erizado, siendo así se practicó una tinción de Giemsa mediante el frotis de sangre en un portaobjetos.

### **c) Detección de parasitemia en ratones CD-1 y crecimiento en medios de cultivo.**

Entre 0.1 y 0.2 mL de sangre de los animales capturados, se inoculan a ratones CD-1 por vía intraperitoneal, 2 animales por cada muestra aislada de los animales capturados y cada tercer o cuarto día se revisó la presencia de parásitos obteniendo unas gotas de sangre de la punta de la cola del ratón inoculado y se realizó un frotis, observando bajo el microscopio en objetivo 40x para la detección de *T. cruzi*. En caso de sospecha positiva se realizó tinción de Giemsa.

#### **d) Identificación de parásitos *in vitro***

La sangre de los animales capturados se depositaba en razón de 0.1 mL por medio de cultivo (5 a 10 mL) de medio LIT y N.N.N. Cada 5 a 7 días se tomaba una muestra de cultivo de aproximadamente 100  $\mu$ L y se observó bajo el microscopio colocada en un portaobjetos y cubierta con un cubreobjetos (Figura 9).

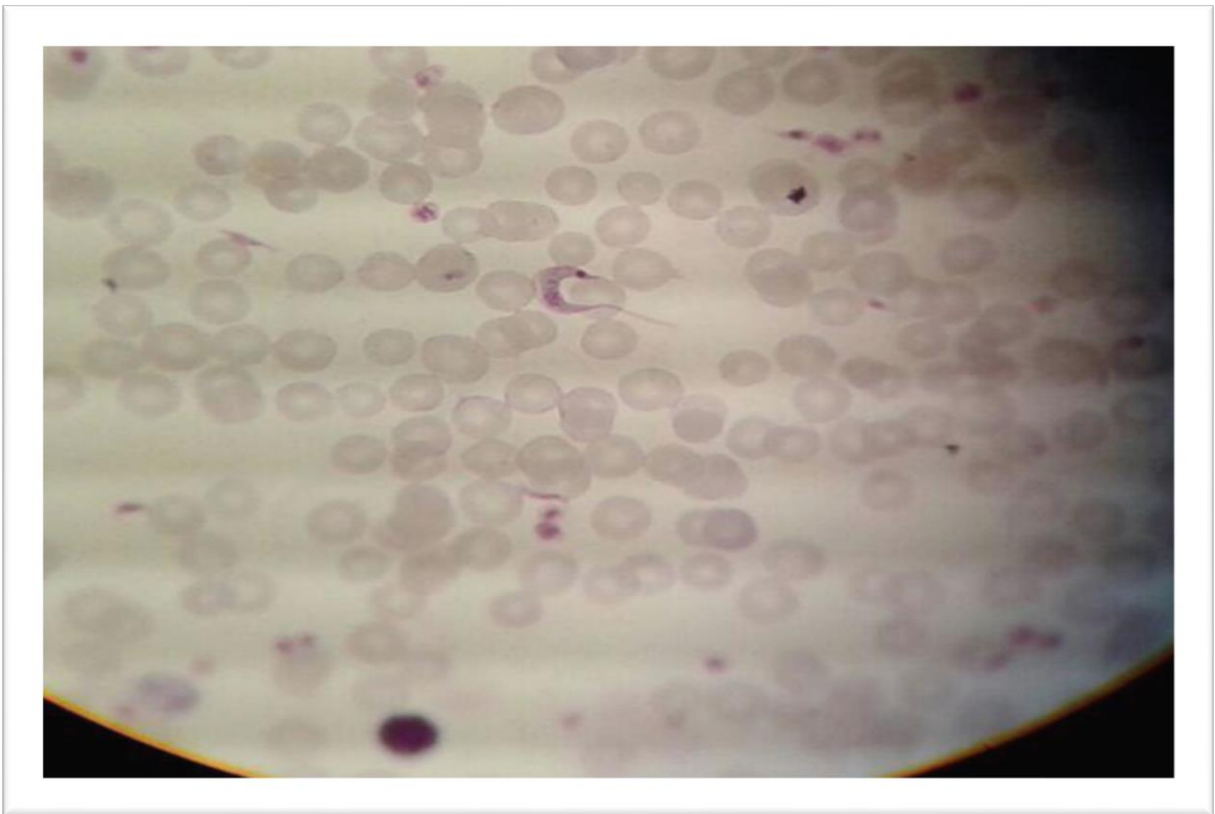


Figura 9. *T. cruzi* obtenido de la muestra de sangre de ratón CD1 infectado.

## 7.11 Estandarización de curva de crecimiento *in vitro*

### a) Crecimiento en medio de cultivo LIT:

Se inocularon concentraciones en el orden de  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ , y  $10^6$  parásitos por  $\mu\text{L}$ , sembrando cada inoculo por triplicado en medio de cultivo LIT (Figura 10), a partir de tripanosomas desarrollados en cultivo, los cuales fueron obtenidos mediante el aislamiento de tripomastigotes sanguíneos de la sangre de ratones con parasitemia.

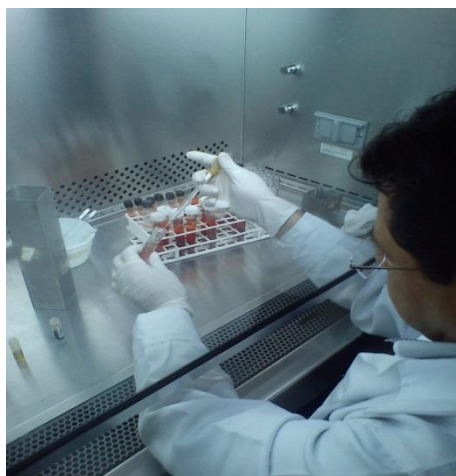


Figura 10. Inoculación en medio de cultivo LIT

Cada 3er o 4to día se tomaban  $100 \mu\text{L}$  de cada cultivo y directamente o por dilución  $1/10$ ,  $1/100$ , o  $1/1000$  se tomaba la alícuota para depositarla en cámara de Neubauer y de esta manera hacer el conteo de los parásitos. El cultivo se desarrolló a lo largo de 45 días determinando la curva de crecimiento en sus fases de adaptación exponencial, estacionaria y de muerte. Se realizó el comparativo de la curva de crecimiento de las diferentes cepas y mediante análisis estadístico se pudo

determinar si había diferencias significativas, (se anexa la composición del medio de cultivo):

MEDIO LIT: Se mezclan 4 g de NaCl, 0.4 g de KCl, 8 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 g de glucosa, 5 g de Triptosa, 5g de infusión de Hígado, 25 g de Hemina, 100 mL de FCS aforándolo a 1000 mL de agua destilada llevando este medio a un pH de 7.2. Se esteriliza a 120° C durante 20 min.

## **b) Determinación de la curva de crecimiento en medio de cultivo**

### **NNN:**

De la misma manera que para el medio LIT se procedió a trabajar con el medio NNN y de la misma forma se realizó el comparativo de las curvas de crecimiento de las cepas. Mediante análisis estadístico con pruebas no paramétricas se determinó si había diferencias entre el crecimiento de diferentes cepas o del parásito en diferentes medios. (se anexa la composición del medio de cultivo).

MEDIO NNN: Este medio de cultivo ha demostrado a través del tiempo su eficacia para *T. cruzi*. Se suspenden en 900 ml de agua destilada 14 g de agar nutritivo y 6 g de Cloruro de Sodio, Se disuelve perfectamente el agar y la solución llevándola a ebullición y cuidando de no derramarlo, Se esteriliza a 120°C por 20 min. Se deja enfriar al agar aproximadamente a 50°C y se agregan de 50 a 100 mL de sangre de borrego, conejo o humana, agitando para homogenizar, se reparte en tubos o matraces estériles.

Se inclinan los tubos hasta que el medio solidifique. Se agrega solución de Ringer aproximadamente una y media veces la cantidad de la fase sólida.

Se incuba a 37°C durante 24 hrs a 48 hrs como prueba de esterilidad



## 7.12 Determinación de la virulencia *in vivo*

Grupos de 10 ratones hembras Balb/c de 6-8 semanas de edad y  $20 \pm 1$ g de peso fueron inoculados cada uno por vía i. p. con  $1 \times 10^5$  tripomastigotes sanguíneos de cada una de las clonas o con la cepa parental, en un volumen final de 200  $\mu$ L.

A lo largo del tiempo de infección se registró la cinética de parasitemia, mortalidad acumulada e histotropismo. La parasitemia se registró cada tercer o cuarto día durante 60 días de la siguiente manera: a cada ratón se le cortaba la punta de la cola con la finalidad de sangrarlo. La sangre se depositaba sobre un portaobjetos limpio y seco y con una micropipeta se obtenía 10  $\mu$ L de sangre, los cuales se mezclaron con 90  $\mu$ L de cloruro de amonio al 0.87%, con la finalidad de lisar glóbulos rojos; los tripanosomas se contaron en una cámara de Neubauer, observando la cantidad de ellos bajo el microscopio de luz. Se registró la mortalidad acumulada a lo largo de los 60 días de infección. El histotropismo se determinó en cada ratón cuando moría o bien, si al término de los 60 días, los ratones seguían vivos entonces se practicaba eutanasia para determinar el histotropismo de cada cepa o clona de *T. cruzi* de la siguiente manera: nueve órganos se disecaron de cada ratón, los cuales son cerebro, corazón, pulmón, bazo, hígado, esófago, intestino grueso, músculo esquelético y riñón. Los órganos fueron colocados conteniendo buffer de fosfatos (PBS, phosphate buffered saline) con formol al 10%.

Los órganos, después de 3 días de fijación se colocaron incluidos en un bloque de parafina. A cada órgano se le practicó 10 cortes, obteniendo secciones de 5  $\mu$ m. Se sometieron al proceso de tinción con eosina-azul de metileno. Cada corte se montó en laminillas de porta y cubreobjetos y se

observaron bajo el microscopio de luz a una amplificación de 100X (Figura 11), revisando al azar 100 campos. Se registró el número de nidos de amastigotes en cada órgano.

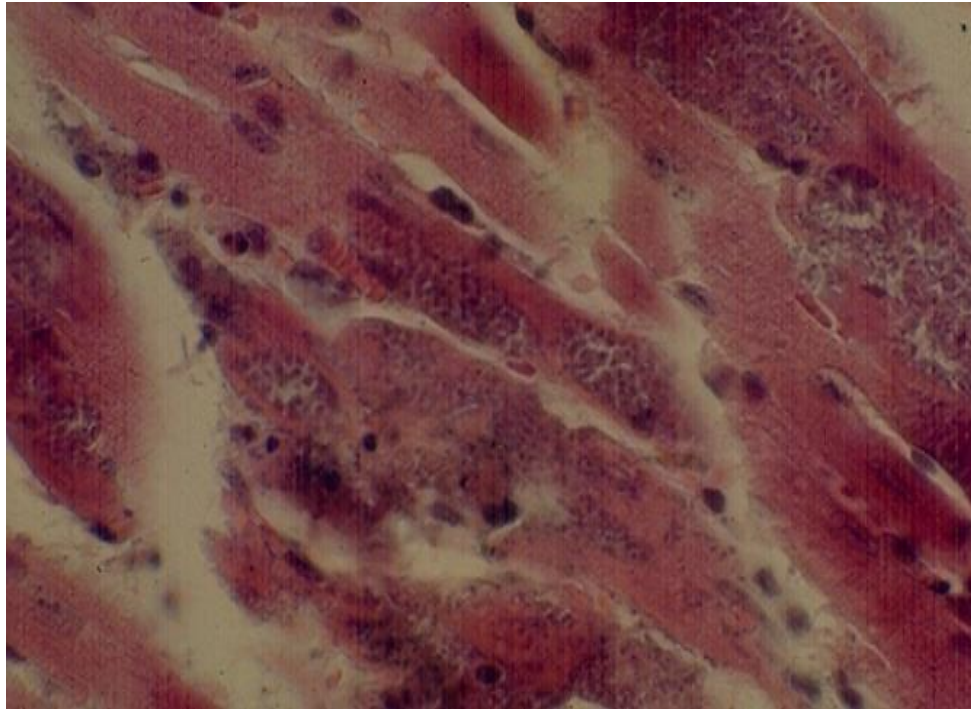


Figura 11. Corte histológico de ratón CD1

## VIII. RESULTADOS

### Distribución de triatominos en el Estado de Hidalgo.

Con la finalidad de conocer la distribución de las distintas especies de triatominos transmisores de *T. cruzi*, se identificaron taxonómicamente en relación a la especie y la fase de su desarrollo para cada Jurisdicción estudiada. Como se puede observar en la Tabla 3, se presentan los resultados de las especies de triatominos encontrados en las 13 Jurisdicciones del Estado de Hidalgo.

Tabla 3: Fases de triatominos encontrados en las diferentes Jurisdicciones

JURISDICCIÓN	HUEVOS	NINFAS	MACHOS	HEMBRAS	EXUVIAS	NÚMERO DE TRIATOMINOS	ESPECIE
1. PACHUCA	0	0	0	0	0	0	
2. TULANCINGO	0	0	0	0	0	0	
3. TULA	0	0	0	0	0	0	
4. HUICHAPAN	0	9	11	11	13	31	<i>Triatoma dimidiata</i> <i>Triatoma barberi</i>
5. ZIMAPAN	0	0	2	0	0	2	<i>Triatoma mexicana</i>
6. IXMIQUILPAN	0	27	10	16	36	53	<i>Triatoma mexicana</i>
7. ACTOPAN	0	0	0	0	0	0	
8. MEZTITLAN	0	0	0	0	0	0	
9. MOLANGO	32	21	14	13	32	48	<i>Triatoma dimidiata</i>
10. HUEJUTLA	191	48	38	30	57	116	<i>Triatoma dimidiata</i>
11. APAN	0	0	0	0	0		
12. TIZAYUCA	0	0	0	0	0		
13. TEPEHUA	50	21	13	31	16	65	<i>Triatoma barberi</i>
TOTAL	273	129	89	102	153	320	

Los datos indican que de las 13 Jurisdicciones estudiadas, en seis de ellas: Huichapan, Zimapan, Ixmiquilpan, Molango, Huejutla, Tepehua, sí se encontraron diferentes especies de triatominos, tales como *Triatom dimidiata*, *Triatoma barberi* y *Triatoma mexicana*. Mientras que en siete de ellas no se encontraron triatóminos: Pachuca, Tulancingo, Tula, Actopan, Metztitlán, Apan y Tizayuca.

En la Tabla 4, se indican las Jurisdicciones donde se encontraron triatóminos infectados con *T. cruzi*.

Tabla 4. Relación de triatominos infectados con *T. cruzi*

COMUNIDAD	NUMERO DE TRIATOMINOS INFECTADOS		TRIAMINO	HECES	CEPA
TEPEHUA	3	32 33 31	hembra <i>T. barberi</i> ninfa 5° <i>T. barberi</i> ninfa 5 -4 <i>T. barberi</i>	café oscuro café oscuro café oscuro	I - 1
HUICHAPAN	12	19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30	macho <i>T. dimidiata</i> hembra <i>T. barberi</i> macho <i>T. barberi</i> hembra <i>T. barberi</i> hembra <i>T. barberi</i> macho <i>T. barberi</i> hembra <i>T. barberi</i> ninfa 5° <i>T. barberi</i> macho <i>T. barberi</i> macho <i>T. barberi</i> macho <i>T. barberi</i> hembra <i>T. barberi</i> macho <i>T. barberi</i>	café claro negras negras café claro negras negras negras negras negras negras negras negras negras	I - 4
MOLANGO	2	18 17	macho <i>T. dimidiata</i> ninfa 5-4 <i>T. dimidiata</i>	amarillas amarillas	I - 5
HUEJUTLA	12	16 15 14 13 12 11 10 9 9 7 6 5	ninfa 5-4 <i>T. dimidiata</i> macho <i>T. dimidiata</i> macho <i>T. dimidiata</i> macho <i>T. dimidiata</i> macho <i>T. dimidiata</i> macho <i>T. dimidiata</i> macho <i>T. dimidiata</i> macho <i>T. dimidiata</i> macho <i>T. dimidiata</i> macho <i>T. dimidiata</i> ninja <i>T. dimidiata</i> macho <i>T. dimidiata</i> hembra <i>T. dimidiata</i>	Oscuras café oscuras grises amarillas amarillas amarillas grises grises grises oscuras café amarillas amarillas café	

En la figura 12, se muestra el mapa del Estado de Hidalgo, donde se identifican los municipios que presentan triatomínicos infectados.

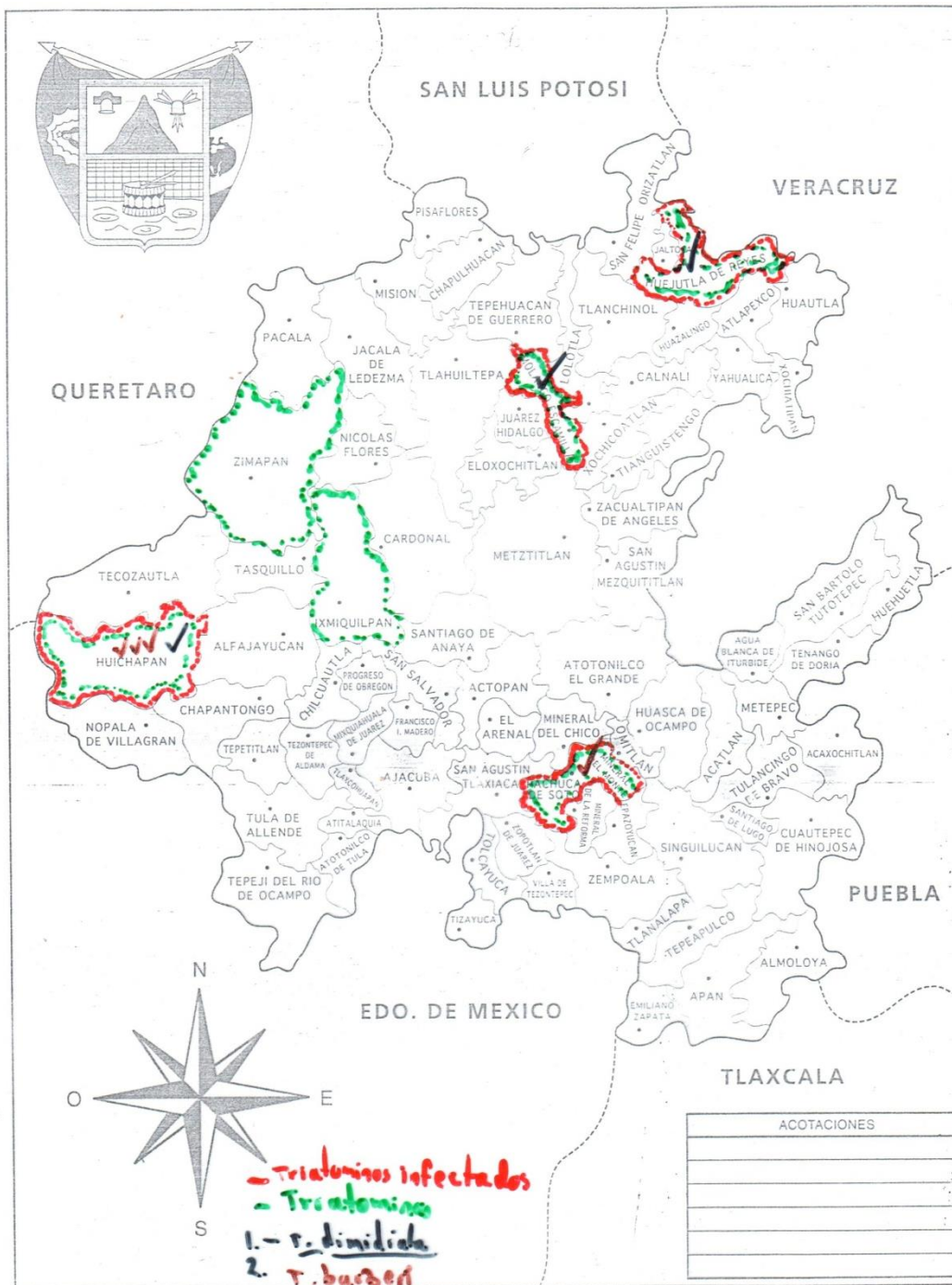


Figura 12. Mapa del Estado de Hidalgo. En color rojo se identifican los Municipios que presentan triatomínicos infectados. En color verde están los municipios con triatomínicos no infectados. Con el símbolo ✓ en color negro y café se identifica la especie de *T. dimidiata* y *T. barberi*, respectivamente.

Como se puede observar en el mapa, de las 6 Jurisdicciones donde se encontraron triatominos, sólo en cuatro municipios se hallaron triatominos infectados por *T. cruzi*, en *Triatoma dimidiata* y *Triatoma barberi*, respectivamente.

En la Tabla 5, se indica el porcentaje de triatominos infectados que se encontraron en las diferentes Jurisdicciones.

Tabla 5. Porcentaje de triatominos infectados

Triatominos infectados	Porcentaje
Ninfas	5%
Machos	19.1%
Hembras	9.8%
Total <i>T. dimidiata</i> y <i>T. barberi</i>	33.9%

En la Tabla 6, se indica el total de triatominos colectados en las diferentes Jurisdicciones

Tabla 6. Número total de triatominos colectados.

Total de triatominos colectados	320	
Triatominos colectados por estadio de desarrollo	NINFAS	129
	MACHOS	89
	HEMBRAS	102

En la tabla 7 se presentan los datos de la cinética de positividad de *T. cruzi*, obtenidos de la pruebas realizadas *in vivo* en ratones CD1.

Tabla 7. Cinética de positividad de *T. cruzi in vivo* en ratones CD1

Procedencia	Cepa	Periodo (días)											
		10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	
Pachuca	1	NEGATIVO											
Pachuca	2	NEGATIVO											
Pachuca	3	NEGATIVO											
Pachuca	4	NEGATIVO											
Pachuca	5	NEGATIVO											
Huejutla	6				46+					86+			
Huejutla	7							74+		91+		106+	
Huejutla	8	NEGATIVO											
Huejutla	9								86+	93+			
Huejutla	10	NEGATIVO											
Huejutla	11						66+	72+		95+			
Huejutla	12						67+	74+	82+		103+		
Huejutla	13							72+	76+	80+			
Huejutla	14							73+	82+	86+	91+		
Huejutla	15								84+	87+	91+	103+	
Huejutla	16	NEGATIVO											
Molango	17	NEGATIVO											
Molango	18	19+										103+	
Huichapan	19	NEGATIVO											
Huichapan	20	NEGATIVO											



Huichapan	21	NEGATIVO							
Huichapan	22	NEGATIVO							
Huichapan	23	NEGATIVO							
Huichapan	24	NEGATIVO							
Huichapan	25				46+ 49+ 54+				
Huichapan	26	NEGATIVO							
Huichapan	27				46+ 49+ 54+				
Huichapan	28					59+ 63+ 71+			
Huichapan	29					59+ 63+ 71+ 75+			
Huichapan	30				46+ 49+ 53+ 61+				
Tepehua	31	18+ 21+ 25+ 28+ 31+	36+ 45+ 49+ 54+ 61+						
Tepehua	32	13+ 18+ 21+ 25+ 28+ 32+							
Tepehua	33	11+ 13+18+ 21+ 25+ 31+ 36+ 42+							

En la tabla 8 se presentan los datos de la cinética de desarrollo de *T. cruzi*, obtenidos de la pruebas realizadas *in vitro*.

Tabla 8. Cinética de desarrollo de aislados de *T. cruzi in vitro*

Procedencia	Cepa	Periodo (días)													
		10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110			
Pachuca	1	NEGATIVO													
Pachuca	2	NEGATIVO													
Pachuca	3	NEGATIVO													
Pachuca	4	NEGATIVO													
Pachuca	5	NEGATIVO													
Huejutla	6	12+17+19+ 23+ 31+							81+						
Huejutla	7	12+ 20+ 24+		31+											
Huejutla	8	12+ 20+													
Huejutla	9				42+		68+								
Huejutla	10	NEGATIVO													
Huejutla	11				43+ 48+ 59+ 63+										
Huejutla	12			38+ 43+ 46+ 51+ 58+											
Huejutla	13			38+ 43+ 46+ 50+ 58+											
Huejutla	14			38+		60+ 64+									
Huejutla	15			37+		56+		65+							
Huejutla	16	NEGATIVO													
Molango	17	2+													
Molango	18	NEGATIVO													
Huichapan	19	NEGATIVO													

Huichapan	20	NEGATIVO									
Huichapan	21		28+	32+							
Huichapan	22		28+	32+							
Huichapan	23		28+	32+							
Huichapan	24	NEGATIVO									
Huichapan	25		28+	31+	41+	58+					
Huichapan	26	NEGATIVO									
Huichapan	27		28+	31+	35+	41+					
Huichapan	28		28+	31+	37+	42+					
Huichapan	29		28+	31+	37+	40+					
Huichapan	30		28+	31+	35+	41+					
Tepehua	31	6+	14+	16+	28+						
Tepehua	32	NEGATIVO									
Tepehua	33		20+	22+	27+	34+					

En la Tabla 9 se indica un resumen de parasitemia de las cepas aisladas, las cuales presentaron un periodo promedio de parasitemia de 17.1 días.

Tabla 9. Resumen de parasitemia de las cepas aisladas

Cepas aisladas	Porcentaje
Total 33	100%
No. Cepas que produjeron parasitemia	$(19/33 \times 100) = 57.57\%$
No. Cepas que produjeron la muerte	$(13/19 \times 100\%) = 68.42 \%$
Cepas positivas en cultivo LIT	$21/33 = 63.63\%$

## IX. DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación demuestran que la enfermedad de Chagas es un importante problema de salud pública ya que se encontraron los triatominos del parásito y el protozoo del mismo. Incluso se pudo demostrar que se encontraron diferentes especies de triatominos y se lograron aislar 33 cepas de *T. cruzi*.

De los resultados obtenidos, se puede observar cómo se distribuían los diferentes triatominos en las 13 jurisdicciones; la mayor cantidad de los insectos se encontraron en las jurisdicciones correspondientes a la Huasteca Hidalguense, en segundo lugar a la jurisdicción de Ixmiquilpan y en tercer lugar a la de Huichapan que corresponde al valle del Mezquital. Lo anterior demuestra que estos triatominos necesitan de clima cálido, y en el caso de *Triatoma dimidiata*, un clima húmedo, pero para *Triatoma barberi*, un clima cálido, húmedo o seco, y finalmente para *Triatoma mexicana*, un clima cálido y húmedo, por lo tanto, las zonas de mayor riesgo son las de clima cálido húmedo. También se puede observar la presencia de ninfas en algunas jurisdicciones lo que significa que los insectos están en desarrollo; y el hecho de que haya un número parecido entre machos y hembras y en mayor cantidad que ninfas, significa mayor riesgo de adquirir la infección por *T. cruzi*. Al encontrar *Triatoma barberi* en Huichapan, refuerza el resultado encontrado por Becerril y colaboradores (Becerril y cols. 2007,2010) en donde se demuestra la presencia de esta especie en 3 comunidades del Valle de Mezquital muy cercanas a Huichapan. De igual manera el resultado de esto refuerza lo publicado por Vidal Acosta y Cols., donde se demuestra la presencia de *Triatoma dimidiata* y *Triatoma mexicana*. Por otro lado, al encontrar huevos de los triatominos principalmente en las 3 jurisdicciones de la Huasteca Hidalguense (Tepehua, Huejutla y Molango); y con relación a los

triatominos infectados, podemos observar que el mayor porcentaje se encuentra en machos, lo que significa que tienen mayor desplazamiento para buscar huéspedes para picarlos y así adquirir la infección.

Estos resultados refuerzan lo reportado por Becerril y colaboradores en el 2007, donde se demuestra que las 3 especies de triatominos están infectados con *T. cruzi*.

Con relación a la parasitemia que ocasionaron los diferentes cepas aisladas de *T. cruzi*, podemos observar que de los 33 aislamientos, 19 de estos produjeron parasitemia, lo que corresponde al 57.57% y que de las cepas que ocasionaron parasitemia corresponden el 68.42%, es decir 13 de los 19 ocasionaron la muerte de los ratones, dando un promedio de 17.1 días de parasitemia, dando como resultado que son infectivos más de la mitad de los aislados en ratones y que de estos, más de la mitad producen la muerte es decir que son altamente letales. Además podemos ver que producen en promedio una parasitemia relativamente corta de 17.1 días. La cepa **Y** aislada originalmente de Brasil es la más virulenta, produciendo la muerte al 100% de los ratones, con una mortalidad al día 11; en el caso de la mayor parte de las cepas mexicanas, las parasitemias se presentan entre el día 20 y 35 de post infección; en el resultado de este estudio notamos que, si están en el rango cercano a la infectividad de la cepa **Y** podríamos considerar que son aislados de los más virulentos e infectivos que se encuentran en la República Mexicana.

Por otro lado, podemos observar que los aislados con menor tiempo de inicio de parasitemia corresponden a los que se obtuvieron de Tepehua, sin embargo, aquellos de Huejutla tuvieron un tiempo de inicio del día 68 generalmente; pero además la mayor parte de los 19 aislados tienen como lugar de procedencia las jurisdicciones de la Huasteca Hidalguense, y

la mayor parte se aislaron de *Triatoma dimidiata*; no obstante los aislados de Huichapan desarrollaron parasitemias entre los días 16 y 75 respectivamente, obtenidos principalmente de *Triatoma barberi*, lo que hace pensar que los triatomíneos más infectivos son del Norte y del Valle de Mezquital.

Esta es la primera vez que se registra la procedencia de las cepas y su capacidad infectiva evaluada en ratones. Por otro lado la cinética de desarrollo de los aislados de *T. cruzi*, nos indica que más o menos hay una correspondencia con las cepas que produjeron parasitemia en ratones excepto por un aislado de Molango, que fue positivo y que en ratones fue negativo. La presencia de los parásitos se observó aproximadamente después del día 12, aunque en 2 aislados se observaron positivos en medios de cultivo entre los días 2 y 6 de inicio del cultivo LIT. Lo anterior indica que son en su mayoría muy adaptables ya que 63.63% fueron positivos en cultivo LIT.

Por primera vez se reporta el comportamiento de las cepas de *T. cruzi* aislados del Estado de Hidalgo en medio de cultivo LIT.

## **X. CONCLUSIONES**

- En 6 de las 13 Jurisdicciones sanitarias del Estado de Hidalgo se encontraron triatominos, es decir, casi el 50%.
- Más de la mitad de los 33 aislados fueron positivos a *T. cruzi*.
- Más de la mitad de los aislados fueron virulentos e infectivos.
- Las cepas son altamente adaptables e infectivos en ratones.
- Las zonas de mayor riesgo en el Estado de Hidalgo para la infección por *T. cruzi* corresponden a la Huasteca y en segundo lugar el Valle de Mezquital.
- En el Estado de Hidalgo, principalmente en la zona norte, hay un considerable riesgo de adquirir la enfermedad de Chagas.



## **XI. BIBLIOGRAFÍA**

- Andrade LO, Machado CR, Chiari E, Peña SD, Macedo AM. 1999. Differential tissue distribution of diverse clones of *Trypanosoma cruzi* in infected mice. *Mol Biochem Parasitol*.
- Anselmi a. Maleiro F. Physiopathology of Chagas Heart Disease: Correlation between Clinical and Experimental Findings Bull WHO 1971; 44: 659-65.
- Barrera- Perez MA, Rodriguez-Felix ME, Guzman-Marin E, Zavala-Velásquez JE, Dumontiel E. Biological Behavior of Three Strains of *Trypanosoma cruzi* From Yucatan, México. *Rev Biomed* 2001; 12:224-30.
- Becerril, FMA. Parasitología médica de las moléculas a la enfermedad. Editorial McGraw Hill-Interamericana. 2008.
- Búa J, Bontempi E, Ruíz A, Segura E. *Rev. Arg. Microbiol.* 1990; 22: 47-66.
- Cárdenas RL, Tay J, Salazar SPM. Cambios histopatológicos producidos en el ratón por cepas. 1975.
- Cervillos AM y Hernández R. *Trypanosoma cruzi* y la enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana), Capítulo 19, Departamento Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, 1998.
- Cervillos AM y R Hernández, *Trypanosoma cruzi* y la enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana), Capítulo 19, Departamento Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, 1992.
- Chagas C. Nova tripanozomiazé humana. Estudos sobre la morfología del ciclo evolutivo de *Schizotrypanum cruzi* n. Gen., n.sp. agente etiológico de nova entidade mórbida de homen – Ueber eine neue

trypanosomiasis des Menschen. Studien über Morphologie und Entwicklungszyklus de *Schizotrypanum cruzi*. 1909.

- Craig y Faust. Parasitología clínica, editorial Salvat, Barcelona, 1975.
- Cura N. Estela and segura L. Elsa. Quality Assurance of the serologic Diagnosis of Chagas Disease rev. Panam Salud Publica/Pan Am J. Public Health 1998; 3:4.
- Enfermedad de Chagas y sus vectores Crocco Liliana, Universidad Nacional de Córdoba, 1994.
- Facultad de Medicina UNAM [www.facmed.unam.mx](http://www.facmed.unam.mx)
- Guzmán Bracho C. García García L. Floriani Verdugo J. Guerrero Martínez S: Torres Cosme M. Ramírez Melgar C y Velasco Castrejón O. Riesgo de Transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre en México Rev. Panam. Salud Pública/Pan Am J Public Health 1998; 4 vol. 2:
- Guzmán Bracho C. La Huerta S. Velasco Castrejón. Chagas disease. First Congenital Case Report Archives of Medical Research México 1998; vol. 29 No. 2:195-196.
- Hayes R. & Schoefield CJ 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 1990; 108: 308-306.
- Herrera y col. Parasitología en medicina, 1971.
- Laboratorio Estatal de Salud pública de Hidalgo, Reporte 1998
- Laboratorio Estatal de Salud pública de Hidalgo, Reporte 1999.
- Lauren G. and Renato J. Zarate. A Checklist of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) of México. International Journal of Entomology 1985; 27 (1-2): 102-127.
- Lent H y Wygodzinky P. Revision of Triatominae (Hemipteria Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease. Bolletin of the American Museum of Natural History 1979; 163: 123-520.

- Maldonado, Capriles J. Systematic Catalogue of the Reduvidae and their significance as vectors of Chagas disease. *Bolletín of the American Museum of Natural History* 1990; 63:125-520.
- Manual de laboratorio para el Diagnóstico de la Infección por *Trypanosoma cruzi*, Universidad Nacional Autónoma de México y Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, 2002.
- Mazzoti L: *Gac Med México* 1940; 70:417-420.
- Encina J L y Reyes-Lopéz PA. *American Trypanosomiasis* 1999; 3: 393-398 Monteon Padilla V, Hernández M, Becerril N., Guzmán-Bracho, Rosales C,.
- Organización Mundial de la Salud. Control de la enfermedad de Chagas, Serie de Informes Técnicos. 2002; 905: 82-83.
- Ortega M, Tay J. Ensayo Experimental de diferentes vías de infección por *Trypanosoma cruzi* en ratón blanco. *Bol. Chileno Parasitol* 1972; 27:6-11.
- Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas Disease. *Lancet Infect Dis.* 2001.
- Ramsey JM, Alvear AL, Ordoñez R, Muñoz G, Chaves V, Lopéz R, Leyva R. Program and Abstracts of the 48 "Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene". DC,1999 vol sept No. 3
- Ramsey Willoquet JM. La importancia de la enfermedad de Chagas en la salud pública de México, Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, 1992.
- Becerril, Angeles-Pérez V, Noguez-García J, Imbert-Palafox JL. Riesgo de Transmisión de *Trypanosoma cruzi* en el Municipio de Metztitlán, Estado de Hidalgo, México, Mediante la Caracterización de Unidades Domiciliares y sus Índices Entomológicos. 1980.
- Salazar Scheetino PM, De Haro Arteaga Land Uribarren Berrueta Chagas Disease in México, *Parasitology today*, 1998; 4:12.
- Schoefield C J. *Triatominae Biología y Control*, 1994.

- Souto, R.P., Fernández, O., Macedo, A.M., Campbell, D.A., Zingales, B., DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. Mol. Biochem. Parasitol. 1996; 83:141–152.
- Tanowitz HB, Kirchoff LV, Simon D, Morris SA, Weiss LM, Withner M. Chagas disease. Clin. Microbiol Rev. 1992; 5: 440.
- Tay J. Schenone H. Sánchez JT. Y Robert L. Estado actual de los conocimientos sobre la enfermedad de Chagas en la República Mexicana Bol. Chil Parasitol. 1992; 47:43-53.
- Tay J. y Cols. La enfermedad de Chagas en la República Mexicana. Sal. Pub. Mex. 1980, XXII: 40-450.
- Thompson RCA, Lymberry AJ. Intraspecific variation in parasites. 1990.
- Tibayrenc M, Brenier, SF. *Trypanosoma cruzi*: Major clones rather than principal zymodemes. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1988.
- Velasco-Castrejón O. Valdespino JL. Tapia Conyer R. Salvatierra B. Guzmán Bracho C. Magos C. Llausas A. Gutiérrez G. Sepúlveda J. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México Rev. Inv. Panam. Salud Pública de México 1998; 29 (2):195-196.
- Velasco y col. III Congreso Latinoamericano Med. Tropical México, 1990.
- Velasco-Castrejón O., Guzmán-Bracho O., González-Domínguez F. La enfermedad de Chagas con Especial Referencia a México. Publicación técnica del INDRE No. 8 Ed. INDRE/SSA México. F. 1991.
- World Health Organization. Division of Control of Tropical Diseases. Chagas Disease Elimination. Technical Report series 811. Geneva 1998.
- Zarate GL, Zarate RJ. A checklist of the Triatominae (Hemiptera; Reduviidae) of México. Int Entomol. 1985; 27:102-127.
- Zingales, B., Souto, R.P., Mangia, R.H., Lisboa, C.V., Campbell, D.A., Coura, J.R., Jansen, A., Fernández, O., Molecular epidemiology of American Trypanosomiasis in Brazil based on dimorphisms of rRNA and mini-exon gene sequences. Int. J. Parasitol. 1998; 28: 105–112.