
**FRECUENCIA DE INFECCIÓN CON *Trypanosoma cruzi*
EN MURCIÉLAGOS CAPTURADOS EN LA LOCALIDAD
DE MOLAS, YUCATÁN, MÉXICO.**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES**

POR:

**Licenciado en Biología
Florencio Jedion Tuz Chan**

ASESORES:

**Dra. Celia I. Sélem Salas
Dr. Hugo A. Ruiz Piña**

Mérida, Yucatán, México, junio de 2015

DECLARACIÓN

El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la UADY para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente.

AGRADECIMIENTOS

Primero doy gracias a Dios por concederme avanzar en el camino, por ayudarme a escalar un peldaño y ver realizado una promesa.

Segundo doy gracias a ti, que hoy tienes tantos nombres y estás en tantas personas, y que de una u otra forma me ayudaste a conseguir esta gran meta con tu amor, tu valor y tus buenos ejemplos... mi familia.

Te agradezco a ti, que me brindaste amistad, los momentos de risas, de lágrimas, de infinitas preocupaciones y soluciones amables.... mis amigos y compañeros.

Gracias a ti por compartir tus conocimientos, por motivarme haciéndome descubrir mi capacidad de aprender y de salir adelante... mis maestros.

Si te preguntas por qué no menciono tu nombre, es porque sería una inmensa lista, pero sinceramente te doy gracias.

A mis asesores, la Dra. Celia I. Sélem Salas y al Dr. Hugo A. Ruíz Piña, por toda su labor y esfuerzo dedicado para enriquecer este trabajo.

Al H. comité tutorial conformado por la Dra. Karla Acosta Viana, la Dra. Silvia Hernández Betancourt y al Dr. Pablo Manrique, por sus valiosas observaciones y comentarios dirigidos a mejorar este trabajo.

Al Dr. Javier Escobedo Ortégón por compartir sus conocimientos y el apoyo brindado en las actividades de laboratorio.

A las familias de la localidad de Molas, que nos brindaron la confianza de entrar a sus predios para realizar investigación.

Al CONACYT por la beca otorgada para el estudio de la maestría.

Al proyecto Monitoreo, vigilancia e intervención de patógenos zoonóticos y ETVS en un área rural del estado de Yucatán. Financiado por Promep 103.5/13/5270.

RESUMEN

La tripanosomiasis Americana es una enfermedad parasitaria compleja, ocasionada por *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Los murciélagos pueden actuar como hospederos de *T. cruzi* en el área rural del estado de Yucatán, por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar la variación espacio temporal de la frecuencia de infección con *T. cruzi* en murciélagos capturados en la localidad de Molas, Yucatán, México. Se seleccionaron doce viviendas en la localidad y se colocaron dos redes de niebla en el patio de cada vivienda. El proceso de muestreo duró cuatro noches consecutivas mensualmente de octubre de 2013 a septiembre de 2014. Se capturaron 533 individuos de ocho especies y seis géneros, pertenecientes a las familias Phyllostomidae: *Artibeus jamaicensis* (70.3%), *A. lituratus* (1.3%), *A. phaeotis* (0.2%), *Sturnira parvidens* (12.7%), *Glossophaga soricina* (13.9%), *Diphylla ecaudata* (0.6%); Vespertilionidae: *Rhogeessa aeneus* (0.8%) y Mormoopidae: *Pteronotus parnellii* (0.2%). *A. jamaicensis* fue la especie más abundante durante el muestreo, excepto en abril y julio en los cuales *G. soricina* fue la más abundante. De 533 murciélagos capturados solo se obtuvieron muestras de sangre de 488, porque se evitó tomar muestras de las hembras preñadas y en algunos casos no se colectó la cantidad de sangre suficiente, por lo tanto, se analizaron por PCR las muestras de sangre de 488 individuos, utilizando cebadores específicos para *T. cruzi* y el estuche comercial Phusion blood direct PCR kit; Finnzymes Oy, Espoo, Finland, F-547L. De este análisis, 19 murciélagos resultaron positivos a *T. cruzi*: *A. jamaicensis* 1.95% (7/358), *S. parvidens* 10.5% (6/57), *G. soricina* 8.3% (5/60) y *R. aeneus* 25% (1/4). Se encontraron individuos infectados en cinco meses de los 11 muestreados, la mayor frecuencia de infección se encontró en febrero en *S. parvidens* y durante este mes hubo infección en cuatro de las seis especies capturadas. En contraste, la infección en *G. soricina* se presentó durante cuatro meses y la de *A. jamaicensis* se presentó durante tres. Por lo tanto, podemos ver que *T. cruzi* se encuentra circulando en las poblaciones de murciélagos de la localidad de Molas. Nuestros resultados indican que los murciélagos tienen un potencial como hospederos y sugieren considerar la participación de los quirópteros en el ciclo de transmisión de *T. cruzi*.

Palabras clave: Frecuencia –*Trypanosoma cruzi* – Murciélago – Hospedero – Yucatán, México.

SUMMARY

The American trypanosomiasis is a complex parasitic disease caused by *Trypanosoma cruzi*. Bats can act as hosts of *T. cruzi* in rural areas of the state of Yucatan, therefore, the aim of this study was to determine the spatiotemporal variation of infection frequency with *T. cruzi* in bats of Molas, Yucatan, Mexico. Twelve households were selected in the site, and two mist nets were placed in the yard of each house between October 2013 and September 2014. Five hundred and thirty three individuals of eight species and six genera, belonging to the families Phyllostomidae: *Artibeus jamaicensis* (70.3%), *A. lituratus* (1.3%), *A. phaeotis* (0.2%), *Sturnira parvidens* (12.7%), *Glossophaga soricina* (13.9%), *Diphylla ecaudata* (0.6%); Vespertilionidae: *Rhogeessa aeneus* (0.8%) and Mormoopidae: *Pteronotus parnellii* (0.2%) were captured. *Artibeus jamaicensis* was the most abundant species, except in April and July in which *G. soricina* was the most abundant. We only collected blood samples of 488 individuals, excluding the pregnant females and the cases when we cannot extract enough blood. These samples were analyzed by PCR using specific primers for *T. cruzi* and the commercial kit Phusion blood direct PCR kit; Finnzymes Oy, Espoo, Finland, F-547L. Nineteen bats were positive to *T. cruzi*: *A. jamaicensis* 1.95% (7/358), *S. parvidens* 10.5% (6/57), *G. soricina* 8.3% (5/60) y *R. aeneus* 25% (1/4). Infected individuals were found in five of the 11 months in this study, and the highest infection frequency was found in February in *Sturnira parvidens*. In addition, during this month there was infection in four of the six captured species. In contrast, the infection frequency of *G. soricina* was recorded in four months and the frequency of *A. jamaicensis* was recorded during three months. We conclude that *T. cruzi* is circulating in populations of bats of Molas, and our results indicate that bats are potential hosts and their active participation in the transmission cycle of *T. cruzi* is possible.

Key words: Frequency – *Trypanosoma cruzi* – Bat – Host – Yucatan, Mexico.

ÍNDICE

HOJA DE PRESENTACIÓN.....	I
VOTOS APROBATORIOS DEL SÍNODO.....	II
DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD.....	III
AGRADECIMIENTO	IV
RESUMEN	V
SUMMARY.....	VI
ÍNDICE GENERAL	VII
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS	VIII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Enfermedad de Chagas	3
2.1.1. Distribución geográfica y epidemiología.....	3
2.1.2. Fases de la enfermedad de Chagas	5
2.1.3. Diagnóstico	6
2.2. Agente causal (<i>Trypanosoma cruzi</i>).....	7
2.2.1. Morfología	7
2.2.2. Ciclo biológico de <i>Trypanosoma cruzi</i>	8
2.3. Formas de transmisión de <i>Trypanosoma cruzi</i>	10
2.4. Vector biológico.....	12
2.5. Hospederos.....	13
2.6. Quirópteros como hospederos.....	13
3. HIPÓTESIS.....	17
4. OBJETIVOS	17
5. REFERENCIAS.....	18
6. ARTÍCULO CIENTÍFICO	29

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Figura 1. Distribución de la enfermedad de Chagas en áreas no endémicas debido a la movilidad de la población	4
Figura 2. Áreas endémicas de la enfermedad de Chagas en México.....	5
Figura 3. Estadios de desarrollo de <i>Trypanosoma cruzi</i>	8
Figura 4. Ciclo biológico de <i>Trypanosoma cruzi</i>	9
Figura 5. Formas de trasmisión de <i>Trypanosoma cruzi</i>	11
Cuadro 1. Prevalencia de infección en murciélagos con <i>Trypanosoma cruzi</i> y otras especies de tripanosomas, empleando distintas técnicas de diagnóstico.....	15
En el artículo:	
Figura 1. Ubicación de los cuadrantes en la localidad de Molas, Yucatán, México	32
Figura 2. Abundancias mensuales de las especies de murciélagos de Molas, Yucatán, de octubre de 2013 a septiembre de 2014.....	36
Figura 3. Análisis electroforético en agarosa al 1.5 %. Tinción bromuro de etidio de los productos de PCR de muestras de sangre total de murciélagos	37
Figura 4. Frecuencia mensual de infección con <i>Trypanosoma cruzi</i> en cuatro especies de murciélagos de Molas, Yucatán.....	39
Cuadro 1. Especies de murciélagos capturadas en Molas, Yucatán, México	35
Cuadro 2. Frecuencia de infección con <i>Trypanosoma cruzi</i> en murciélagos de Molas	38
Cuadro 3. Frecuencia de infección con <i>Trypanosoma cruzi</i> por cuadrantes en murciélagos de Molas	38

1. INTRODUCCIÓN

La tripanosomiasis Americana o enfermedad de Chagas (EC) es reconocida como una zoonosis compleja causada por el protozooario flagelado *Trypanosoma cruzi*, que se presenta desde el sur de los Estados Unidos hasta Sudamérica (WHO, 2002). Se considera a la EC como una patología parasitaria que ocasiona estragos en la salud pública y economía en América Latina (Muñoz-Saravia *et al.*, 2012). En 2003, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó que la EC causó más muertes que ninguna otra enfermedad parasitaria en América Latina (WHO, 2003). Recientemente, se estimó que alrededor del mundo existen 8 millones de personas infectadas, principalmente en América Latina (OPS, 2014). En México, algunos estudios han reportado un incremento en la prevalencia de *T. cruzi*, donde la incidencia de la EC es de aproximadamente 69 000 casos por año, y el 5 al 6 % de los casos muere a causa de la enfermedad (Ramsey *et al.*, 2003; Ibáñez-Cervantes *et al.*, 2013).

La dificultad para controlar esta zoonosis se debe a la participación de un gran número de hospederos y/o reservorios naturales vertebrados e insectos triatominos. Los reservorios son aquellos animales que tienen la habilidad innata de coexistir con el tripanosoma sin sufrir las consecuencias de la enfermedad (Mbaya *et al.*, 2009). Por otra parte, los hospederos naturales son todos aquellos mamíferos que pueden adquirir la infección con *T. cruzi*. Se han referido más de 150 especies, entre los que se encuentran, perros, gatos, ratones, armadillos, zarigüeyas, y murciélagos, que son reconocidos como posibles hospederos y/o reservorios. Como vectores de *T. cruzi* se contemplan más de 130 especies de triatominos de la familia Reduviidae, pero sólo cinco de éstas son de especial importancia epidemiológica: *Triatoma infestans*, *T. brasiliensis*, *T. dimidiata*, *Rhodnius prolixus*, y *Panstrongylus megistus* (WHO, 2002).

En Yucatán se han encontrado como reservorios importantes de *T. cruzi* a la zarigüeya (*D. virginiana*) (Ruiz-Piña y Cruz-Reyes, 2002, Parada-López *et al.*, 2013) y también algunos roedores silvestres y sinantrópicos (Ruiz y Van Wynsberghe, 2002; Panti, 2011). El término sinantrópico se aplica a especies de plantas y animales silvestres que viven cerca y

se benefician de los hábitat artificiales creados por los humanos a su alrededor (Linhares, 1981). Sin embargo, la relación entre mamíferos sinantrópicos y personas generan condiciones de riesgo para la transmisión de agentes zoonóticos (McFarlane, 2012). Por lo tanto, las investigaciones buscan identificar mamíferos reservorios de *T. cruzi*, sobretodo, aquellos que tienen participación sinantrópica. En Yucatán, recientemente se han encontrado evidencias de que los murciélagos también pueden ser hospederos de este parásito, ya que mediante la técnica de PCR se encontró ADN de *T. cruzi* en muestras de sangre de 15 de 172 murciélagos analizados, provenientes de la localidad de Molas, Yucatán; nueve *Artibeus lituratus*, cinco *Artibeus jamaicensis* y un *Sturnira lilium* (Córdova-Aldana *et al.*, 2013). Otro estudio realizado en Molas encontró mediante la técnica de PCR, ADN de *T. cruzi* en muestras de sangre de 5 de 265 murciélagos analizados (Pool-Chi, datos no publicados). Un estudio realizado en diez localidades rurales del estado de Yucatán, encontró mediante la técnica de Microconcentración, un *Trypanosoma* del cual no se conoce la especie. en 38 de 108 murciélagos *Desmodus rotundus* analizados (Marroquín-Lavadores, datos no publicados).

Molas, Yucatán, localidad de estudio del presente trabajo, se encuentra dentro de los límites de la reserva ecológica de Cuxtal, donde la cercanía estrecha de especies silvestres con humanos, animales domésticos y de insectos triatomínicos, puede representar un riesgo para la transmisión de patógenos zoonóticos. Además, la localidad de Molas ha sido durante más de cinco años el sitio de referencia para el estudio de animales silvestres, sinantrópicos y domésticos, implicados en los ciclos de transmisión de *T. cruzi*. Características como la alta movilidad, amplia distribución y estructura social, pueden influir en el papel de los murciélagos como hospederos de muchos patógenos zoonóticos, incluyendo *T. cruzi* (Ramírez *et al.*, 2013). Sin embargo, los estudios de la prevalencia de *T. cruzi* en murciélagos son muy pocos en México y en otros países del mundo (Lima *et al.*, 2013; Córdova-Aldana *et al.*, 2013). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la variación espacio temporal de la frecuencia de infección con *T. cruzi* en murciélagos capturados en la localidad de Molas, Yucatán, México.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Enfermedad de Chagas (EC)

2.1.1. Distribución geográfica y epidemiología

El agente etiológico de la EC, *Trypanosoma cruzi*, es un parásito protozoario que adquiere formas flageladas en el torrente sanguíneo y fluidos biológicos, y una forma no flagelada (amastigote) en tejidos de animales y humanos infectados. Los vectores biológicos son insectos domésticos y silvestres de la subfamilia *Triatominae* (Hemiptera, familia Reduviidae) que se encuentran ampliamente distribuidos en América (Grayson, 2010).

La EC constituye un problema de salud pública en la mayoría de los países latinoamericanos; es endémica desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina, con la transmisión no vectorial emergente en otros países de América del Norte (Dorn *et al.*, 2007) y los países europeos (Schmunis, 2007).

La EC afecta principalmente a las poblaciones de escasos recursos en zonas marginadas, en las que el cuidado de la salud es a menudo insuficiente o de difícil acceso (Yun *et al.*, 2009). La persistencia de la EC como sucede con la mayoría de las enfermedades desatendidas, está ligada a procesos sociales, culturales, históricos, políticos y económicos (Reidpath, 2011). La OMS reconoce a la EC como una de las más desatendidas y su desigual distribución entre los países ilustra la compleja interacción de los factores sociales-culturales, biológicos y ambientales (Hotez *et al.*, 2007).

Aunque la EC fue una vez confinada al continente Americano, principalmente en América Latina, la migración desde países endémicos ha dado lugar a la aparición de la enfermedad en regiones no endémicas (Schmunis y Yadon, 2010; WHO, 2010). La EC ha superado las fronteras, y ya no se limita a los países endémicos, hoy en día, se puede encontrar en los Estados Unidos, Canadá, Europa, Japón y Australia, principalmente debido a la movilidad de la población (Fig. 1) (WHO, 2009).

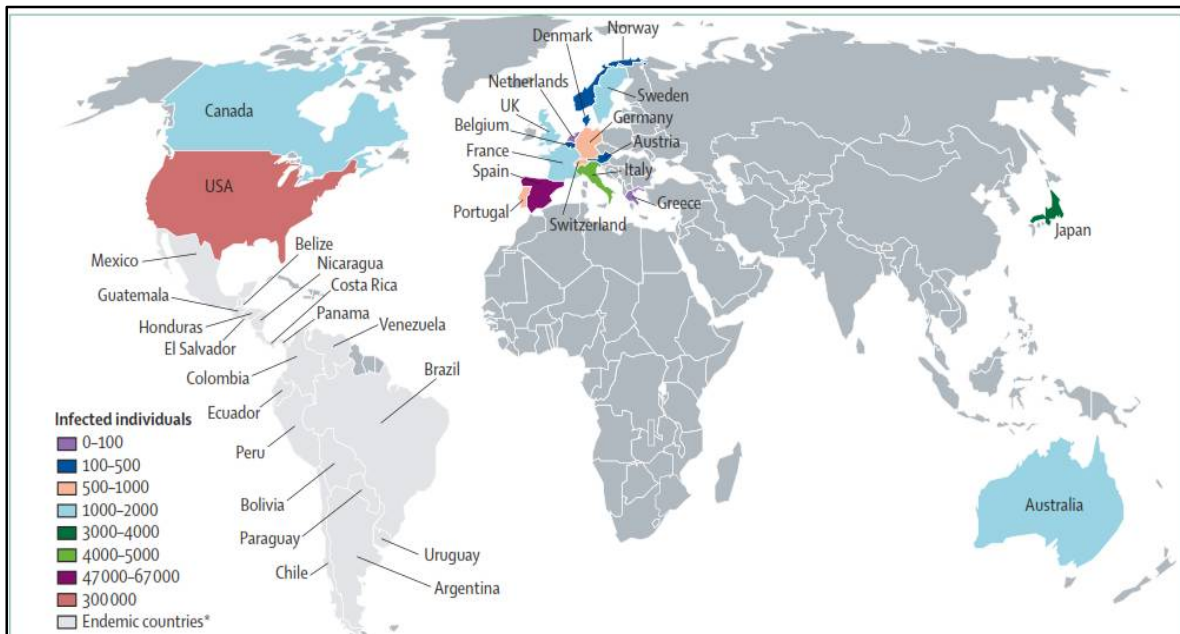


Figura 1. Distribución mundial de la enfermedad de Chagas. Tomado de Rassi *et al.*, 2010.

La Organización Panamericana de Salud (OPS), estimó que en la región latinoamericana, cerca de 100 millones de personas están en riesgo de contraer la infección y 8 millones ya están infectados (OPS, 2014). Por esta condición, la EC es considerada la cuarta causa de mortalidad en América Latina, causando cerca de 12 000 muertes cada año (WHO, 2010).

En México existen un total de 18 áreas endémicas de la EC, localizadas principalmente en el sureste, abarcando los estados de Oaxaca, Jalisco, Yucatán, Chiapas, Veracruz, Puebla, Guerrero, Hidalgo y Morelos así como sus áreas rurales. Sin embargo, también se ha observado una alta prevalencia en el noreste del país, en los estados de Hidalgo, San Luis Potosí, Veracruz y Tamaulipas (Fig. 2) (Carabarin *et al.*, 2013).

El censo poblacional nacional INEGI (2010) reportó 112.3 millones de personas en México. Con esta información y basándose en el porcentaje de seropositividad publicado por Cruz-Reyes y Pickering-López (2006), realizaron una estimación del número de personas infectadas con *T. cruzi* por estado, y el resultado indicó que el número de personas potencialmente afectadas en México es de 5.5 millones. Sin embargo, esta enfermedad aun sigue siendo subestimada, y por lo tanto, no hay datos reales de las instancias de salud sobre la carga y distribución de la enfermedad (Carabarin *et al.*, 2013).

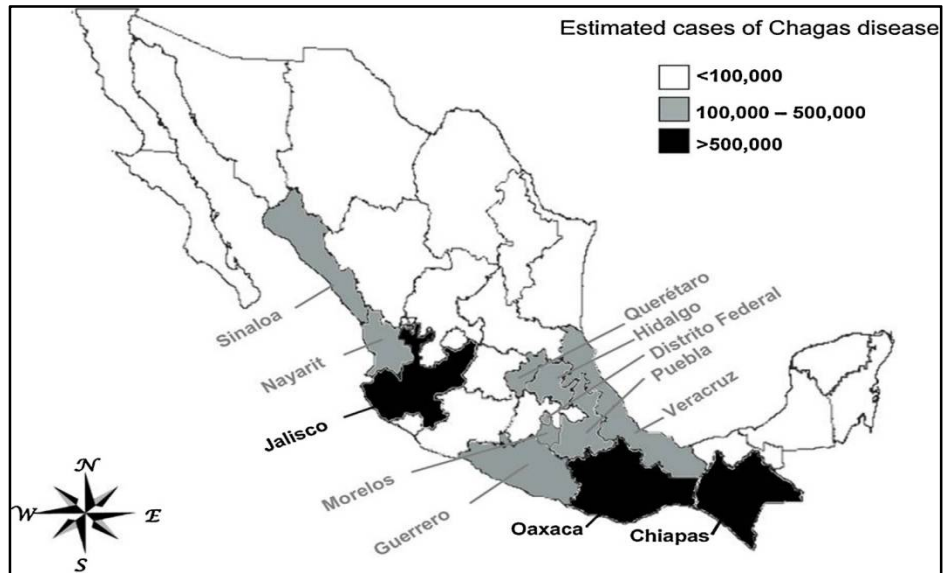


Figura 2. Áreas endémicas de la enfermedad de Chagas en México.
Tomado de Carabarin *et al.*, 2013

2.1.2. Fases de la enfermedad de Chagas

La infección con *T. cruzi* en seres humanos se ha dividido en fases agudas y crónicas sucesivas. El desarrollo de la enfermedad y los signos clínicos aún no han sido descritos en quirópteros.

En seres humanos, la fase aguda se presenta durante las primeras 4 semanas posterior a la entrada del parásito, donde la parasitemia es alta, por lo que el diagnóstico parasitológico se puede hacer mediante un examen microscópico directo de sangre fresca, pero dicha parasitemia disminuye de manera espontánea después de 4 a 8 semanas. Si la fase aguda de la EC no se trata, al paso de 10 a 30 años después de la infección inicial, aproximadamente el 30% de las personas infectadas experimentan la fase sintomática que se caracteriza por patologías graves que afecta principalmente al sistema cardíaco y gastrointestinal (Bern *et al.*, 2011, Prata, 2001). Durante la fase crónica, los parásitos se encuentran principalmente en los tejidos, lo que hace difícil o imposible el diagnóstico parasitológico directo (Ribeiro *et al.*, 2009). En esta fase, el diagnóstico se basa en pruebas serológicas y más recientemente en el diagnóstico molecular a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Nagarkatti *et al.*, 2012).

2.1.3. Diagnóstico

Los principales métodos para el diagnóstico de la EC son serológicos y las pruebas secundarias son parasitológicas (WHO, 2002). La Organización Mundial de la Salud recomienda el uso de al menos dos pruebas serológicas paralelas para el diagnóstico de la EC: una prueba de alta especificidad, como la hemoaglutinación indirecta (HAI) y una prueba de alta sensibilidad, como el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) o inmuno fluorescencia indirecta (IFI) (WHO, 2012). El ensayo de radioinmunoprecipitación (RIPA), se considera como la prueba de oro, sin embargo, no está ampliamente disponible, ya que sólo se realiza en algunas instituciones de investigación, es caro, requiere mucho tiempo, y utiliza radioisótopos, que hacen de su aplicación un procedimiento remoto (WHO, 2012).

Pruebas de cromatografía rápida con una mezcla de antígenos recombinantes para la detección de anticuerpos de *T. cruzi* en la sangre total y suero, se han aplicado en los países de América Latina y se obtuvieron resultados variables (Luquetti, 2003).

Por otra parte, se puede hacer una evaluación parasitológica, aunque la parasitemia está generalmente presente en la fase aguda, la infección inicial es raramente detectada, excepto en los casos, en que los síntomas agudos son graves. El diagnóstico de la infección aguda se basa en la detección microscópica de tripomastigotes en la sangre, y el microhematocrito, es el método de elección para identificar la infección congénita, debido a su mayor sensibilidad y la pequeña cantidad de sangre necesaria (Gómez *et al.*, 2009).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha demostrado ser una herramienta muy específica y sensible, y ha aumentado la sensibilidad de detección de parásitos como los tripanosomas, con gran impacto en los estudios epidemiológicos (Dávila *et al.*, 2003). Actualmente, no existen pruebas de PCR comerciales aprobadas y disponibles para el diagnóstico de la EC. Sin embargo, la PCR se ha utilizado ampliamente para detectar *T. cruzi* en la sangre (Nagarkatti *et al.*, 2012).

Las formas tripomastigotes de *T. cruzi* pueden ser detectados a través de la PCR, con una alta sensibilidad, durante la fase aguda de la enfermedad cuando circula un número alto de parásitos en individuos infectados (Teixeira *et al.*, 2006).

2.2 Agente causal (*Trypanosoma cruzi*)

2.2.1. Morfología

El parásito, como se muestra en la figura 3, presenta tres formas evolutivas (Muñoz-Saravia *et al.*, 2012):

a) Tripomastigote: es la forma infectante para los mamíferos y para el insecto vector. Se caracteriza por ser de aspecto fusiforme, mide 20 micras, presenta núcleo central y cinetoplasto subterminal del cual emerge una membrana ondulante que recorre el parásito en toda su longitud y cuyo borde libre lleva un flagelo que emerge por el extremo anterior. Se le encuentra en la sangre de mamíferos (sanguíneo) y en las heces del vector (metacíclico). No se divide.

b) Amastigote: es la forma intracelular del parásito, se aloja principalmente en los tejidos del músculo cardíaco y del sistema neurovegetativo del tubo digestivo. Es de forma redondeada, mide de dos a cuatro micras, posee núcleo y cinetoplasto. Se dividen por fisión binaria formando pseudoquistes conocidos como "nidos de amastigotes".

c) Epimastigote: es la forma libre que se multiplica por fisión binaria en el interior del tubo digestivo del vector. Es de aspecto fusiforme, mide 20 a 30 micras, presenta núcleo y cinetoplasto ubicados en la parte central del parásito, forma que también se desarrolla en medios de cultivo.

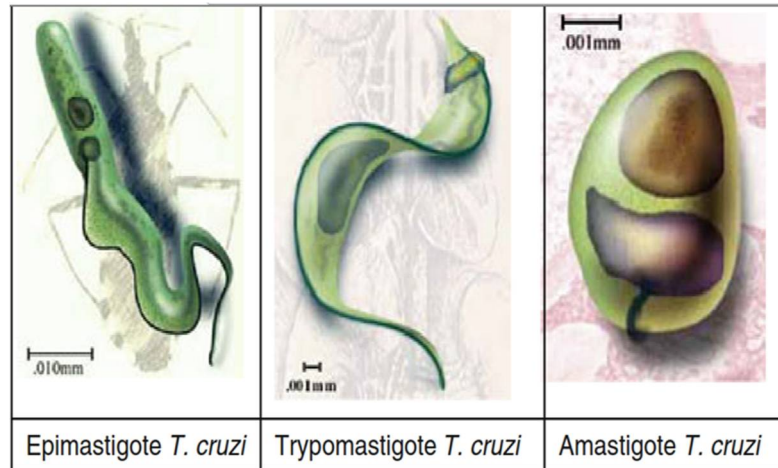


Figura 3. Estadios de desarrollo de *Trypanosoma cruzi*.
Tomado de Muñoz-Saravia *et al.*, 2012

2.2.2. Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*

Cuando el triatoma infectado succiona la sangre del mamífero, defeca y deposita sobre la piel las heces que contienen tripomastigotes metacíclicos, formas infectantes para los mamíferos. Los tripomastigotes atraviesan la piel erosionada por el rascado a causa de la picadura, y en ocasiones, por vía conjuntiva (Fig. 4). Posteriormente, los tripomastigotes se introducen en las células adyacentes y se transforman en amastigotes; después de multiplicarse rompen la célula que los hospeda y se diseminan en la sangre como tripomastigotes, e invaden los tejidos de órganos, sistemas y aparatos importantes como el corazón y plexos nerviosos del tubo digestivo, donde se reproducen como amastigotes.

Los tripomastigotes son la forma circulante en el torrente sanguíneo que infectan a una amplia variedad de células del hospedero y posteriormente se diferencian en las formas amastigotes replicativos intracelulares. Después de varias rondas de división binaria, los amastigotes se diferencian en tripomastigotes, que se liberan en el medio extracelular y el torrente sanguíneo. El ciclo repetitivo de la infección de células desencadena la fase aguda de la EC, que se caracteriza por la parasitemia sanguínea alta, amplio parasitismo en tejidos, y una fuerte respuesta inmune del hospedero (Dos Santos *et al.*, 2012).

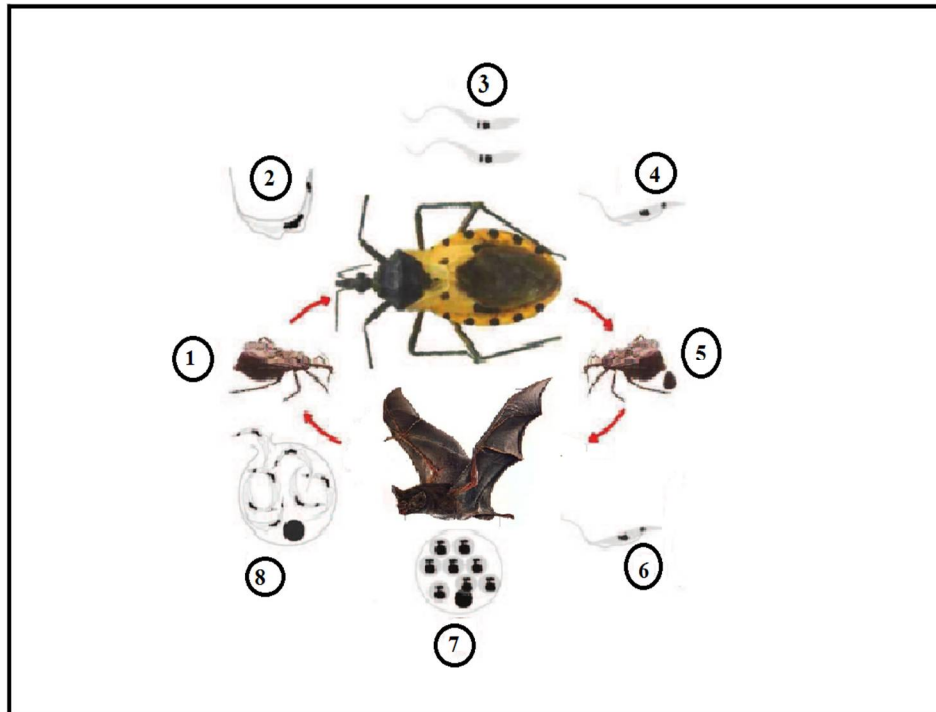


Figura 4. Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*. Vector: (1) el triatomino se alimenta del mamífero infectado, (2) los tripomastigotes llegan al estómago del triatomino, (3) se diferencian en epimastigotes, (4) se transforman en tripomastigotes metacíclicos en el intestino del triatomino y (5) éstos son eliminados en heces sobre el mamífero sano. Mamífero infectado: (6) los tripomastigotes penetran en las células del mamífero, (7) se diferencian en amastigotes y (8) se transforman en tripomastigotes sanguíneos en el mamífero (Clayton, 2010).

La EC presenta tres ciclos de transmisión creados a partir de la compleja interacción entre los vectores, reservorios y el ambiente: 1) silvestre o selvático, en donde en forma natural se encuentra circulando cepas de *T. cruzi* a través de diversos vectores y reservorios silvestres existiendo un balance natural entre éstos, 2) doméstico o intradomiciliario, en el cual el vector se ha adaptado a las viviendas y los reservorios son los animales domésticos, 3) peridoméstico, los vectores se establecen en las cercanías de las viviendas y salen a

buscar alimento, siendo los principales reservorios los animales domésticos y sinantrópicos (Teixeira *et al.*, 2009).

La heterogeneidad de *T. cruzi* consiste en una mezcla de cepas que circulan entre los hospederos mamíferos y los insectos vectores. Dicha heterogeneidad ha sido ampliamente estudiada a través de métodos biológicos, bioquímicos y moleculares, y podrían explicar la variabilidad de las manifestaciones clínicas de la EC y las diferencias geográficas en morbilidad y mortalidad (Manoel-Caetano y Silva, 2007). *T. cruzi* ha sido dividido en seis unidades discretas de tipificación (por sus siglas en inglés, DTU) llamadas, *T. cruzi* I (TcI), *T. cruzi* II (TcII), *T. cruzi* III (TcIII), *T. cruzi* IV (TcIV), *T. cruzi* V (TcV), *T. cruzi* VI (TcVI) (Zingales *et al.*, 2012). Sin embargo, debido a esta alta diversidad genética, nuevos genotipos han sido descritos, y uno de los más recientes ha sido llamado TcBat debido a su asociación con murciélagos en Brasil, Panamá y Colombia (Marcili *et al.*, 2009; Pinto *et al.*, 2012).

2.3. Formas de transmisión de *Trypanosoma cruzi*

El parásito *Trypanosoma cruzi* puede transmitirse de diferentes maneras (Fig. 5):

La principal forma de transmisión de *T. cruzi* es la vectorial (WHO, 2012), ya que del 85% al 96% de transmisión de *T. cruzi* al ser humano, se produce a través del contacto con heces infectadas de insectos de la subfamilia *Triatominae* (Reduviidae: Hemiptera). La infestación de los hogares por triatominos es el principal factor de riesgo asociado con la infección por *T. cruzi* en poblaciones humanas rurales y urbanas (Ramsey *et al.*, 2012). Por lo que las estrategias de los programas de control se dirigen principalmente a la reducción de las densidades de los vectores en domicilios humanos (Dias *et al.*, 2002).

Trypanosoma cruzi también se puede adquirir a través de una transfusión de sangre de un donante infectado, la probabilidad de infección oscila entre el 10 al 20%, y depende de factores, como la concentración de parásitos en la sangre del donante, el componente de la sangre transfundida, y la cepa del parásito (Bern *et al.*, 2008). Así mismo, durante el embarazo *T. cruzi* puede ser transmitido de una madre infectada a su feto, este tipo de transmisión se conoce como congénita y en humanos se produce con menor frecuencia que las enfermedades transmitidas por vectores y la transmisión transfusional (WHO, 2012). La

transmisión congénita no se limita a las zonas donde la enfermedad es endémica y se produce de una generación a otra (Carlier y Truyens, 2010). Este patrón de transmisión facilita la difusión de la infección del parásito durante largos períodos de tiempo. De acuerdo con los datos epidemiológicos de América Latina, el número estimado de casos de infección congénita por *T. cruzi* es 15 000 por año (PAHO, 2006). La infección congénita por *T. cruzi* es una infección aguda en los recién nacidos que debe ser tratado con la terapia anti-parasitario. Si no se trata, la infección puede progresar más tarde como EC crónica (Carlier *et al.*, 2011).

La EC transmitida por vía oral se ha convertido en la principal forma de transmisión en la cuenca del Amazonas y otras regiones donde el control de vectores triatominos intra domiciliarios y peri domésticos ha sido eficaz. Durante el periodo de 2000-2010, se registraron más de 1000 casos agudos en 138 brotes, principalmente en la Amazonia brasileña. De estos casos, 776 (71%) han sido atribuidos a la ingestión de alimentos y bebidas contaminadas (SVS, 2011).

En Brasil, la ingestión de alimentos como jugo de caña de azúcar, jugo de fruta, agua o la carne cruda contaminada con triatominos o sus heces se asocia generalmente con la infección parasitaria masiva, lo que resulta en la presentación clínica aguda más grave y de alta mortalidad (Bastos *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2009).

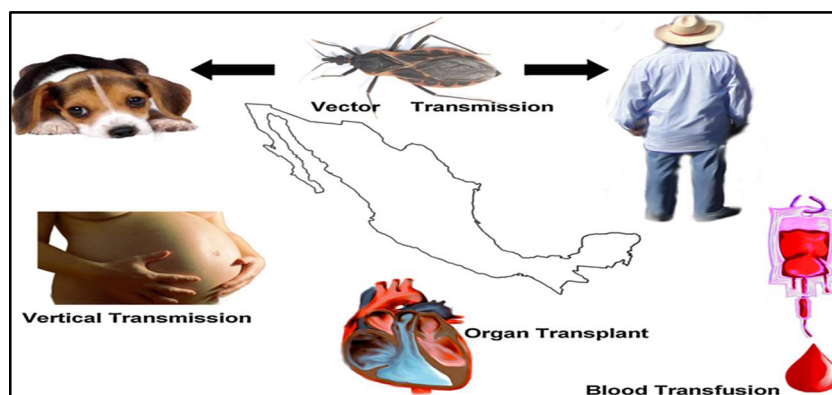


Figura 5. Formas de transmisión de *Trypanosoma cruzi*. Tomado de Carabarin *et al.*, 2013.

2.4. Vector biológico

Los vectores de *T. cruzi* son insectos triatominos hematófagos obligados, de la familia *Reduviidae* (subfamilia *Triatominae*) y tienen una amplia distribución geográfica que se extiende desde los Estados Unidos y México, el norte de Argentina y el sur de Chile (Grayson, 2010). Los triatominos pasan por cinco estadios de ninfa hasta llegar al estadio adulto, donde todos poseen la capacidad de transmitir *T. cruzi* (Rassi *et al.*, 2010).

Aunque existe un gran número de especies de vectores potenciales, la importancia de un vector dentro de una región particular depende en gran medida de sus hábitos de alimentación y la preferencia por los hospederos, así como de la ecología de la zona. Más de 130 especies de triatominos han sido identificadas, pero sólo algunas son vectores competentes para *T. cruzi* (Galvão *et al.*, 2003).

Las especies que son excepcionalmente importantes en el contexto epidemiológico son *Triatoma infestans* en Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay, Uruguay, Perú y Chile; *Rhodnius prolixus* en México, Colombia, Venezuela y algunos países de América central; *Triatoma dimidiata* en Ecuador, México, América central, y *Rhodnius pallescens* en Panamá (OPS, 2002).

Informes sobre los recursos alimenticios utilizados por varias especies de triatomas incluyen la sangre de los humanos, los perros domésticos, conejos, ovejas, zarigüeyas, cerdos, roedores, murciélagos, cabras, gallinas, lagartos y otros insectos (Pizarro y Stevens, 2008, Pizarro *et al.*, 2007, Mota *et al.*, 2007, Bosseno *et al.*, 2006, Breniere *et al.*, 2004).

En México, las especies epidemiológicamente relevantes en la transmisión de *T. cruzi* son *Triatoma phyllosoma* (Ramsey *et al.*, 2005), *T. rubida* (Pfeiler *et al.*, 2006) y *T. dimidiata* (Ramírez *et al.*, 2005).

En la península de Yucatán, el vector principal de la EC es *Triatoma dimidiata*, una especie de amplia distribución geográfica y que puede encontrarse en una variedad de ambientes (Zeledón, 1981), por lo que el conocimiento de aspectos clave sobre la biología y la ecología de *T. dimidiata* son necesarios para la implementación de programas de control exitosos. Con este fin, se ha realizado la caracterización de la distribución geográfica de

este vector, dando como resultado el entendimiento de que el patrón de transmisión natural ocurre por la invasión estacional de los hogares por triatomíneos selváticos o peridomésticos (Dumonteil *et al.*, 2002). Este patrón de transmisión implica un alto riesgo de re-infestación por triatomíneos no domiciliarios, incluso después de la limpieza convencional de los hogares con insecticida (Dumonteil *et al.*, 2004).

2.5. Hospederos

En el continente Americano, hay más de 150 especies de mamíferos silvestres y domésticos capaces de ser infectados con el parásito protozoario, convirtiéndose de esta manera en hospederos de *T. cruzi*. Algunos de éstos son catalogados como reservorios, ya que juegan un papel importante en el mantenimiento y la interacción de los ciclos domésticos, peridomésticos, y silvestres de la tripanosomiasis Americana (Rozas *et al.*, 2007). *T. cruzi* tiene la capacidad de parasitar vertebrados e infectar una amplia gama de hospederos animales, entre ellos una gran variedad de marsupiales, perezosos, osos hormigueros, armadillos, roedores, primates, carnívoros, murciélagos y algunos cerdos silvestres, así como una gran variedad de animales domésticos, incluidos perros, gatos, cerdos y probablemente cabras (Miles *et al.*, 2009).

Diferentes poblaciones de *T. cruzi* circulan en ciclos enzoóticos desde el sur de América del Norte hasta el sur de Sudamérica, infectando especies de prácticamente todos los órdenes de mamíferos (Gaunt y Miles, 2000).

2.6. Quirópteros como hospederos

Los murciélagos son considerados los únicos mamíferos capaces de volar. Estos organismos corresponden aproximadamente al 20% de las especies de mamíferos clasificados hasta la fecha (Teeling *et al.*, 2005). Según sus hábitos alimenticios, los murciélagos se agrupan en gremios tróficos como: insectívoros, frugívoros, piscívoros, polinívoros y hematófagos (murciélagos vampiros). Estos juegan un papel importante en la polinización de flores, dispersión de semillas y control de plagas (Hodgkison *et al.*, 2003). Los murciélagos son componentes importantes de las comunidades neo-tropicales, ya que ocupan una gran variedad de nichos ecológicos y con frecuencia son los mamíferos más abundantes en muchas zonas (Dietz y Kalko, 2006).

Los murciélagos son de los mamíferos más abundantes en los trópicos del nuevo Mundo, y algunos son hospederos de *T. cruzi* y un gran número de otros tripanosomas conocidos. Las especies de murciélagos neotropicales, incluyendo los géneros *Artibeus*, *Noctilio*, *Mormoops*, *Natalus*, *Pteronotus*, *Myotis*, *Carollia*, *Desmodus*, *Glossophaga*, *Phyllostomus* y *Molossus*, entre otros, se han reportado como susceptibles a la infección con *T. cruzi*, tanto en condiciones naturales como en condiciones experimentales. En los murciélagos neo-tropicales los tripanosomas más comunes son *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma cruzi marinkellei*, *Trypanosoma dionisii*, *Trypanosoma rangeli* y *Trypanosoma conorhunii* (García *et al.*, 2012). A pesar de la posible importancia epidemiológica de los murciélagos como reservorios para estos tripanosomas, la información acerca de sus vectores, y sobre la forma de propagación de la infección es escasa (Thomas *et al.*, 2007).

Aunque ha sido poco estudiado, el papel que juegan los murciélagos es considerado como un factor de riesgo para la EC. Los murciélagos infectados con *T. cruzi* han sido observados en varios nichos silvestres, así como en edificios abandonados, construcciones humanas y entornos del peridomicilio, en el que pueden atraer a los triatominos de ecotopos cercanos y servir como fuente de alimento para estos insectos vectores (Thomas *et al.*, 2007). Recientemente se ha informado que los murciélagos pueden ser infectados con *T. cruzi* por transmisión congénita (Añez *et al.*, 2009).

A pesar de la limitada evidencia experimental, los artrópodos hematófagos pueden actuar como vectores de tripanosomas entre murciélagos. *T. cruzi* puede ser transmitido por triatominos que comparten el hábitat con los murciélagos. La mayoría de los murciélagos infectados con tripanosomas son insectívoros y las infecciones también pueden ocurrir a través de la ingestión de artrópodos infectados (Molyneux, 1991).

Dada la importancia de los murciélagos en los ciclos de transmisión, se han desarrollado trabajos alrededor del mundo que han reportado prevalencias variables de este protozooario empleando diferentes pruebas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Prevalencia de infección en murciélagos con *Trypanosoma cruzi* y otras especies de tripanosomas, empleando distintas técnicas de diagnóstico.

País	Especies de Murciélagos	Técnica de diagnóstico	Prevalencia (%)	Especies de <i>Trypanosoma</i>	Referencia
Inglaterra	<i>Pipistrellus leisleri</i> , <i>Nyctalus noctula</i> , <i>Eptesicus serotinus</i> y <i>Myotis brandti</i>	FS	(98/491) 20 %	<i>T. dionisii</i> y <i>T. vesperilionis</i>	Gardner y Molyneux, 1988
Kenia	Emballonuridae, Vespertilionidae y Molossidae	MH	(90/427) 21%	<i>T. vesperilionis</i> , <i>T. heybergi</i> y <i>T. mpapuense</i>	Woo y Hawkins, 1975
Mozambique	<i>Mops</i> y <i>Tadarida</i>	HE	(6/24) 25%	<i>T. erneyi</i> sp.	Lima et al., 2012
Mozambique	<i>Rhinolophus landeri</i>	MH	(15/37) 40%	<i>Trypanosoma</i> sp.	Lima et al., 2013
Colombia	<i>Noctilio labialis</i> , <i>Artibeus lituratus</i> , <i>Phyllostomus hastatus</i> , <i>Molossus</i> spp., <i>Myotis</i> spp., <i>Carollia perspicillata</i>	XE y HE	(1790/19 885) 9%	<i>Schizotrypanum</i> spp	Marinkelle, 1982
Colombia	<i>Carollia perspicillata</i> , <i>Myotis oxyotus</i> , <i>Desmodus rotundus</i> , <i>Artibeus planirostris</i>	PCR	(107/175) 61.2%	<i>T. cruzi</i> , <i>T. marinkellei</i> , <i>T. dionisii</i> .	Ramírez et al., 2013
Panamá	<i>Artibeus jamaicensis</i>	PCR	(25/216) 11.6%	<i>T. cruzi</i>	Pinto et al., 2012
Brasil	<i>Desmodus</i> y <i>Sturnira</i>	PCR	(2/23) 8.7%	<i>T. evansi</i>	Herrera et al., 2005
Brasil	Vespertilionidae, Noctilionidae y Phyllostomidae	HE	(10/77) 12.9%	<i>T. cruzi</i> , <i>T. marinkellei</i> y <i>T. dionisii</i>	Cavazzana et al., 2010
México	<i>Artibeus jamaicensis</i> , <i>Sturnira lilium</i> , <i>Glossophaga soricina</i> y <i>Choeronycteris mexicana</i> .	FS	(7/34) 21%	<i>T. cruzi</i>	Villegas-García y Santillán-Alarcón, 2001
México	<i>Artibeus jamaicensis</i> , <i>Pteronotus pamellii</i> , <i>Sturnira lilium parvidens</i> , <i>Desmodus rotundus murinus</i> y <i>Leptonycteris curasoae yerbabuenae</i>	FS	(79/140) 56%	<i>T. cruzi</i>	Villegas-García y Santillán-Alarcón, 2004
FS=Frotis sanguíneo	MH= Micro hematocrito	HE= Hemocultivo	XE= Xenodiagnóstico	PCR=Reacción en Cadena de la Polimerasa	

En el Cuadro 1 se observa que en los países de América y en México, el género *Artibeus* habitante de las selvas tropicales aparece frecuentemente con individuos infectados con alguna especie del género *Trypanosoma*, siendo *T. cruzi* el más frecuente. Por lo tanto, *Artibeus* es el que presenta mayor prevalencia de infección.

Las prevalencias de infección con tripanosomas encontradas en Sudamérica varían ampliamente de acuerdo al método de detección utilizado. La combinación de los métodos de microhematocrito y hemocultivo demuestra una buena opción para el diagnóstico de tripanosomas en murciélagos.

3. HIPÓTESIS

Los murciélagos capturados en los patios de las casas de la localidad de Molas, Yucatán, pueden actuar como hospederos de *T. cruzi*.

4. OBJETIVO GENERAL

Determinar la variación espacial y temporal de la frecuencia de infección con *T. cruzi* en murciélagos capturados en la localidad de Molas, Yucatán, México.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estimar la abundancia y diversidad de los murciélagos capturados en patios de la localidad de Molas, Yucatán.
2. Estimar la frecuencia de infección con *T. cruzi* mediante la prueba de PCR de punto final, en quirópteros de la localidad de Molas, Yucatán,
3. Analizar las frecuencias de infección encontradas entre especies de murciélagos y los meses de estudio, para explorar si existe asociación entre hospedero-mes.

5. REFERENCIAS

- Añez, N., Crisante, G., Soriano, P. J., 2009. *Trypanosoma cruzi* congenital transmission in wild bats. *Acta Tropica*. 109: 78–80.
- Bastos, C.J., Aras, R., Mota, G., 2010. Clinical outcomes of thirteen patients with acute Chagas disease acquired through oral transmission from two urban outbreaks in northeastern Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 4:e711.
- Bern, C., Martin, D.L., Gilman, R.H., 2011. Acute and congenital Chagas disease. *Adv Parasitol*. 75: 19–47.
- Bern, C., Montgomery, S.P., Katz, L., Caglioti, S., Stramer, S.L., 2008. Chagas disease and the US blood supply. *Curr Opin Infect Dis*. 21: 476–82.
- Bosseno, M.F., Garcia, L.S., Baunaure, F., Gastelum, E.M., Gutiérrez, M.S., *et al.*, 2006. Identification in triatomine vectors of feeding sources and *Trypanosoma cruzi* variants by heteroduplex assay and a multiplex miniexon polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg*. 74: 3032305.
- Breniere, S.F., Pietrokovsky, S., Gastelum, E.M., Bosseno, M.F., Soto, M.M., *et al.*, 2004. Feeding patterns of *Triatoma longipennis* Usinger (Hemiptera, Reduviidae) in peridomestic habitats of a rural community in Jalisco State, Mexico. *J Med Entomol*. 41: 101521020.
- Carabarin, L.A, González, V. M., Rodríguez, M. O., Baylón, P. L., Rosales, E. J., *et al.*, 2013. Chagas disease (American Trypanosomiasis) in Mexico: An update. *Acta Tropica*. 127: 126– 135.
- Carlier, Y., Torrico, F., Sosa-Estani, S., Russomando, G., Luquetti, A., *et al.*, 2011. Congenital Chagas disease: Recommendations for Diagnosis, Treatment and Control of Newborns, Siblings and Pregnant Women. *PLoS Negl Trop Dis*. 5(10): e1250.

- Carlier, Y., Truysens, C., 2010. Maternal-fetal transmission of *Trypanosoma cruzi*. In: Telleria J, Tibayrenc M, eds. American Trypanosomiasis: Chagas disease, one hundred years of research. UK, USA: Elsevier. Chapter 22. p 539–581.
- Cavazzana, M. Jr., Marcili, A., Lima, L., da Silva, F.M., Junqueira, A.C., *et al.*, 2010. Phylogeographical, ecological and biological patterns shown by nuclear (ssrRNA and gGAPDH) and mitochondrial (Cyt b) genes of trypanosomes of the subgenus *Schizotrypanum* parasitic in Brazilian bats. *Int J Parasitol.* 40:345–355.
- Clayton, J., 2010. Chagas disease 101. *En: Nature.* 465 (S):4-5.
- Córdova-Aldana, D.I, Escobedo- Ortegón, J. E., Hernández –Betancourt, S., Ruiz-Piña, H.A., 2013. Los murciélagos en el ciclo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en el peridomicilio rural. p. 234-246, *En: Estudios multidisciplinares de las enfermedades zoonóticas y ETVs en Yucatán (J. Pacheco Castro, J.A. Lugo Pérez, L. Tzuc Canché y H.A. Ruíz Piña, coord.). Ed. Universidad Autónoma de Yucatán.* 283 p.
- Cruz-Reyes, A., Pickering-Lopez, J.M., 2006. Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years—a review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 101: 345–354.
- Davila, A.M., Herrera, H.M., Schlebinger, T., Souza, S.S., Traub-Cseko, Y.M., 2003. Using PCR for unraveling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomosis in the Pantanal, Brazil. *Vet Parasitol.* 117:1–13
- Dias, J.C., Silveira, A.C., Schofield, C.J., 2002. The impact of Chagas disease control in Latin America: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 97: 603–612.
- Dietz, M., Kalko, E., 2006. Seasonal changes in daily torpor patterns of free-ranging female and male Daubenton’s bats, *Myotis daubentonii*. *J. Com. Phys.* 176, 223–231
- Dorn, P.L., Perniciaro, L., Yabsley, M.J., Roelling, D.M., Balsamo, G., *et al.*, 2007. Autochthonous transmission of *Trypanosoma cruzi*, Louisiana. *Emerg Infect Dis.* 13: 605–607.

- Dos Santos, S.L., Freitas, L.M., Lobo, F.P., Rodrigues-Luiz, G.F., Mendes, T.A., *et al.*, 2012. The MASP Family of *Trypanosoma cruzi*: Changes in Gene Expression and Antigenic Profile during the Acute Phase of Experimental Infection. *PLoS Negl Trop Dis.* 6(8): e1779.
- Dumonteil, E., Ruiz-Piña, H., Rodriguez-Felix, E., Barrera-Pérez, M., Ramírez-Sierra, M.J., *et al.*, 2004. Reinfestation of houses after intra-domicile insecticide application in the Yucatán peninsula, Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 99: 253–256.
- Dumonteil, E., Gourbiere, S., Barrera-Pérez, M., Rodriguez-Felix, E., Ruiz-Piña, H., *et al.*, 2002. Geographic distribution of *Triatoma dimidiata* and transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* in the Yucatan peninsula of Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 67: 176–183.
- Galvão, C., Carcavallo, R., Rocha, D.S., Jurberg, J. A., 2003. Checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa.* 202: 1–36.
- García, L., Ortiz, S., Osorio, G., Torrico, M.C., Torrico, F., *et al.*, 2012. Phylogenetic analysis of bolivian bat trypanosomes of the subgenus schizotrypanum based on cytochrome b sequence and minicircle analyses. *PLoS One.* 7: e36578.
- Gardner, R.A., Molyneux, D.H., 1988. Schizotrypanum in British bats. *Parasitology.* 97: 43–50.
- Gaunt, M., Miles, M., 2000. The ecotopes and evolution of triatomine bugs (triatominae) and their associated trypanosomes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 95: 557–565.
- Gomes, Y.M., Lorena, V.M., Luquetti, A.O., 2009. Diagnosis of Chagas disease: what has been achieved? What remains to be done with regard to diagnosis and follow up studies? *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104: 115–21.

- Grayson, M. 2010. Chagas disease. *Nature* 465, S3 doi:10.1038/465S3a
- Herrera, H.M., Norek, A., Freitas, T.P., Rademaker, V., Fernandes, O., *et al.*, 2005. Domestic and wild mammals infection by *Trypanosoma evansi* in a pristine area of the Brazilian Pantanal region. *Parasitol Res.* 96: 121–126.
- Hodgkison, R., Balding, S.T., Zubaid, A., Kunz, T.H., 2003. Fruit bats, chiroptera: pteropodidae as seed dispersers and pollinators in a lowland Malaysian rain forest. *Biotropica.* 35: 491–502
- Hotez, P.J., Molyneux, D.H., Fenwick, A., Kumaresan, J., Sachs, S.E., *et al.*, 2007. Control of neglected tropical diseases. Review article. *The New England J. of Medicine.* 7; 357:1018–27.
- Ibáñez-Cervantes, G., Martínez-Ibarra, A., Noguera-Torres, B., López-Orduña, E., Alonso, A. L., *et al.*, 2013. Identification by Q-PCR of *Trypanosoma cruzi* lineage and determination of blood meal sources in triatomine gut samples in México. *Parasitology International.* 62(1): 36-43.
- INEGI- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Demografía y Población., 2010. Disponible en página WEB: [http:// www.inegi.org.mx/](http://www.inegi.org.mx/); consultado el : 25-09-2013.
- Lima, L., Espinosa-Álvarez, O., Hamilton, P. B., Neves, L., Takata, C. S., *et al.*, 2013. *Trypanosoma livingstonei*: a new species from African bats supports the bat seeding hypothesis for the *Trypanosoma cruzi* clade. *Parasites & Vector.* 1: 221.
- Lima, L., Da Silva, F.M., Neves L., Attias, M., Takata, C., *et al.*, 2012. Evolutionary Insights from Bat Trypanosomes: Morphological, Developmental and Phylogenetic Evidence of a New Species, *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *erneyi* sp. nov., in African Bats Closely Related to *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* and Allied Species. *Protist.* 163: 856–872.
- Linhares, A.X., 1981. Synanthropy of Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera) in the city of Campinas, Sao Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 25 (3): 189-215.

- Luquetti, A. O., 2003. Chagas' disease diagnosis: a multicentric evaluation of Chagas Stat-Pak, a rapid immunochromatographic assay with recombinant proteins of *Trypanosoma cruzi*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 46:265–271.
- McFarlane, R., A. Sleight, T. McMichael., 2012. Synanthropy of wild mammals as a determinant of emerging infectious diseases in the Asian-Australasian region. *EcoHealth*, Doi:10.1007/s10393-012-0763-9.
- Manoel-Caetano, F.S., Silva, A.E., 2007. Implications of genetic variability of *Trypanosoma cruzi* for the pathogenesis of Chagas disease. *Cad Saude Pública*. 23: 2263–74.
- Marcili, A., Lima, L., Cavazzana, M.J., Junqueira, A.C.V., Veludo, H.H., *et al.*, 2009. A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. *Parasitology*. 136: 641–655.
- Marinkelle, C.J., 1982. Prevalence of *Trypanosoma cruzi*-like infection of Colombian bats. *Ann Trop Med Parasitol*. 76: 125–134.
- Marroquín-Lavadores, E.G. Determinación de la infección con *Trypanosoma cruzi* en el vampiro común *Desmodus rotundus* en diez localidades del estado de Yucatán, México. Tesis. Universidad Autónoma de Yucatán. 57pp.
- Miles, M.A., Llewellyn, M.S., Lewis, M.D., Yeo, M., Baleela, R., *et al.*, 2009. The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on Leishmania: looking back and to the future. *Parasitology*. 136: 1509–1528.
- Molyneux, D.H., 1991. Trypanosomes of bats. In: Kreier, J.P., Baker, J.R. (Eds.), *Parasitic Protozoa*. Academic Press, New York. 95–223 pp.

- Mota, J., Chacon, J.C., Gutiérrez-Cabrera, A.E., Sánchez-Cordero, V., Wirtz, R.A., *et al.*, 2007. Identification of blood meal source and infection with *Trypanosoma cruzi* of Chagas disease vectors using a multiplex cytochrome b polymerase chain reaction assay. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 7: 6172627.
- Muñoz-Saravia, S. G., Sucre, S. B. H., Berlin, C.-U., Haberland, A., Wallukat, G., *et al.*, 2012. Chronic Chagas' heart disease: a disease on its way to becoming a worldwide health problem: epidemiology, etiopathology, treatment, pathogenesis and laboratory medicine. *Heart Fail. Rev.* 1: 45-64.
- Mbaya, A. W., Maiduguri, U. O., Aliyu, M. M., 2009. The clinico-pathology and mechanisms of trypanosomosis in captive and free-living wild animals: A review. *Vet. Research Communications.* 7: 793-809.
- Nagarkatti, R., Bist, V., Sun, S., Fortes de Araujo, F., Nakhasi, H.L., *et al.*, 2012. Development of an Aptamer-Based Concentration Method for the Detection of *Trypanosoma cruzi* in Blood. *PLoS ONE.* 7(8): e43533.
- OPS- Organización Panamericana de la Salud., 2014. Enfermedad de Chagas. Disponible en:http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=10&Itemid=40743. Consultado el 17 de octubre de 2014.
- OPS- Organización Panamericana de la Salud., 2002. La salud en las Américas [Health in the Americas].
- PAHO- Pan American Health Organization. 2006. Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas [Quantitative estimation of Chagas disease in the Americas]. OPS/HDM/ CD/425-06. Washington (D.C.): Pan American Health Organization.
- Panti, M.J. Pequeños roedores como huéspedes de *Trypanosoma cruzi* en viviendas de la localidad de Molas, Yucatán, México. Tesis. Universidad Autónoma de Yucatán. 53pp.

- Parada-López, J., Hernández-Betancourt, S. F., Ruiz-Piña, H. A., Escobedo-Ortegón, F. J., Medina-Peralta, S., *et al.*, 2013. *Trypanosoma cruzi* Infection in *Didelphis virginiana* in Relation to Population Parameters and Variables Associated with Presence in Rural Community Dwellings in Yucatan, Mexico. *EcoHealth*. 10:31-35
- Pereira, K.S., Schmidt, F.L., Guaraldo, A.M., Franco, R.M., Dias, V.L., *et al.*, 2009. Chagas disease as a foodborne illness. *J Food Prot*. 72: 441–46.
- Pfeiler, E., Bitler, B.G., Ramsey, J.M., Palacios-Cardiel, C., Markow, T.A., 2006. Genetic variation, population structure, and phylogenetic relationships of *Triatoma rubida* and *Triatoma recurva* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from the Sonoran Desert, insect vectors of the Chagas' disease parasite *Trypanosoma cruzi*. *Mol Phylogenet Evol*. 41: 209–221.
- Pinto, C.M., Kalko, E.K.V., Cottontail, I., Wellinghausen, N., Cottontail, V.M., 2012. TcBat a bat-exclusive lineage of *Trypanosoma cruzi* in the Panama Canal Zone, with comments on its classification and the use of the 18S rRNA gene for lineage identification. *Infect. Genet. Evol*. 12: 1328–1332.
- Pizarro, J.C., Lucero, D., Stevens, L., 2007. A method for the identification of guinea pig blood meal in the Chagas disease vector, *Triatoma infestans*. *Kinetoplastid Biol Dis*. 6:1.
- Pizarro, J.C., Stevens, L., 2008. A new method for forensic DNA analysis of the blood meal in chagas disease vectors demonstrated using *Triatoma infestans* from Chuquisaca, Bolivia. *PLoS One*. 3: e3585.
- Pool-Chi, N.A. Frecuencia de *Trypanosoma cruzi* en una selva al norte de Yucatán. Tesis. Universidad Autónoma de Yucatán. 53pp.
- Prata, A., 2001. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis*. 1: 92–100.

- Ramírez, C.J., Jaramillo, C.A., del Pilar Delgado, M., Pinto, N.A., Aguilera, G., *et al.*, 2005. Genetic structure of sylvatic, peridomestic and domestic population of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) from an endemic zone of Boyaca, Colombia. *Acta Trop.* 93: 23–29.
- Ramírez, J. D., Tapia-Calle, G., Muñoz-Cruz, G., Poveda, C., Rendón, L. M., *et al.*, 2013. Trypanosome species in neo-tropical bats: Biological, evolutionary and epidemiological implications. *Inf., Genetics and Evol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2013.06.022>.
- Ramsey, J.M., Gutiérrez-Cabrera, A.E., Salgado-Ramírez, L., Peterson, A.T., Sánchez-Cordero, V., *et al.* 2012. Ecological Connectivity of *Trypanosoma cruzi* Reservoirs and *Triatoma pallidipennis* Hosts in an Anthropogenic Landscape with Endemic Chagas disease. *PLoS ONE* 7(9): e46013. doi:10.1371/journal.pone.0046013.
- Ramsey, J.M., Alvear, A.L., Ordonez, R., Muñoz, G., Garcia, A., *et al.*, 2005. Risk factors associated with house infestation by the Chagas disease vector *Triatoma pallidipennis* in Cuernavaca metropolitan area, Mexico. *Med Vet Entomol.* 19: 219–228.
- Ramsey, J.M., Lehmann, P., Monroy, C., 2003. Morphometric analysis of Mexican and Guatemalan populations of *Triatoma dimidiata*. XXX Annual meeting on basic research in Chagas disease — XIX meeting of the Brazilian society of protozoology VECTORS (VE), Brazil. *Revista do Inst. de Med. Trop. de São Paulo.* 45: 198.
- Rassi, Jr., A., Rassi, A., Marín-neto, J.A., 2010. Chagas disease. *Lancet.* 375: 1388–402.
- Reidpath, D., Allotey, P., Pokhrel, S., 2011. Social sciences research in neglected tropical diseases 2: A bibliographic analysis. *Health Research Policy and Systems.* 9:1. doi:10.1186/1478-4505-9-1.
- Ribeiro, I., Sevcsik, A-M., Alves, F., Diap, G., Don, R., *et al.*, 2009. New, Improved Treatments for Chagas disease: From the R&D Pipeline to the Patients. *PLoS Negl Trop Dis.* 3(7): e484.

- Rozas, M., Botto-Mahan, C., Coronado, X., Ortiz, S., Cattán, P.E., *et al.*, 2007. Coexistence of *Trypanosoma cruzi* Genotypes in Wild and Peridomestic Mammals in Chile. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 77(4): 647–653.
- Ruiz-Piña, H., Cruz-Reyes, A., 2002. The opossum *Didelphis virginiana* as a synanthropic reservoir of *Trypanosoma cruzi* in Dzildzilché, Yucatán, México. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 5: 613-620.
- Ruiz-Piña, H., N. Van Wynsberghe., 2002. Infección natural con *Trypanosoma cruzi* en roedores silvestres de la Península de Yucatán. VI Congreso Nacional de Mastozología. Oaxaca. Sociedad Mexicana de Mastozología. México.
- Schmunis, G.A., Yadon, Z.E., 2010. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta Tropica.* 115: 14–21.
- Schmunis, G.A., 2007. The globalization of Chagas disease. *ISBT Science Series.* 2: 6–11.
- SVS (Secretaria de Vigilância em Saúde). Aspectos epidemiológicos—Casos de Doença de Chagas aguda, 2000–2010. Brasil, Fonte: SVS/MS, dados até, 2011. Available at:http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt531454.
- Teeling, E.C., Springer, M.S., Madsen, O., Bates, P., O'Brien, S.J., *et al.*, 2005. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. *Science.* 307: 580–584.
- Teixeira, L.A., Gomes, C., Lozzi, P.S., Hecht, M.M, Rosa, A.C., *et al.*, 2009. Environment, interactions between *Trypanosoma cruzi* and its host, and health. *Cadernos de Saúde Pública.* 25 (1):32-34.
- Teixeira, A.R., Nascimento, R.J., Sturm, N.R., 2006. Evolution and pathology in Chagas disease—a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 101:463–491.
- Teixeira, A.R., Nitz, N., Guimaro, M.C., Gomes, C., Santos-Buch, C.A., 2006. Chagas disease. *Postgrad Med J.* 82: 788–798.

- Thomas, M. E., Rasweiler, J.J., D' Alessandro., 2007. Experimental transmission of the parasitic flagellates *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* between triatomine bugs or mice and captive neotropical bats. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 102(5): 559-565.
- Villegas-García, J.C., Santillán-Alarcón, S., 2001. Sylvatic focus of American Trypanosomiasis in the State of Morelos, Mexico. Rev. Biol. Trop., 49(2): 685-688.
- Villegas-García, J.C., Santillán-Alarcón, S., 2004. American Trypanosomiasis in central Mexico: *Trypanosoma cruzi* infection in triatomine bugs and mammals from the municipality of Jiutepec in the state of Morelos. Annals of Tropical Medicine & Parasitology. 5: 529–532.
- WHO- World Health Organization., 2012. Technical report series, No 975. Research priorities for Chagas disease, human African Trypanosomiasis and leishmaniasis.
- WHO- World Health Organization. Dept. of Control of Neglected Tropical Diseases., Crompton DWT, Daumerie D, Peters P, Savioli L, *et al.*, 2010. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: first WHO report on neglected tropical diseases. Geneva, Switzerland: World Health Organization. ix, 172 pp.
- WHO- World Health Organization., 2009. Control and prevention of Chagas disease in Europe. Report of a WHO Informal Consultation. Available: http://www.fac.org.ar/1/comites/chagas/Chagas_WHO_Technical%20Report_16_00_10.pdf.
- WHO- World Health Organization., 2003. Control of Chagas disease: second report of the WHO expert committee. Technical report series 905. Geneva, Switzerland.
- WHO- World Health Organization., 2002. Control of Chagas disease, Technical Report series No. 905. Geneva, 66 pp.
- Woo P.T., Hawkins, J.D., 1975. Trypanosomes and experimental trypanosomiasis in East African bats. Acta Trop. 32: 57–64.

Yun, O., Lima, M.A., Ellman, T., Chambi, W., Castillo, S., *et al.*, 2009. Feasibility, Drug Safety, and Effectiveness of Etiological Treatment Programs for Chagas Disease in Honduras, Guatemala, and Bolivia: 10-Year Experience of Médecins Sans Frontières. PLoS Negl Trop Dis. 3(7): e488.

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

Zingales, B., Miles, M. A., Campbell, D. A., Tibayrenc, M., Macedo, A. M., *et al.*, 2012. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. Infec., Genetics and Evol. 2: 240-253.

6. ARTÍCULO CIENTÍFICO

En formato de revista VECTOR-BORNE AND ZONOTIC DISEASES

“Frecuencia de infección con *Trypanosoma cruzi* en murciélagos capturados en la localidad de Molas, Yucatán, México”

Florencio Jedion Tuz-Chan¹, Celia Isela Sélem-Salas¹, Hugo Antonio Ruiz-Piña² y Javier Escobedo-Ortegón².

Resumen

La tripanosomiasis Americana es una enfermedad parasitaria compleja, ocasionada por *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). A pesar de la importancia de los murciélagos como hospederos de *T. cruzi*, son pocos los trabajos realizados en México, especialmente en la península de Yucatán. El objetivo de este trabajo fue determinar la variación espacio temporal de la frecuencia de infección con *T. cruzi* en murciélagos capturados en la localidad de Molas, Yucatán, México. Se seleccionaron doce viviendas en la localidad y se colocaron dos redes de niebla en el patio de cada vivienda de octubre de 2013 a septiembre de 2014, por cuatro noches consecutivas por mes para el proceso de muestreo. Se capturaron 533 individuos pertenecientes a ocho especies y seis géneros, incluidos en las familias Phyllostomidae, Vespertilionidae y Mormoopidae. La sangre de 488 individuos se analizó por PCR utilizando cebadores específicos para *T. cruzi* y el estuche comercial Phusion blood direct PCR kit; Finnzymes Oy, Espoo, Finland, F-547L. Resultaron positivos a la infección 19 murciélagos: *Artibeus jamaicensis* 1.95% (7/358), *Sturnira parvidens* 10.5% (6/57), *Glossophaga soricina* 8.3% (5/60) y *Rhogeessa aeneus* 25% (1/4). De los 11 meses muestreados, se encontraron individuos infectados en febrero, marzo, mayo, junio y julio, la mayor frecuencia de infección se encontró en febrero en *S. parvidens* y durante este mes hubo infección en cuatro de las seis especies capturadas. En contraste, la infección en *G. soricina* se presentó durante cuatro meses y la de *A. jamaicensis* se presentó durante tres. Nuestros resultados indican que los murciélagos tienen un potencial como hospederos y sugieren considerar la participación de los quirópteros en el ciclo de transmisión de *T. cruzi*.

Palabras clave: Frecuencia –*Trypanosoma cruzi* – Murciélago – Hospedero – Yucatán, México.

¹ Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán. Km. 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, AP 4-116, Mérida, Yucatán, México.

² Laboratorio de Parasitología, Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi”, Universidad Autónoma de Yucatán, Apartado Postal 1247-A, C.P. 97240, Mérida, Yucatán, México.

Introducción

La tripanosomiasis Americana o enfermedad de Chagas (EC) es reconocida como una zoonosis compleja causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, que se presenta desde el sur de los Estados Unidos hasta Sudamérica (WHO, 2002). Se considera a la EC como una patología parasitaria que ocasiona estragos en la salud pública y economía en América Latina (Muñoz-Saravia *et al.* 2012). En 2003, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó que la EC causó más muertes que ninguna otra enfermedad parasitaria en América Latina (WHO, 2003). Recientemente, se estimó que alrededor del mundo existen 8 millones de personas infectadas, principalmente en América Latina (OPS, 2014). En México, algunos estudios han reportado un incremento en la prevalencia de *T. cruzi*, donde la incidencia de la EC es de aproximadamente 69 000 casos por año, y el 5 al 6 % de los casos muere a causa de la enfermedad (Ramsey *et al.* 2003; Ibáñez-Cervantes *et al.* 2013).

La dificultad para controlar ésta zoonosis se debe a la participación de un gran número de hospederos y/o reservorios naturales vertebrados e insectos triatominos. En Estados Unidos se demostró que los mapaches (*Procyon lotor*) y las zarigüeyas (*Didelphis virginiana*) tienen una alta prevalencia de infección con *T. cruzi*, por lo tanto, se les consideró reservorios principales (Roellig *et al.* 2009). En Yucatán se ha encontrado como reservorios importantes de *T. cruzi* la zarigüeya (*D. virginiana*) (Ruiz-Piña y Cruz-Reyes, 2002, Parada-López *et al.* 2013) y también algunos roedores silvestres y sinantrópicos (Ruiz y Van Wynsberghe, 2002; Panti, 2011). El término sinantrópico se aplica a especies de plantas y animales silvestres que viven cerca y se benefician de los hábitat artificiales creados por los humanos a su alrededor (Linhares, 1981). Sin embargo, la relación entre mamíferos sinantrópicos y personas generan condiciones de riesgo para la transmisión de agentes zoonóticos (McFarlane, 2012). Por lo tanto, las investigaciones buscan identificar mamíferos reservorios de *T. cruzi*, sobretodo, aquellos que tienen participación sinantrópica. En Yucatán, recientemente se han encontrado evidencias de que los murciélagos también pueden ser hospederos de este parásito, ya que mediante la técnica de PCR se encontró ADN de *T. cruzi* en 15 muestras de sangre de 172 murciélagos analizados, provenientes de la localidad de Molas, Yucatán; nueve *Artibeus lituratus*, cinco *Artibeus jamaicensis* y un *Sturnira lilium* (Córdova-Aldana *et al.* 2013). Molas, localidad de estudio

del presente trabajo, se encuentra dentro de los límites de la reserva ecológica de Cuxtal, a 16 km de la ciudad de Mérida, donde la cercanía estrecha de especies silvestres con humanos, animales domésticos y de insectos triatominos, puede representar un riesgo para la transmisión de patógenos zoonóticos. Características como la alta movilidad, amplia distribución y estructura social, pueden influir en el papel de los murciélagos como hospederos de muchos patógenos zoonóticos, incluyendo *T. cruzi* (Ramírez *et al.* 2013). Sin embargo, los estudios de la frecuencia de *T. cruzi* en murciélagos son muy pocos en México y en otros países del mundo (Lima *et al.* 2013; Córdova-Aldana *et al.* 2013). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la variación espacio temporal de la frecuencia de infección con *T. cruzi* en murciélagos capturados en la localidad de Molas, Yucatán, México.

Materiales y Métodos

Descripción del área de estudio

El estudio se realizó en Molas (20° 48'00''N y 89° 38'00''O), comisaría ubicada 16 km al sur de Mérida, Yucatán, México, cuenta con una población de 2 014 habitantes y se encuentra dentro de los límites de la reserva ecológica Cuxtal (INEGI, 2010).

El trabajo siguió un esquema de muestreo diseñado para la colecta de mamíferos voladores y otros mamíferos. El poblado se dividió en cuatro cuadrantes, y se seleccionaron en cada uno tres casas con patios de 20x40 m aproximadamente, donde se colocaron 2 redes niebla por patio. El proceso de muestreo se realizó cuatro noches consecutivas mensualmente, empleando una noche en cada cuadrante durante octubre de 2013 a septiembre de 2014, excepto noviembre 2013 (Fig. 1).

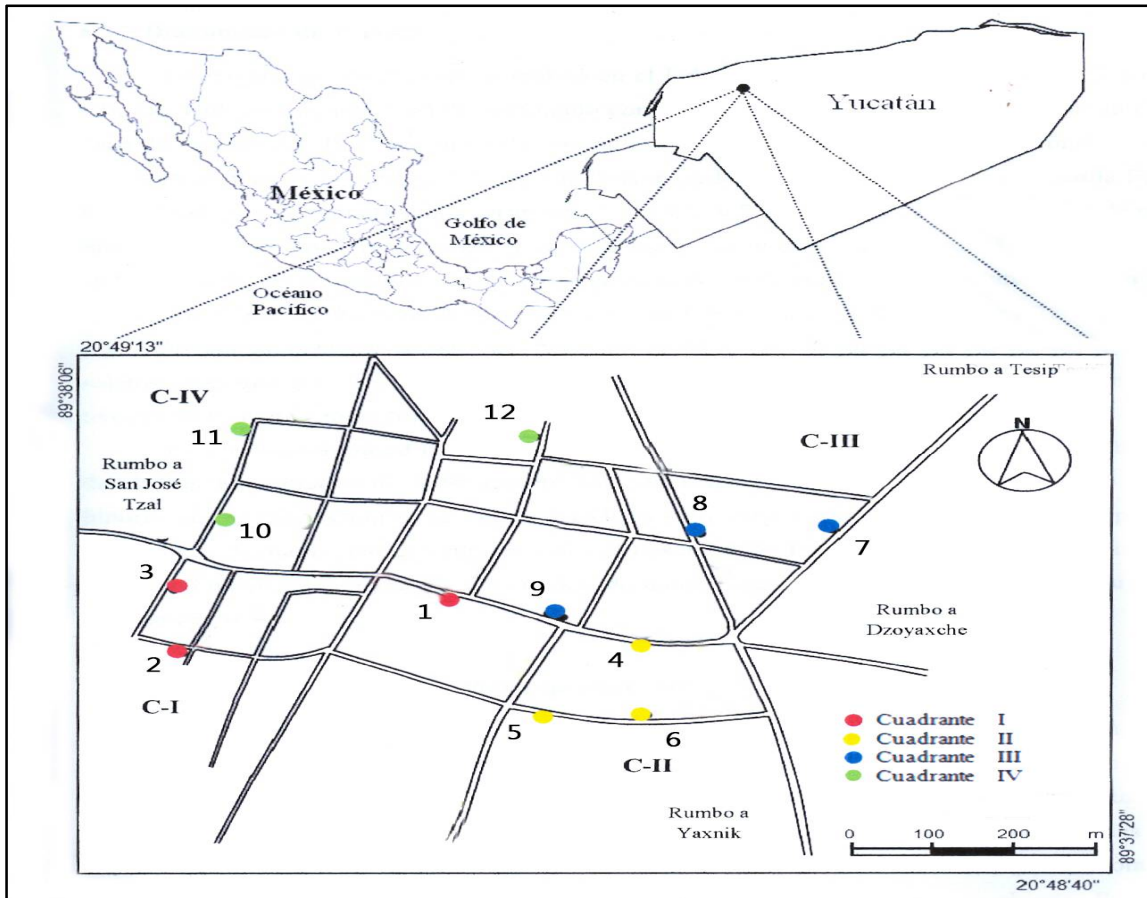


Figura 1. Ubicación de los cuadrantes en la localidad de Molas, Yucatán, México. Los puntos de colores indican las tres casas seleccionadas por cuadrante. Modificado de Pantí (2011).

Captura y manejo de murciélagos

Los murciélagos fueron capturados con redes de niebla de 12×2.6 m, con abertura de malla de 36 mm. Las redes permanecieron abiertas durante cinco horas (19:00 a 24:00 horas) a partir del anochecer y fueron revisadas cada 30 minutos. Los murciélagos capturados fueron identificados (Medellín *et al.*, 1997), pesados y se tomaron sus datos morfométricos (antebrazo, envergadura, longitud total, longitud del trago, oreja y cola), también se registró su sexo, edad y condición reproductiva. Posteriormente, los murciélagos fueron liberados.

A partir de estos datos, se estimó la riqueza de especies, abundancia, diversidad alfa de acuerdo al índice de Shannon (Magurran, 1988) y dominancia de Berger-Parker, para la localidad de Molas.

Se aplicó la prueba ji- cuadrada de independencia (Christensen, 2006) para comparar las frecuencias de infección encontradas entre especies de murciélagos y meses de estudio, con el fin de explorar una posible asociación. El nivel de significancia de esta prueba fue $\alpha = 0.05$.

Para la detección de *T. cruzi*, se tomó una muestra de sangre por punción de la vena cefálica, ubicada en el antebrazo del murciélago. La punción se realizó con una aguja estéril (calibre de 0.40 mm \times 13 mm) y la sangre se colectó mediante tubos capilares impregnados con heparina para impedir la coagulación de la sangre. No se extrajo sangre de las hembras preñadas para no causarles estrés. Posteriormente, se liberaron. De los 533 murciélagos capturados, sólo se pudieron tomar muestras de sangre de 488. Las muestras fueron guardadas en tubos eppendorf etiquetados y se conservaron en congelación (-20°C) en el Centro de Investigaciones Regionales Dr. Hideyo Noguchi- UADY.

Amplificación de gen constitutivo para demostrar la viabilidad de las muestras

Se seleccionaron al azar 10 de las 488 muestras de sangre para analizar la viabilidad del ADN. La prueba se realizó utilizando primer sentido (24-mer) 5'-AGCCCTTGGGGASTTGAATTGCTG -3' y primer antisentido (27-mer) 5'-GCACTCCAGAGGACAGCRGTGTCAATA -3, que amplifican un fragmento de 237 pb de ADN genómico de mamíferos. La región amplificada es una región altamente conservada no codificante del gen Sox21.

El volumen final de la mezcla de reacción fue 20 μ l: buffer concentración final 1X (MgCl₂ al 1.5 mM, 2 μ M dNTPs), 0.5 μ M de la mezcla de primers, 0.8 U de la enzima Phusion® Blood II DNA Polymerase (Finnzymes, F547-L) y 1 μ l de sangre total. Como control positivo se utilizó 20 ng de ADN de *T. cruzi* cepa H5 y como control negativo, se utilizó 1 μ l de agua bidestilada y la mezcla de master mix (19 μ l). La reacción se llevó a cabo en un termociclador modelo SelectCycler (Select BioProducts) bajo las siguientes condiciones: 1

ciclo de 10 min de desnaturalización a 94°C, seguido por 30 ciclos de 20 s desnaturalización a 94°C, 10 s de hibridación a 57°C, 30 s de extensión a 72°C; y un ciclo de extensión final de 7 min a 72°C, enfriamiento final a 10°C. 10µl del producto amplificado se colocó en un gel de agarosa al 1% en amortiguador TBE 1X (0.484 % de tris base, 0.55 % de ácido bórico y 2 mM de EDTA disódico, pH 8.0) y bromuro de etidio (5 µg/ml), y se dejó correr 40 min a 100V en una cámara de electroforesis submarina. Posteriormente, se documentó el resultado usando el programa EDAS290 (Kodak, Rochester, N.Y.).

Amplificación del gen que codifica una proteína de unión a calcio para diagnóstico específico de ADN de T. cruzi

Para el diagnóstico molecular por PCR, en las 488 muestras se utilizó el estuche comercial Phusion blood direct PCR kit; Finnzymes Oy, Espoo, Finland, F-547L. Este estuche comercial utiliza una polimerasa que tiene una muy buena actividad en la muestra directa, sin tener que extraer el ADN de la misma. Se amplificó un fragmento de 700 pb usando los oligonucleótidos sintéticos Tc24f (5'-CTATGGTACCGAGTCAAGGAGAGCAACGAG-3' y Tc24r (5'-GGCGAATTCACGTCCTCTGCGGCCGCGAGCT-3', que reconocen un gen que codifica una proteína de 24-kDa de unión a calcio (Dumonteil *et al.* 2004).

El volumen final de la mezcla de reacción fue 20µl: buffer concentración final 1X (MgCl₂ al 1.5 mM, 2 µM dNTPs), 10 pM de cada primer, 0.6 U de la enzima Phusion® Blood II DNA Polymerase y 1µl de sangre total. Como control positivo se utilizó 20 ng de ADN de *T. cruzi* cepa H5 y como control negativo, se utilizó 1 µl de agua bidestilada y la mezcla de master mix (19 µl). La reacción se llevó a cabo en un termociclador modelo SelectCycler bajo las siguientes condiciones: 1 ciclo de 5 min de desnaturalización a 98°C, seguido por 35 ciclos de 5 s desnaturalización a 98°C, 7 s de hibridación a 60°C, 15 s de extensión a 72°C; y un ciclo de extensión final de 10 min a 72°C, enfriamiento final a 4°C. 10µl del producto amplificado se colocó en un gel de agarosa al 1% en amortiguador TBE 1X y bromuro de etidio (5 µg/ml), y se dejó correr 40 min a 100V en una cámara de electroforesis submarina. Posteriormente, se documentó el resultado usando el programa EDAS290 (Kodak, Rochester, N.Y.).

Resultados

Parámetros de la comunidad de murciélagos

Se capturaron 533 individuos de ocho especies y seis géneros, pertenecientes a tres familias (Cuadro 1). El valor del índice de Shannon obtenido para todo el estudio fue de $H'=0.93$, con una dominancia de $D=0.70$.

Cuadro 1. Especies de murciélagos capturadas en la localidad de Molas, Yucatán, México de octubre de 2013 a septiembre de 2014.

Familia	Especies	N° de Individuos
Phyllostomidae	<i>Artibeus jamaicensis</i>	375
	<i>Artibeus lituratus</i>	7
	<i>Artibeus phaeotis</i>	1
	<i>Sturnira parvidens</i>	68
	<i>Glossophaga soricina</i>	74
	<i>Diphyllla ecaudata</i>	3
Vespertilionidae	<i>Rhogeessa aeneus</i>	4
Mormoopidae	<i>Pteronotus parnellii</i>	1
Total		533

El mayor número de especies se registró en el mes de febrero (6 especies) y el menor en enero, marzo y junio (3 especies). La mayor abundancia en general se registró en el mes de diciembre (76 individuos) y la menor en julio (31 individuos), *A. jamaicensis* fue la especie más abundante registrada durante este estudio, excepto en abril y julio en los que *Glossophaga soricina* fue más abundante (Fig. 2).

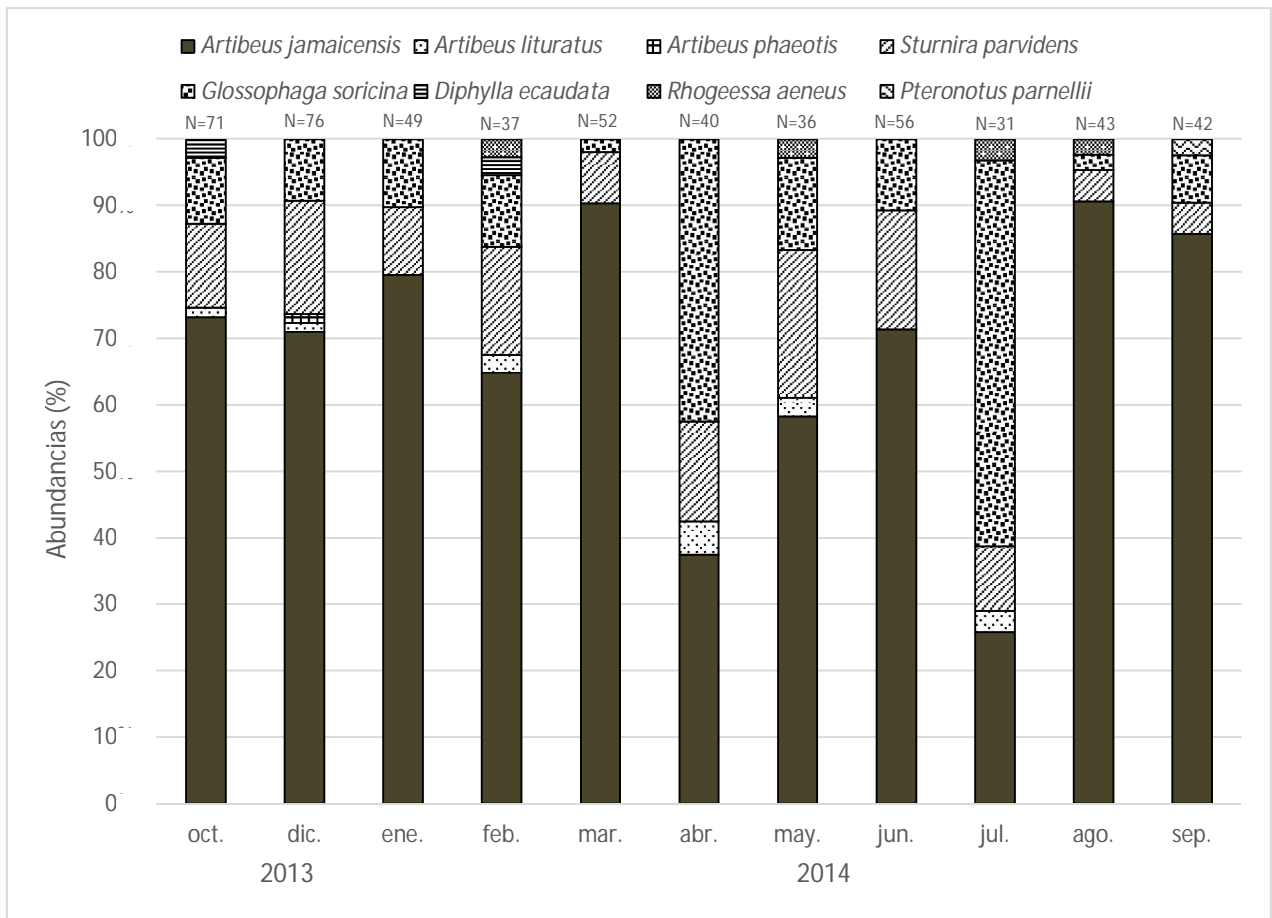


Figura 2. Abundancias mensuales de las especies de murciélagos de Molas, Yucatán, de octubre de 2013 a septiembre de 2014.

Detección de ADN de Trypanosoma cruzi.

Viabilidad de las muestras

Del total de 488 muestras, se eligieron 10 al azar para su análisis con los iniciadores #1 (24-mer) y #2 (27-mer) que amplifican un fragmento de 237 pb de ADN genómico de mamíferos. En la figura 3 se observa un panel de muestras de murciélagos (carriles 1-9) donde se aprecia la amplificación del fragmento esperado de 237 pb, correspondiente al gen Sox 21. En el carril 10 se observa una muestra que no amplifica el fragmento esperado.

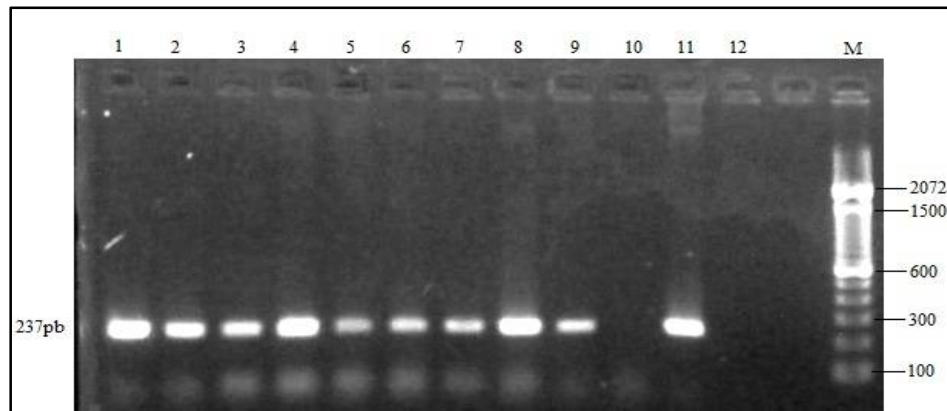


Figura 3. Análisis electroforético en agarosa al 1.5 % y tinción bromuro de etidio de los productos de PCR de muestras de sangre total de murciélagos, con los iniciadores 24-mer y 27-mer. Carriles: 1-10) muestras de murciélagos, 11) control positivo ADN cepa H5 *T. cruzi*, 12) control negativo de agua, M) marcador de peso molecular de 100pb (Invitrogen, Ladder 1.0 µg/1µL).

Frecuencia de infección con Trypanosoma cruzi

La técnica de PCR realizada en las 488 muestras dio como resultado 19 murciélagos positivos a *T. cruzi*, en cuatro especies, pertenecientes a dos familias; Phyllostomidae, con *A. jamaicensis*, fue la especie más infectada con siete individuos, seguida de *S. parvidens* con seis, *G. soricina* con cinco y finalmente la familia Vespertilionidae, con *R. aeneus* sólo un individuo positivo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Frecuencia de infección con *Trypanosoma cruzi* en murciélagos de la localidad de Molas, Yucatán.

Familia	Especies	N	N (%) Positivos a <i>T. cruzi</i>
Phyllostomidae			
	<i>Artibeus jamaicensis</i>	358	7 (1.95)
	<i>Artibeus lituratus</i>	7	0
	<i>Artibeus phaeotis</i>	1	0
	<i>Sturnira parvidens</i>	57	6 (10.5)
	<i>Glossophaga soricina</i>	60	5 (8.3)
	<i>Diphyllia ecaudata</i>	1	0
Vespertilionidae			
	<i>Rhogeessa aeneus</i>	4	1 (25)
Mormoopidae			
	<i>Pteronotus parnellii</i>	0	
Total		488	19

Se encontró infección con *T. cruzi* en murciélagos en los cuatro cuadrantes de estudio. El mayor número de individuos infectados se presentó en el Cuadrante 2 y el menor en el Cuadrante 1 (Cuadro 3).

Cuadro 3. Frecuencia de infección con *Trypanosoma cruzi* por cuadrantes en murciélagos de la localidad de Molas, Yucatán.

Especies	Total	C1	C2	C3	C4
<i>Artibeus jamaicensis</i>	7	1	1	3	2
<i>Sturnira parvidens</i>	6	1	3	1	1
<i>Glossophaga soricina</i>	5	-	2	1	2
<i>Rhogeessa aeneus</i>	1	1	-	-	-
Total por cuadrante		3	6	5	5

C= Cuadrante

A. jamaicensis y *S. parvidens* se encontraron infectadas en los cuatro cuadrantes de estudio.

En cuanto a la temporalidad, se obtuvieron individuos infectados en cinco de los 11 meses muestreados, estos fueron febrero, marzo, mayo, junio y julio, la mayor frecuencia de infección se encontró en febrero en *S. parvidens* y durante este mes se registró infección en cuatro especies. En contraste, la frecuencia de infección de *G. soricina* se presentó durante cuatro meses y la de *A. jamaicensis* se presentó durante tres (Fig. 4).

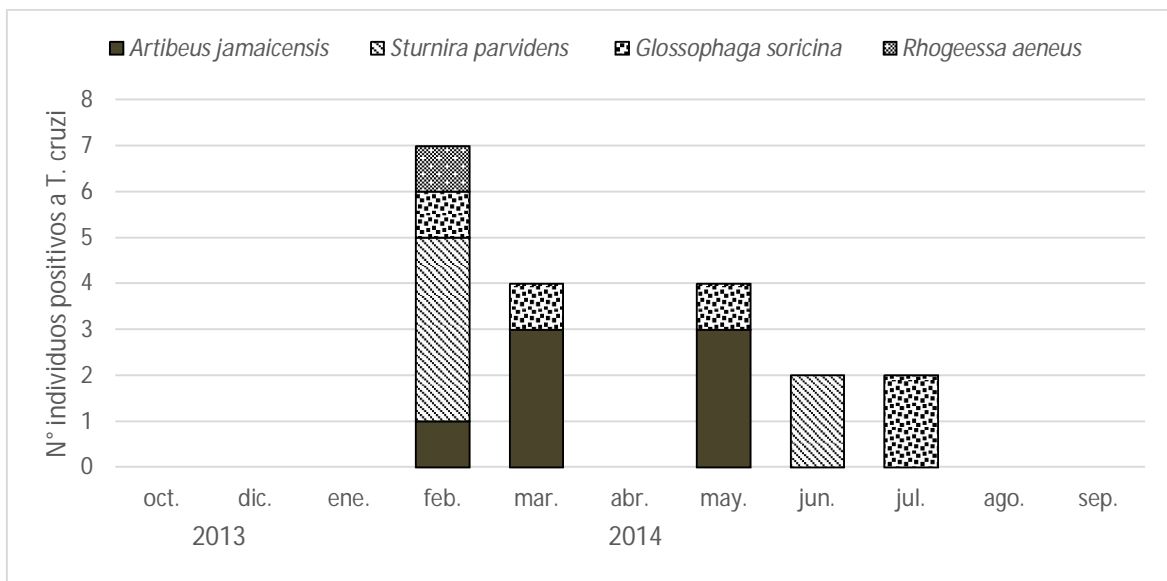


Figura 4. Frecuencia mensual de infección con *Trypanosoma cruzi* en cuatro especies de murciélagos de Molas, Yucatán.

Con la prueba de χ^2 de independencia se comprobó que existe una relación entre hospedero-patógeno-mes, en términos de frecuencia ($\chi^2 = 25.014$, $gl = 12$, $P = < 0.05$), como es el caso de *G. soricina* que presentó mayor frecuencia en el mes de julio y *S. parvidens* en el mes de febrero.

Discusión

La diversidad de quirópteros encontrada en este trabajo para la localidad de Molas fue de ocho especies, lo cual representa el 21% de las especies que han sido reportadas para el estado de Yucatán (MacSwiney, 2010).

La familia Phyllostomidae fue mejor representada, con cuatro géneros y seis especies. *A. jamaicensis* fue la especie más abundante en los meses de estudio, lo que concuerda con el trabajo realizado en la Reserva de la biosfera de Ría Lagartos por Sélem *et al.* (2012) y el estudio realizado en la Reserva Ecológica el Edén por MacSwiney (2000). *A. jamaicensis* es una especie que ha logrado una gran adaptación, ya que tiene la capacidad de consumir una gran gama de alimentos como frutos, semillas, hojas y flores (Ortega y Castro, 2001), además los murciélagos del género *Artibeus* se han reconocido como tolerantes a la fragmentación del hábitat (Medellín *et al.* 2000; Galindo-González, 2004) y normalmente tienden a ser especies dominantes en regiones tropicales. Por lo tanto, este género de murciélagos se encuentran comúnmente en los pueblos, parques públicos o viviendas (Bello-Gutiérrez *et al.* 2010), donde perchan y se alimentan de los frutos de árboles como los ficus y las ceibas.

Los murciélagos son muy benéficos para el ecosistema, ya que ayudan a la polinización, dispersión de semillas, y son excelentes controladores biológicos de plagas agrícolas y mosquitos. Sin embargo, también son considerados hospederos de agentes patógenos para los humanos y pueden ejercer un efecto negativo en la salud pública. En numerosas especies de murciélagos infectados por vía natural se han descubierto diferentes agentes patógenos para el ser humano (Tamsitt y Valdivieso, 1970).

Se han encontrado murciélagos de la especie *A. jamaicensis* infectados con *T. cruzi* en Colombia (Marinkelle, 1982), Brasil (Pinto y Bento, 1986), Argentina (Diosque *et al.* 2004), y en México (Villegas-García y Santillán-Alarcón, 2004; Córdova-Aldana *et al.* 2013). Thomas *et al.* (2007), demostraron a través de un experimento en laboratorio, que los murciélagos *Artibeus* pueden infectarse al alimentarse de insectos triatominos infectados con tripanosomas.

En este estudio se corroboró la presencia de *T. cruzi* en murciélagos del estado de Yucatán, específicamente en los de la localidad de Molas. *A. jamaicensis* (1.95%), *S. parvidens* (10.5%), *G. soricina* (8.3%) y *R. aeneus* (25%) fueron las especies diagnosticadas con el parásito *T. cruzi*. Estos resultados tienen similitud, con los estudios realizados en el estado de Morelos por Villegas y Santillán (2001), y el realizado en el estado Yucatán por Córdova- Aldana *et al.* (2013), ya que en ambos sitios se encontró infección en *A. jamaicensis*, *G. soricina* y *S. parvidens*. En este estudio no se reporta un porcentaje de infección global, ya que se tratan de especies diferentes, con hábitos, y comportamientos muy distintos, por lo tanto, sólo se reporta el porcentaje de infección por especies.

Hay que considerar que la prueba de diagnóstico de viabilidad indicó una probabilidad de que el 10% de las 488 muestras no fueron viables, ya que, de las 10 muestras analizadas, una no amplificó el fragmento esperado, por lo tanto, cabe la posibilidad que la frecuencia real sea mayor a lo reportado, ya que pudiéramos tener falsos negativos. A partir de esta experiencia, se recomienda en trabajos futuros, incluir el diagnóstico de viabilidad de todas las muestras colectadas.

Por otra parte, el hecho de encontrar individuos infectados en cinco de los 11 meses del estudio, indica que *T. cruzi* se encuentra circulando en las poblaciones de murciélagos de la localidad de Molas. Por lo que, el mecanismo de transmisión entre los individuos pudiera ser debido al comportamiento biológico entre murciélagos y vectores, por lo tanto, es factible considerar la vía vectorial y oral como los mecanismos de transmisión de *T. cruzi* más probables (Thomas *et al.* 2007).

Las diferentes especies de murciélagos se desarrollan en hábitats muy diversos y pueden utilizar como refugios cuevas, cenotes, huecos de árboles y construcciones abandonadas, esto conlleva a que los murciélagos y triatomas compartan el mismo hábitat. Además, hay que considerar que los murciélagos tienen el hábito de acicalarse unos a otros, por lo cual, se pudiesen infectar una mayor cantidad de individuos de una misma colonia, al contaminarse con heces de triatomas. De igual manera, los murciélagos que tienen un comportamiento trófico insectívoro y omnívoro, pueden consumir triatomas e infectarse por vía oral. Actualmente se conoce que la transmisión congénita en murciélagos es otro

mecanismo que puede efectuarse (Añez *et al.* 2009), por lo cual hay que considerarlo como un mecanismo de transmisión que pudiera estarse generando en los murciélagos de la localidad de Molas.

En cuanto a la asociación de las especies infectadas y los meses de estudio, la prueba de Ji cuadrada indicó una dependencia entre las variables, ya que cada especie presentó mayor infección en algún mes en particular, por lo cual, la prueba estadística indicó que existe una relación entre hospedero-patógeno-mes, en términos de frecuencia.

En este trabajo se determinó infección con *T. cruzi* en murciélagos en los cuatro cuadrantes de estudio que incluyen la totalidad de la localidad de Molas, y en las casas ubicadas tanto en la periferia como en el centro del poblado. Por lo cual, se reconoce la participación de los murciélagos en el ciclo de transmisión de *T. cruzi* en esta localidad cercana a Mérida, es de suma importancia, ya que bajo esta circunstancia aumenta el riesgo de transmisión en esta zona. De igual manera, la alta abundancia de las poblaciones de murciélagos es un factor importante para aumentar el riesgo de transmisión, ya que una mayor cantidad de individuos pueden portar mayor cantidad de este protozooario (Jansen y Rodrigues, 2010). Por lo cual, se sugiere en estudios futuros incluir técnicas serológicas como el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) y parasitológicas como el hemocultivo, con el fin de tener mayor probabilidad de detectar al parásito *T. cruzi* en las poblaciones de murciélagos. Así como incluir variables que puedan asociarse al riesgo de infección con *T. cruzi* en los habitantes de Molas.

Conclusión

La diversidad de quirópteros encontrada en este trabajo para la localidad de Molas, Yucatán, fue de ocho especies. *A. jamaicensis* fue la especie más abundante registrada en los meses de estudio, excepto en abril y julio en los que *G. soricina* fue más abundante.

Se encontró una frecuencia de infección con *T. cruzi* en cuatro especies de murciélagos de la localidad de Molas, Yucatán. *A. jamaicensis* N=358 (1.95%), *S. parvidens* N=57 (10.5%), *G. soricina* N=60 (8.3%) y *R. aeneus* N=4 (25%), por lo que podrían ser hospederos de *T. cruzi*, que se encuentran visitando comúnmente los patios de las casas de la localidad de Molas.

Se encontró que existe una relación entre hospedero-patógeno-mes, en términos de frecuencia. Lo cual indica que los murciélagos tienen un potencial como hospederos y sugiere su participación en el ciclo de transmisión de *T. cruzi*.

Agradecimientos

Al CONACYT por la beca proporcionada para el estudio de la maestría. Al proyecto Monitoreo, vigilancia e intervención de patógenos zoonóticos y ETVS en un área rural del estado de Yucatán. Financiado por Promep 103.5/13/5270.

Referencias

- Añez, N., Crisante, G. and Soriano, P. J. *Trypanosoma cruzi* congenital transmission in wild bats. *Acta Tropica* 2009; 109: 78–80.
- Bello-Gutiérrez, J., Suzan, G., Hidalgo-Mihart, M.G., Salas, G. Alopecia in bats from Tabasco, Mexico. *J Wildlife Dis* 2010; 26: 1000–1004.
- Córdova-Aldana, D.I, Escobedo- Ortegón, J. E., Hernández –Betancourt, S., H.A. Ruiz Piña. Los murciélagos en el ciclo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en el peridomicilio rural. En: Estudios multidisciplinarios de las enfermedades zoonóticas y ETVs en Yucatán (J. Pacheco Castro, J.A. Lugo Pérez, L. Tzuc Canché y H.A. Ruíz Piña, coord.). Ed. Universidad Autónoma de Yucatán; 2013: 234-246.
- Christensen, Howard B. En: Estadística paso a paso. 3ª ed. México: Trillas; 2006: 481-485.
- Diosque, P., Padilla, A.M., Cimino, R.O., Cardozo, R.M., Sánchez, O.S., *et al.* Chagas disease in rural areas of Chaco Province, Argentina: epidemiology survey in humans, reservoirs and vectors. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 71: 590–593.
- Dumonteil, E., Ruiz-Piña, H., Rodriguez-Felix, E., Barrera-Perez, M., Ramirez-Sierra, M.J., Rabinovich, J.E., Menu, F. Reinfestation of houses after intra-domicile insecticide application in the Yucatán peninsula, Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004; 99: 253–256.

- Galindo-González, J. Clasificación de los murciélagos de la región de los Tuxtlas, Veracruz, respecto a su respuesta a la fragmentación del hábitat. *Acta Zoológica Mexicana* 2004; 20: 239–243.
- Ibáñez-Cervantes, G., Martínez-Ibarra, A., Noguera-Torres, B., López-Orduña, E., Alonso, A. L., Perea, C., *et al.* Identification by Q-PCR of *Trypanosoma cruzi* lineage and determination of blood meal sources in triatomine gut samples in México. *Parasitology International* 2013; 62(1): 36-43.
- INEGI- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Demografía y Población. Disponible en página WEB: [http:// www.inegi.org.mx/](http://www.inegi.org.mx/); consultado el : 25-09-2013. 2010.
- Jansen, A. y Rodrigues, A. American trypanosomiasis Chagas Disease. One hundred years of research. Domestic and wild mammalian reservoirs. Ed. Elsevier. 1ed. 2010.
- Lima, L., Espinosa-Álvarez, O., Hamilton, P. B., Neves, L., Takata, C. S., Campaner, M., *et al.* *Trypanosoma livingstonei*: a new species from African bats supports the bat seeding hypothesis for the *Trypanosoma cruzi* clade. *Parasites & Vectors* 2013; 6: 221.
- Linhares, A.X. Synanthropy of Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera) in the city of Campinas, Sao Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 1981; 25 (3): 189-215
- MacSwiney, C. Murciélagos. En: Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. (R. Durán-García, y M. Méndez, eds.) CICY, PPD-FMA, CONABIO, SEDUMA; 2010: 446pp.
- MacSwiney, C. Caracterización de la comunidad de Quirópteros en la reserva ecológica El Edén, Quintana Roo, México. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Yucatán. México; 2000: 58 pp.
- McFarlane, R., A. Sleight, T. McMichael., 2012. Synanthropy of wild mammals as a determinant of emerging infectious diseases in the Asian-Australasian region. *EcoHealth*, Doi:10.1007/s10393-012-0763-9.

- Magurran. Ecological diversity and its measurement. Princeton University Press. New Jersey, USA; 1988: 179 pp.
- Marinkelle, C.J. Prevalence of *Trypanosoma cruzi*-like infection of Colombian bats. Ann Trop Med Parasitol 1982; 76: 125–134.
- Medellín, R.A., M. Equihua, y M. A. Amin. Bat diversity and abundance as indicators of disturbance in neotropical rainforests. Conservation Biology 2000; 14: 1666–1675.
- Medellín, R., Arita, H., Sánchez, O. Identificación de los murciélagos de México: claves de campo. Publicaciones especiales No. 2. Asociación Mexicana de Mastozoología A.C. México, DF; 1997: 89 pp.
- Muñoz-Saravia, S. G., Sucre, S. B. H., Berlin, C.-U., Haberland, A., Berlin, C.-U., Wallukat, G., *et al.* Chronic Chagas' heart disease: a disease on its way to becoming a worldwide health problem: epidemiology, etiopathology, treatment, pathogenesis and laboratory medicine. Heart Fail. Rev. 2012; 1: 45-64.
- Ortega, J., y Castro-Arellano, I. *Artibeus jamaicensis*. Mammalian Species 2001; 662: 19.
- OPS- Organización Panamericana de la Salud. Enfermedad de Chagas. Disponible en:http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=10&Itemid=40743. Consultado el 17 de octubre de 2014.
- Panti, M.J. Pequeños roedores como huéspedes de *Trypanosoma cruzi* en viviendas de la localidad de Molas, Yucatán, México. Tesis. Universidad Autónoma de Yucatán; 2011: 53pp.
- Parada-López, J., Hernández-Betancourt, S. F., Ruiz-Piña, H. A., Escobedo-Ortegón, F. J., Medina-Peralta, S., y Panti-May, J. A. *Trypanosoma cruzi* Infection in *Didelphis virginiana* in Relation to Population Parameters and Variables Associated with Presence in Rural Community Dwellings in Yucatan, Mexico. EcoHealth 2013; 10:31-35.
- Pinto, A.S., Bento, D.N. *Trypanosoma cruzi*-like bloodstream trypomastigotes in bats from the state of Piauí, northeastern Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 1986; 19: 31–34.

- Ramírez, J. D., Tapia-Calle, G., Muñoz-Cruz, G., Poveda, C., Rendón, L. M., Hincapié, E., *et al.* Trypanosome species in neo-tropical bats: Biological, evolutionary and epidemiological implications. *Inf., Genetics and Evol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2013.06.022>; 2013.
- Ramsey, J.M., Lehmann, P., Monroy, C. Morphometric analysis of Mexican and Guatemalan populations of *Triatoma dimidiata*. XXX Annual meeting on basic research in Chagas disease — XIX meeting of the Brazilian society of protozoology VECTORS (VE), Brazil. *Revista do Inst. de Med. Trop. de São Paulo* 2003; 45: 198.
- Roellig, D. M., Ellis, A. E., Yabsley, M. J. Oral Transmission of *Trypanosoma cruzi* with Opposing Evidence for the Theory of Carnivory. *J. of Parasitology* 2009; 2: 360-364.
- Ruiz-Piña, H. y Cruz-Reyes, A. The opossum *Didelphis virginiana* as a synanthropic reservoir of *Trypanosoma cruzi* in Dzildzilché, Yucatán, México. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 2002; 5: 613-620.
- Ruiz-Piña, H. y N. Van Wynsberghe. Infección natural con *Trypanosoma cruzi* en roedores silvestres de la Península de Yucatán. VI Congreso Nacional de Mastozología. Oaxaca. Sociedad Mexicana de Mastozología. México; 2002.
- Sélem Salas, C.I., Tun Garrido, J., Hernández Betancourt, S., Chablé Santos J. y J.J. Ortiz Díaz. Riqueza y abundancia de murciélagos (Mammalia: Chiroptera) en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, Yucatán, México. *Bioagrobiencias* 2012; 5:11-14.
- Tamsitt, J. y Valdivieso, D. Los Murciélagos y la salud pública. Estudio con especial referencia a Puerto Rico. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*; 1970.
- Thomas, M. E., Rasweiler, J.J., D' Alessandro. Experimental transmission of the parasitic flagellates *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* between triatomine bugs or mice and captive neotropical bats. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 2007; 102(5): 559-565.

Villegas-García, J.C., y Santillán-Alarcón, S. American Trypanosomiasis in central Mexico: *Trypanosoma cruzi* infection in triatomine bugs and mammals from the municipality of Jiutepec in the state of Morelos. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 2004; 98: 529–532

Villegas-García, J.C., y Santillán-Alarcón, S. Sylvatic focus of American Trypanosomiasis in the State of Morelos, Mexico. *Rev. Biol. Trop.* 2001; 49(2): 685-688.

WHO- World Health Organization. Control of Chagas disease: second report of the WHO expert committee. Technical report series 905. Geneva, Switzerland. 2003.

WHO- World Health Organization. Control of Chagas disease, Technical Report series No. 905. Geneva 66 pp. 2002.

Correspondencia:

Dra. Celia I. Sélem Salas

Dpto. de Biología

Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,

Universidad Autónoma de Yucatán.

Km. 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, AP 4-116,

Mérida, Yucatán, México.

E-mail: ssalas@uady.mx

Tel: (999) 9423200