



UADY

CIENCIAS DE LA SALUD

POSGRADO INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS DE LA SALUD

**Fuentes alimenticias de *Triatoma dimidiata* y su relación
con los ciclos de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en
Yucatán**

Tesis presentada por:

IBQ. JOEL ISRAEL MOO MILLAN

En opción al grado de:

Maestro en Investigación en Salud

Director de Tesis

DR. ETIENNE WALECKX

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO NOVIEMBRE 2018



UADY

UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

"Luz, Ciencia y Verdad"

*Posgrado Institucional en
Ciencias de la Salud*

PICSA/191/18.

29 de octubre de 2018.

La tesis **"Fuentes alimenticias de Triatoma dimidiata y su relación con los ciclos de transmisión de Trypanosoma cruzi en Yucatán"**, presentada por el IBQ. **JOEL ISRAEL MOO MILLAN**, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar por el grado de **Maestro en Investigación en Salud**, ha sido aprobada en su contenido científico y en cuanto al cumplimiento de los establecido en el Plan de Estudios vigente del **Posgrado Institucional en Ciencias de la Salud**.

ATENTAMENTE

DRA. NORMA ELENA PEREZ HERRERA
COORDINADORA DEL POSGRADO INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS DE LA SALUD

UADY



POSGRADO INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS DE LA SALUD

c.c.p. Archivo

El presente trabajo se realizó bajo la dirección del Dr. Etienne Waleckx en las instalaciones del Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” de la Universidad Autónoma de Yucatán como parte del Proyecto **Identificación de las fuentes alimenticias de *Triatoma dimidiata*, vector de la enfermedad de Chagas en Yucatán, para el diseño de estrategias de control eficientes y sustentables (PRODEP 103.5/15/6926)**

***Hubiera desmayado, si no creyese que veré la bondad de YHVH
en la tierra de los vivientes.
Salmo 27:13***

<<La verdad es un fuego fatuo que solo puede ser capturado con la red de los que, despreciándola, llevan acabo pacientes experimentos>>

Paul De Kruif, Cazador de Microbios, 1926

<<Duda de todo, cuestiona todo>>

Etienne Waleckx, 2017

Dedicatorias

A mis Señores Padres, quienes me dieron la vida, quienes me apoyaron a seguir,
Sofía Millan y Silvio Moo

A mis hermanos quienes me apoyaron en cada paso

A mi segunda madre, Pastora Millan

A mi asesor de tesis, Dr. Etienne Waleckx

A la química que más quiero hoy Chuly Ramírez.

Al Dr. Miguel Rosado Vallado, loable e ilustre profesor

A mis amigos del laboratorio de Parasitología, quienes me apoyaron en los momentos mas cruentos y lúgubres

A Silvia Pérez Carrillo, amiga, maestra y mentora mía, quien me enseñó gran parte de lo que sé ahora

A Anette H. Andrade, quien llegó el en momento más adecuado para aportarme apoyo y consejos

A Audrey Arnal por sus consejos

A la Dra. Nora Hernández por sus comentarios y ayuda en biología molecular, apoyo y ayuda en todo tiempo

A los Profesores investigadores del laboratorio de Parasitología.

A Miriam Cimé Pech, quien me ayudó y aportó mucho en mi desempeño como estudiante, Mimí, con todo mi cariño para ti. No tengo palabras para agradecer, cariño, amor, paciencia y amistad que me brindaste, pero en mi corazón estarás siempre

A mis profesores del Tecnológico de Mérida, quien me apoyaron y creyeron en mi, Dra. Sarah Nahuat Dzib y Dra. Elsy Tamayo Canul

A mis hermanos César Centeno Sánchez, Andrés Yam y Alicia Narváez

A mi hermano Gabriel Sosa, gracias por estar a mi lado en todo momento y circunstancia. Gracias por tu ayuda y apoyo incondicional

A mi hermana Rosario Dorantes, gracias por nunca dejar de interceder por mí

AGRADECIMIENTOS

Al Eterno Creador por la vida

Al Dr. Etienne Waleckx, quien, con paciencia, me enseñó, adiestró, instruyó y formó como el investigador y profesionalista que soy ahora, no encuentro palabras suficientes para darle mi gratitud, gracias por todas esas clases particulares y por retarme a pensar y a ser crítico.

A Tino González, gran amigo, músico y consejero en todo momento, de quien atesoro y valoro todos los momentos compartidos contigo.

Al Dr. Miguel Enrique Rosado Vallado, ilustre, abnegado, encomiable profesor y maestro, gracias por todos sus consejos, palabras de aliento, historias, momentos hermosos que pasé en su oficina, principalmente por los chocolates. Una persona que ha dejado huella en mi vida, gracias por confiar en mí, no tengo palabras suficientes para agradecerle todo lo hermoso que ha hecho por mí como estudiante.

A Chuly Ramirez, <<la Química que más quiero, hoy>> y de lo que estoy seguro de que ayer también, gracias por todas las enseñanzas, consejos, cariño, dedicación, paciencia, amor y así como las llamadas de atención durante mi estancia en el laboratorio. Fue para mí, una profesionalista que influyó mucho en mi vida académica y profesional, gracias por considerarme su hijo.

Al Dr. Eric Dumonteil, por apoyar en la secuenciación de las muestras y el trabajo intelectual

A los doctores Enrique Reyes Novelo, Carlos Ibarra Cerdeña, Carlos Machain Williams, Silvia Betancourt y Eric Dumonteil, quienes formaron parte de mi comité revisor, gracias por sus consejos y su ayuda para crecer.

A la Dra. Silvia Betancourt Hernández, sin duda alguna, una investigadora que marcó mi vida profesional y como investigador, gracias por todos sus consejos y sugerencias para crecer y realizar esta tesis

A la Dra. Paulina Haro, por sus consejos y sugerencias, gracias por escuchar mi discusión y mis resultados

A la Dra. Nora Adriana Hernández Cuevas, gracias por todo lo que me ayudó en Biología molecular, en la experimentación y la discusión de artículos. Gracias por ser amiga y profesora, jamás olivaré sus clases de bioquímica y biología molecular.

Al Dr. Vladimir Cruz y a la Dra. Liliana Villanueva por todos sus consejos y apoyo

Gracias a mis compañeros de control vectorial, Anette H. Andrade, Merly Sulub, Silvia Pérez, Audrey Arnal, Rafael Pasos y Tere Montalvo.

A mis amigos de maestría en especial a César Sánchez, Andrés Yam y Azael Cohuó

A la Dra. Alicia Narváez y a la Dra. Paty Chávez por tan hermosa amistad y cariño

A los compañeros del Laboratorio de Parasitología

A mis amigos de la vida

A mis profesores del Posgrado Institucional en Ciencias de la Salud.

En Memoria de Mirza Teresa Herrera Poot

Quien quiso ver este momento

Para ti mamita

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
III. ANTECEDENTES	5
III.1 La enfermedad de Chagas.....	5
III.1.1 Epidemiología	5
III.1.2 Patología.....	6
III.1.3 El parásito <i>T. cruzi</i>	6
III.1.3.1 Ciclo de vida y transmisión de <i>T. cruzi</i>	7
III.1.3.2 Hospederos de <i>T. cruzi</i>	7
III.2 Los vectores triatominos	9
III.3 <i>Triatoma dimidiata</i>	10
III.4 Importancia del estudio de las fuentes alimenticias de los triatominos	11
III.5 Técnicas serológicas para la identificación de fuentes alimenticias.....	12
III.6 Técnicas moleculares para la identificación de fuentes alimenticias	12
III.7 Estudios sobre las fuentes alimenticias de <i>T. dimidiata</i> en Yucatán.....	13
IV. OBJETIVOS.....	16
IV.1 Objetivo General	16
IV.2 Objetivos Específicos.....	16
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
V.1 Área de estudio y material biológico.....	17
V.2 Criterios de inclusión y exclusión	19
V.3 Estrategia de trabajo de laboratorio	20
V.4 Extracción de los tractos digestivos de <i>T. dimidiata</i>	21

V.5 Purificación y cuantificación del ADN total contenido en los tractos digestivos de <i>T. dimidiata</i>	21
V.6 Diagnóstico de la infección de <i>T. dimidiata</i> por <i>T. cruzi</i>	21
V.7 Identificación de las fuentes alimenticias de <i>T. dimidiata</i>	23
V.7.1 Amplificación de un fragmento del gen 12S del ARN ribosomal de vertebrados.....	23
V.7.2 Clonación de los amplicones.....	24
V.7.2.1 Ligación de los amplicones al vector de clonación	24
V.7.2.2 Transformación de células competentes.....	26
V.7.3 Reamplificación de los amplicones clonados	26
V.7.4. Purificación y secuenciación de los amplicones clonados.....	27
V.7.5 Edición de secuencias e identificación de las fuentes alimenticias	27
V.8 Análisis de los datos	27
VI. RESULTADOS	29
VI.1. Selección de triatominos.....	29
VI.2 Infección de <i>T. dimidiata</i> por <i>T. cruzi</i>	29
VI.3 Estatus alimenticio e identificación de las fuentes alimenticias de los triatominos.....	30
VI.4 Relaciones <i>T. dimidiata</i> / <i>T. cruzi</i> /hospederos	33
VII. DISCUSIÓN.....	35
VIII.CONCLUSIONES.....	39
IX. PERSPECTIVAS	40
X. BIBLIOGRAFÍA.....	41
XI. ANEXOS	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de la enfermedad de Chagas en el territorio mexicano..	5
Figura 2. Ciclo de transmisión de <i>T. cruzi</i>	7
Figura 3. Localidades de muestreo.	18
Figura 4. Trampas pegajosas con cebo ratón.....	19
Figura 5. Diagrama de flujo del trabajo de laboratorio.....	20
Figura 6. Vector de clonación pGEM-T (PROMEGA).....	25
Figura 9. Alimentación de <i>T. dimidiata</i> y posible red de transmisión de <i>T. cruzi</i>	33

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Fuentes alimenticias de <i>T. dimidiata</i> reportadas en Yucatán.....	14
Cuadro 2. Secuencia de cebadores para la detección de <i>T. cruzi</i>	22
Cuadro 3. Condiciones de la PCR para la detección de <i>T. cruzi</i> en tractos digestivos de <i>T. dimidiata</i>	22
Cuadro 4. Cebadores universales para la amplificación de un fragmento del gen 12S del ARN ribosomal de vertebrados	23
Cuadro 5. Condiciones de la PCR para la amplificación del fragmento del gen 12S del ARN ribosomal de vertebrados	24
Cuadro 7. Condiciones para ligación del producto de PCR purificado al vector de clonación.....	26
Cuadro 8. Características de los triatominos analizados.....	29
Cuadro 9. Resumen del análisis de la prevalencia por PCR de la infección de <i>T.</i> <i>dimidiata</i> por <i>T. cruzi</i>	29
Cuadro 10. Estatus alimenticio de <i>T. dimidiata</i> capturados en ambientes selvático y doméstico.....	30
Cuadro 11. Fuentes alimenticias de <i>T. dimidiata</i> identificadas en insectos capturados en el ambiente doméstico y selvático.....	32
Cuadro 12. Distribución de las fuentes alimenticias de <i>T. dimidiata</i> infectados y no infectados	34

I. RESUMEN

Trypanosoma cruzi, el agente causal de la enfermedad de Chagas tiene la capacidad de infectar a un amplio rango de mamíferos, entre ellos al humano. Es transmitido principalmente por las heces contaminadas de chinches hematófagas llamadas triatomíneos. En la península de Yucatán, México, *Triatoma dimidiata* es el principal vector reportado. El objetivo del trabajo fue identificar las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* y en paralelo evaluar la infección por *T. cruzi* del insecto de tal forma que se puedan entender mejor los ciclos de transmisión del parásito en la zona de estudio. Se identificaron molecularmente las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* colectados en diferentes ambientes (selvático y doméstico) en 3 localidades rurales de Yucatán y sus alrededores. En paralelo, se determinó la infección de estos insectos por *T. cruzi* con la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

El 17.81% de los insectos (31/174) se encontraron infectados por *T. cruzi*. No se encontraron diferencias significativas de la prevalencia de la infección de acuerdo con el sexo, la localidad y el ambiente de colecta de los insectos. Se observó una mayor proporción de insectos alimentados en el ambiente doméstico que en el ambiente selvático. Se identificaron 16 vertebrados diferentes (a nivel de género o especie), incluyendo 12 en el ambiente doméstico y ocho en el ambiente selvático. En ambos ambientes, las principales fuentes de alimentación fueron el humano, el perro y el ganado vacuno. No se encontró asociación de la infección de los insectos con alguna fuente alimenticia en particular. De las chinches alimentadas de humano, 15% (4/27) estaban infectadas, confirmando el riesgo de transmisión de *T. cruzi* al humano en la región. La presencia de humano perro y ganado vacuno como principales fuentes en ambos ambientes sugiere que estos tres vertebrados podrían ser los actores más importantes de una posible conexión entre los ciclos de transmisión selváticos y domésticos de *T. cruzi*. Además, la importante proporción de chinches alimentadas a la vez de perro y

humano señalan al perro como un actor importante en la red de transmisión del parásito al humano en las localidades de estudio.

II. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, a más de 100 años de su descubrimiento por el médico brasileño Carlos Chagas ¹, sigue siendo una enfermedad desatendida, esto a pesar de que en el mundo se calcula que existen de seis a siete millones de personas infectadas. ² La enfermedad de Chagas es causada por el parásito *T. cruzi* el cual es transmitido principalmente a través de las heces contaminadas de chinches hematófagas llamadas triatominos. ² Actualmente no se cuenta con una vacuna eficaz y las terapias existentes resultan poco efectivas. Por lo tanto, el control vectorial sigue siendo la estrategia más útil para prevenir la enfermedad de Chagas. Sin embargo, para asegurar el éxito de las intervenciones de control vectorial, es necesario conocer y comprender la ecología y el comportamiento de los vectores. ²⁻⁴

Entre los rasgos ecológicos de los triatominos, el estudio de sus hábitos alimenticios es particularmente relevante. En efecto, la identificación de los hospederos sanguíneos puede proporcionar datos claves para ayudar a la elaboración de estrategias de control eficientes, ya que orienta hacia los animales más importantes involucrados en el mantenimiento de las poblaciones de triatominos, la transmisión del parásito, o que puedan fungir como hospederos del parásito. ^{3,5-8}

En Yucatán, más del 3% de la población está infectada por *T. cruzi*. En este estado el principal vector es *T. dimidiata*. Sin embargo, la información disponible sobre las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* en Yucatán está incompleta tanto por las técnicas utilizadas (principalmente técnicas serológicas) o los sitios de colecta de los insectos (generalmente estos estudios no incluyeron chinches colectadas en ambiente selvático, hábitat natural de la especie), o el pequeño tamaño de muestra. ⁹⁻¹² Por lo tanto, se necesita de estudios más exhaustivos utilizando ensayos modernos para identificar las diferentes fuentes alimenticias

de *T. dimidiata* y en paralelo su infección por *T. cruzi* para entender mejor la participación de éstos en la eco-epidemiología de la enfermedad de Chagas en Yucatán.

En este trabajo, se identificaron las fuentes alimenticias de *Triatoma dimidiata* y su infección por *T. cruzi* del insecto, con un ensayo molecular recientemente desarrollado, permitiendo la identificación de varios hospederos sanguíneos en un mismo insecto^{13,14}, para mejorar nuestra comprensión de las interacciones hospederos/vector/parásito y los ciclos de transmisión de *T. cruzi* en Yucatán.

III. ANTECEDENTES

III.1 La enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es causada por el parásito *T. cruzi*, el cual es transmitido principalmente por las heces contaminadas de chinches hematófagas llamadas triatomíneos. Sin embargo, se puede transmitir también por transfusiones sanguíneas, donaciones de órganos, vía congénita y por vía oral.^{15,16}

III.1.1 Epidemiología

Actualmente la organización mundial de la Salud (OMS) estima que en el mundo existen de seis a siete millones de personas infectadas, principalmente en América Latina.² En México, la enfermedad está presente en todo el territorio y se estima que entre uno a dos millones de personas están infectadas, aunque algunos autores sugieren que podrían ser hasta 5.5 millones de casos.^{17,18} Según las estimaciones, en México, los estados de Jalisco, Oaxaca y Chiapas son los estados con mayor número de casos (Figura1).¹⁵

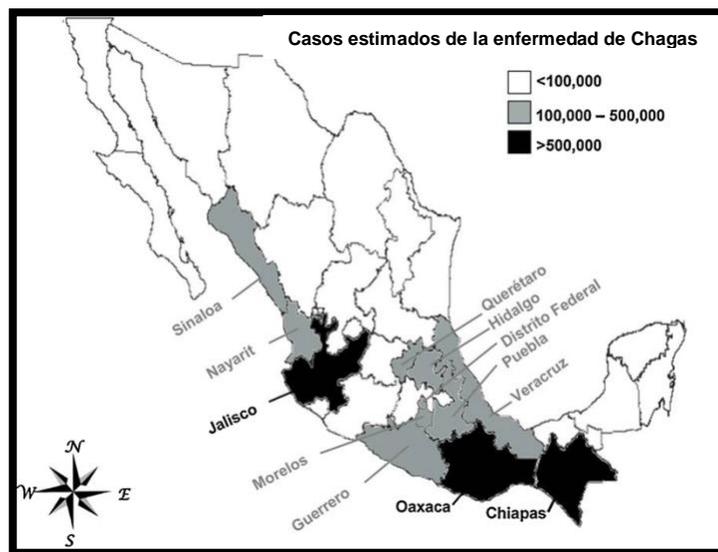


Figura 1. Distribución de la enfermedad de Chagas en el territorio mexicano. Figura tomada de Carabarin-Lima (2015).

En Yucatán, la primera evidencia de la enfermedad de Chagas surgió en 1940, pero fue hasta 1972 que se realizó la primera investigación sobre esta enfermedad.¹⁹ Según estimaciones, en el estado, la prevalencia de la enfermedad es de más del 3% y cerca de 62,000 personas infectadas.¹⁵

III.1.2 Patología

La enfermedad de Chagas provoca manifestaciones clínicas variables según la etapa de la infección. La primera etapa, llamada fase aguda, dura de cuatro a ocho semanas. Se caracteriza por una alta parasitemia en sangre de las personas infectadas y es generalmente asintomática. Diez a 30 años después de la infección, entre el 30 y 40% de los pacientes entran a la llamada fase crónica sintomática en la que desarrollan alteraciones cardíacas o digestivas (megacolon o megaesófago).^{2,20}

III.1.3 El parásito *T. cruzi*

El agente etiológico de la enfermedad de Chagas es *T. cruzi*, parásito hemoflagelado perteneciente al Orden *Kinetoplastida*, Familia: *Trypanosomatidea* Género: *Trypanosoma*. Este parásito posee un organelo formado a partir de mitocondrias modificadas denominado cinetoplasto. *T. cruzi* presenta un ciclo de vida complejo que involucra dos hospederos: uno invertebrado (insecto triatomino) y uno vertebrado (mamífero). A lo largo del ciclo, muestra grandes variaciones morfológicas, caracterizadas por la posición del cinetoplasto en relación al núcleo y por la presencia o ausencia del flagelo. Las formas del parásito pueden ser: amastigote, epimastigote y tripomastigote metacíclico.²¹

III.1.3.1 Ciclo de vida y transmisión de *T. cruzi*

En el intestino de los triatominos, los epimastigotes se reproducen por fisión binaria. En la parte distal del intestino del vector ocurre la metaciclogénesis. Es en esta fase que el parásito se transforma en tripomastigote metacíclico, la forma

infectiva para los mamíferos. Durante la alimentación, los triatominos pueden defecar sobre la piel. Al rascarse el hospedero (humano, por ejemplo) puede hacer que las heces entren en contacto con los ojos o con la herida realizada por el piquete del triatomo, lo que permite la entrada del parásito al hospedero (Figura 2). A continuación, los parásitos invaden las células del hospedero transformándose en amastigotes, los cuales se replican y se diferencian en tripomastigotes liberándose al torrente sanguíneo. A pesar de que puede replicarse en diversos tipos de células, *T. cruzi* tiene un tropismo particular por las células de los músculos cardíacos e intestinales. Por último, los triatominos ingieren a los tripomastigotes contenidos en la sangre de los hospederos, completándose así el ciclo de vida de *T. cruzi*.²²

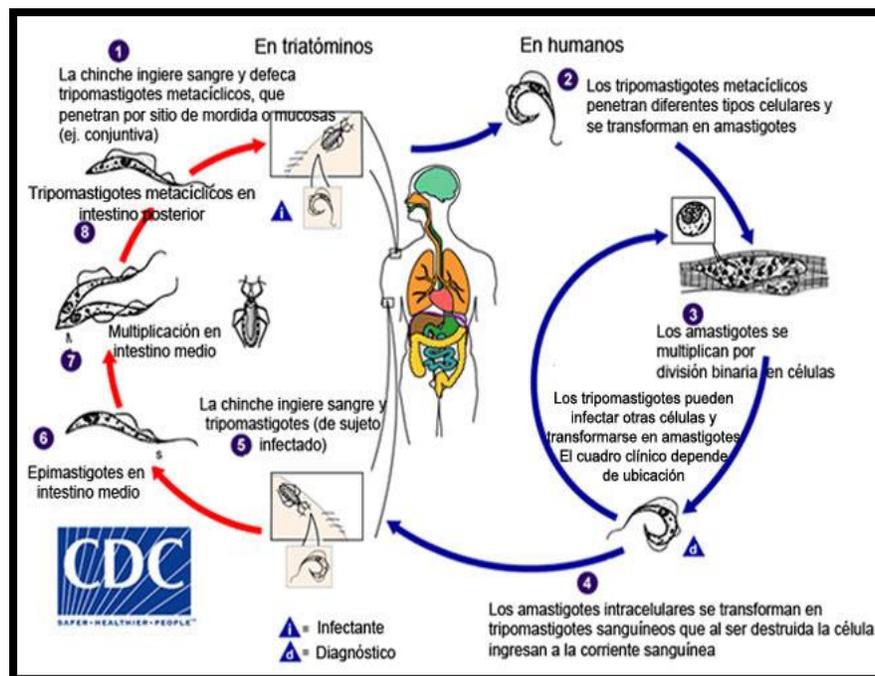


Figura 2. Ciclo de transmisión de *T. cruzi*. Tomado y modificado del CDC. <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>

III.1.3.2 Hospederos de *T. cruzi*

Existe un gran número de hospederos del parásito que participan en la epidemiología y la circulación indefinida del parásito en la naturaleza. La

importancia de un hospedero depende generalmente de la prevalencia de su infección con el parásito, su densidad poblacional en los diferentes ambientes y su tasa de contacto con el vector.^{23,24}

En el continente americano se encontraron más de 180 especies de mamíferos selváticos, terrestres o voladores infectados de forma natural por el parásito. Por su amplia distribución y tasa de infección por *T. cruzi* destacan los siguientes órdenes, géneros o especies: *Didelphimorphia* (*Didelphis* spp.), *Edentada* (*Dasybus novencintus*), *Chiroptera* (*Phyllostomus hastatus*), *Carnivora* (*Nasua* spp.), y *Rodentia* (*Sciurus* spp.).²³

En México, se han reportado diferentes hospederos de *T. cruzi* incluyendo mamíferos selváticos (ardilla, armadillo, coatí, murciélago, rata y ratón silvestre, zarigüeyas y agoutis) y mamíferos domésticos (burro, caballo, cabra, cerdo, oveja, gato, perro, ratón y rata doméstica y ganado vacuno). Por su elevada tasa de infección destacan la zarigüeya (*Didelphis* spp.) y el perro (*Canis lupus*).¹⁷

México es rico en especies de mamíferos y ocupa el tercer lugar mundial en diversidad. Cuenta con 564 especies, 200 géneros, 46 familias y 14 órdenes de mamíferos. De las especies 28.7% son endémicas. El orden de los roedores comprende el 45% de la riqueza seguido de los murciélagos y los carnívoros. La mayor riqueza de especies se encuentra en Veracruz, Tabasco, Oaxaca y Chiapas.^{25,26}

Yucatán cuenta con 128 especies de mamíferos registrados. Los murciélagos son los más diversos con 43 especies. Los roedores comprenden en total 19 especies silvestres más dos introducidas, 12 especies de carnívoros (prociónidos y mustélidos) y aunado a los anteriores se cuenta con 5 félidos y 1 cánido.^{25,27}

En Yucatán, los mamíferos domésticos encontrados infectados frecuentemente con *T. cruzi* son el perro (*Canis lupus familiaris*) y el gato (*Felis catus*). Los mamíferos sinantrópicos hallados frecuentemente infectados son la zarigüeya

(*Didelphis marsupialis*), el ratón (*Mus musculus*) y la rata (*Rattus rattus*). Los mamíferos silvestres encontrados frecuentemente infectados con el parásito son la zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*), el armadillo (*Dasybus novemcinctus mexicanus*), el mapache (*Procyon lotor*), el tejón (*Nasua narica*)^{28,29}, y al menos cinco especies de roedores silvestres, incluyendo a *Peromyscus leucopus* y *Peromyscus yucatanicus*.³⁰ Cabe mencionar que los mamíferos son los únicos vertebrados que pueden ser hospederos del parásito. Los otros vertebrados son refractarios a la infección con *T. cruzi*.

III.2 Los vectores triatominos

Actualmente, se reconocen 141 especies de triatominos en todo el mundo. Más de la mitad han mostrado ser natural o experimentalmente infectadas con *T. cruzi* y es altamente probable que todas sean susceptibles de alojar al parásito.³¹ México posee una de las mayores diversidades de triatominos con 39 especies reportadas, de las cuales, 21 se han encontrado naturalmente infectadas por *T. cruzi* además de que 28 especies son exclusivas del país. *Triatoma dimidiata*, *Triatoma barberi*, *Triaoma mexicana*, *Triatoma (Meccus) pallidipennis* y *Triatoma (Meccus) longipennis* son ejemplos de especies de importancia epidemiológica en México.^{15,32}

Por regla general todos los triatominos son hematófagos estrictos, es decir que se alimentan de sangre en la totalidad de sus estadios de desarrollo, así como en sus dos sexos.³³ Sin embargo, en algunos casos se pueden alimentar de la hemolinfa de insectos²³, recurrir a la coprofagia³⁴, o alimentarse de soluciones glucosadas.³⁵ Los triatominos pueden permanecer por largos períodos de inanición y, en condiciones de laboratorio pueden soportar hasta cinco meses sin alimentarse. En cuanto a su alimentación estos insectos se alimentan de noche cuando sus hospederos sanguíneos generalmente duermen.^{36,37}

Rabinovich *et al.* (2011)³³ agruparon a los triatominos según su alimentación predominante y pueden ser : los que se alimentan predominantemente de

insectos (*Belminus herreri* y *Belminus ferroae*), los que se alimentan predominantemente de aves (*Panstrongylus lignarius*, *Psammolestes tertius*, *R. ecuadoriensis*, *R. nasutus*, *R. neglectus*, *T. brasiliensis*, *T. longipennis*, *T. maculata*, *T. pseudomaculata* y *T. sordida*) y los que se alimentan predominantemente de mamíferos (*Cavernicola pilosa*, *Mepraia spinolai*, *P. geniculatus*, *P. herreri*, *P. lutzi*, *P. megistus*, *P. tupynambai*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *R. prolixus*, *T. barberi*, *T. costalimai*, *T. dimidiata*, *T. infestans*, *T. pallidipennis*, *T. rubrofasciata*, *T. rubrovaria* y *T. vitticeps*).³³

Sin embargo, existen evidencias que la alimentación depende del ambiente en el que se encuentren los insectos y de los vertebrados disponibles en este ambiente,^{38,39 40} y que los triatominos son generalistas en sus hábitos alimenticios.^{13,33,41-43}

III.3 *Triatoma dimidiata*

T. dimidiata es uno de los vectores más importantes de la enfermedad de Chagas. Se encuentra ampliamente distribuido por México, Centro América, Colombia, Venezuela, Ecuador y Perú. Tiene la capacidad de habitar ambientes domésticos y selváticos.⁴⁴ Actualmente es una de las especies más complejas y dependiendo de la zona tiene niveles variables de adaptación a las viviendas. Por ejemplo, en Guatemala, las poblaciones de *T. dimidiata* colonizan los hogares. Esto es caracterizado por la presencia de adultos, ninfas, huevos dentro de los domicilios o en el peridomicilio y que sus poblaciones son autosostenibles y capaces de continuar el ciclo de vida dentro de las viviendas.⁴⁵

Por el contrario, en Yucatán, se ha evidenciado que la infestación de las casas se daba por insectos adultos, de forma transitoria y estacional durante los meses de marzo a julio.⁴⁶⁻⁴⁸ Estudios de genética de poblaciones y modelos matemáticos permitieron evidenciar que la infestación de las casas se debe a la dispersión estacional de chinches adultas desde los hábitats peridomésticos y selváticos alrededor de las localidades, mientras que la reproducción de los

triatominos dentro de las casas (colonización) tiene un papel insignificante en la infestación observada, ^{11,49-51} esto, significa que la reproducción de *T. dimidiata* dentro de las casas no permite crear poblaciones autosostenibles, y la infestación de las casas depende estrictamente de la intrusión estacional de insectos adultos. ⁴⁹⁻⁵¹

III.4 Importancia del estudio de las fuentes alimenticias de los triatominos

Entre los rasgos ecológicos de los vectores, el estudio de sus hábitos alimenticios proporciona información particularmente relevante. A manera de ejemplo, la identificación de las fuentes alimenticias de garrapatas permitió descubrir aquellos hospederos capaces de amplificar las bacterias causantes de la enfermedad de Lyme⁵². Otro ejemplo fue la caracterización de las preferencias alimenticias de mosquitos para identificar a los hospederos involucrados en la transmisión y la proliferación del Virus del Nilo.^{53,54} De esta forma, la identificación de los hospederos sanguíneos proporciona datos claves para estrategias de control vectorial, ya que orienta hacia los animales que tienen los papeles más importantes en la transmisión de las diferentes enfermedades o que juegan un papel de hospedero insospechado.

En el caso de la enfermedad de Chagas, el estudio de los hábitos alimenticios de los triatominos, se ha utilizado para identificar las especies de vertebrados involucradas en los ciclos de transmisión o bien identificar los hospederos que pueden favorecer la colonización de las casas por los triatominos ⁵, conocer la movilidad de los triatominos entre ambientes ⁵⁵, identificar las especies de triatominos que tienden a alimentarse más de humanos ⁵⁶, así como evaluar intervenciones de control vectorial, analizando la evolución de la frecuencia de alimentación de sangre humana antes y después de estas. ³

Además, con la evaluación de la infección de los vectores con *T. cruzi* en paralelo, la identificación de las fuentes alimenticias es una herramienta que puede

potencialmente permitir la identificación de las especies de mamíferos asociadas a la infección de los vectores. ¹³

III.5 Técnicas serológicas para la identificación de fuentes alimenticias

Tradicionalmente, la identificación de las fuentes alimenticias se ha hecho con técnicas serológicas que están basadas en la reacción antígeno anticuerpo (ej. ELISA, prueba de precipitina). Para esto es necesario conseguir o producir los anticuerpos (moléculas de naturaleza proteínica capaces de reconocer y unirse a proteínas específicas) contra los antígenos de interés (sangre de potenciales fuentes de alimentación) antes de realizar la reacción. ⁵⁷

Por sus bajos costos de preparación, estos ensayos han sido utilizados en estudios para determinar la presencia o ausencia de posibles fuentes alimenticias en insectos vectores, los triatominos por ejemplo.¹⁰ Desafortunadamente, la generación de los anticuerpos puede ser complicada y tardada (inmunizaciones repetidas a ratones, ratas o cabras) y la técnica tiene el inconveniente mayor de basarse en una hipótesis previa de las posibles fuentes alimenticias de tal forma que no se pueden identificar aquellas fuentes de alimentación no sospechadas. Además, no se pueden identificar fuentes alimenticias para las cuales no se pudo obtener anticuerpos. Finalmente, en ocasiones, el grado de degradación de las muestras provoca que los anticuerpos tengan poca especificidad o reacciones cruzadas, generando identificaciones dudosas. ^{10,57}

III.6 Técnicas moleculares para la identificación de fuentes alimenticias

Más recientemente, se han estado utilizando técnicas moleculares basadas sobre la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la identificación de las fuentes alimenticias de insectos hematófagos. Algunos autores utilizan cebadores específicos de especies de hospederos potenciales para determinar la ausencia o presencia de ADN de estos hospederos en los tubos digestivos de

los insectos. Sin embargo, nuevamente, este enfoque tiene el inconveniente de generar un sesgo al no incluir cebadores para hospederos no sospechados.^{57,58}

Otros autores utilizan un abordaje basado en el uso de cebadores universales de vertebrados y la posterior secuenciación de los productos de PCR. Este abordaje evita la necesidad de hacer una hipótesis previa de las fuentes potenciales. Sin embargo, en caso de fuentes múltiples o mezcla de fuentes alimenticias, las secuencias pueden ser difíciles o imposibles de resolver.¹⁴ Para superar este obstáculo, algunos autores han propuesto añadir un paso de clonación después de la etapa de amplificación con cebadores universales. De esta manera, se pueden identificar exitosamente las diferentes fuentes alimenticias presentes en un solo insecto.¹³ Muy recientemente, se han propuesto también, ensayos basados en la secuenciación masiva (NGS). Estos ensayos permiten identificar, sin necesidad de una etapa de clonación (la cual es tardada), de manera individual y sin la necesidad de hacer hipótesis previa, la diversidad de fuentes alimenticias de triatominos.^{12,41}

III.7 Estudios sobre las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* en Yucatán

A *T. dimidiata* se le considera generalista en sus hábitos alimenticios, pues se ha reportado que se alimenta de aves, mamíferos, anfibios y reptiles.^{55,5} En Yucatán, existen algunos trabajos sobre la identificación de las fuentes alimenticias de *T. dimidiata*. Tales trabajos, permitieron demostrar la interacción de *T. dimidiata* con una gran diversidad de vertebrados (Cuadro 1), incluyendo varios mamíferos domésticos, sinántropicos y silvestres, reconocidos reservorios del parásito (armadillo y zarigüeya), algunas aves (gallo/gallina, pavo, tórtola), así como evidenciar su elevada antropofilia.⁹⁻¹² A pesar de la información que proporcionan estos trabajos, ésta es incompleta por las técnicas utilizadas o los sitios de colecta (generalmente estos estudios no incluyeron chinches colectadas en ambiente selvático, hábitat natural de la especie), o por el tamaño de muestra⁹⁻¹² (Cuadro 1). Esto muestra que carecemos de estudios más exhaustivos

utilizando técnicas modernas para la completa identificación de las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* en Yucatán y la mejor comprensión de los ciclos de transmisión de *T. cruzi* en la región.

Cuadro 1. Fuentes alimenticias de *T. dimidiata* reportadas en Yucatán

Técnica	Ecotopo	n	Fuentes alimenticias		Referencia
			Fuente	porcentaje	
Inmunodifusión (Método Serológico)	Doméstico	924	Gallina	41.16%	Quintal, R. y Polanco, G. (1977) ⁵⁹
			Perro	16.08%	
			Zarigüeya	12.86%	
			Humano	11.58%	
			Murciélago	9.32%	
			Caballo	3.54%	
			Armadillo	1.93%	
			Rata	0.96%	
			Cerdo	0.64%	
			Cabra	0.64%	
			Mono	0.32%	
			Gato	0.32%	
			Ganado vacuno	0.32%	
Conejo	0.32%				
Contrainmuno- electroforesis (Método Serológico)	Doméstico	105	Humano	30.40%	Guzmán- Marín E.S. <i>et al</i> (1992) ¹⁰
			Ave	29.50%	
			Perro	25.70%	
			Zarigüeya	16.10%	
			Cabra	13.30%	

			Rata	10.40%	
			Ratón	7.70%	
			Cerdo	6.60%	
			Gato	3.80%	
			Armadillo	2.80%	
Heteroduplex (Método molecular)	Doméstico	112	Humano	26.00%	Guzmán-
			Rata	17.00%	Tapia <i>et al.</i>
			Zarigüeya	5.00%	(2007) ¹¹
			Gallinas	5.00%	
Metabarcoding basado en secuenciación masiva (Método molecular)	Doméstico y selvático	14	Humano	27.08%	Dumonteil,
			Perro	18.75%	E. <i>et al.</i>
			Ratón	10.42%	(2018) ¹²
			Ganado vacuno	8.33%	
			Puercoespín	6.25%	
			Ardilla	6.25%	
			Murciélago	6.25%	
			Tórtola	4.17%	
			Rata	2.08%	
			Gato	2.08%	
			Cerdo	2.08%	
			Mico de noche	2.08%	
			Pavo	2.08%	
			Gallina	2.08%	

IV. OBJETIVOS

IV.1 Objetivo General

Identificar las fuentes alimenticias (hospederos vertebrados) y evaluar la infección con *T. cruzi* de *T. dimidiata* para ampliar el conocimiento de la ecología del vector y los ciclos de transmisión del parásito en Yucatán.

IV.2 Objetivos Específicos

- Establecer la prevalencia de la infección por *T. cruzi* en especímenes de *T. dimidiata* colectados en ambientes selváticos y domésticos en 3 localidades rurales de Yucatán
- Identificar las fuentes alimenticias de estos especímenes
- Establecer las proporciones de vectores infectados y no infectados que se hayan alimentado de los diferentes vertebrados (particularmente humano) y las posibles asociaciones entre las fuentes alimenticias, el ambiente de captura, y la infección del vector

V. MATERIALES Y MÉTODOS

V.1 Área de estudio y material biológico.

Los especímenes de *T. dimidiata* (n=422) se colectaron entre 2013 y 2015 en el estado de Yucatán, el cual se encuentra localizado entre las latitudes 87° y 92° oeste y longitudes 17° y 22° Norte. Las colectas se realizaron en tres localidades (y sus alrededores) (Figura 3) que se encuentran reportadas en la zona con mayor índice de infestación en Yucatán.⁶⁰ Las localidades fueron: Bokobá, localizado en la región centro norte del estado entre los paralelos 20° 57" y 21° 04" de latitud norte y los meridianos 89° 09" y 89° 14" de longitud oeste; Sudzal, ubicado en la región centro del Estado, comprendido entre los paralelos 20° 44' y 29° 54' latitud norte y los meridianos 88° 41' y 89° 00' longitud oeste; Teya, localizado en la región centro del Estado, comprendido entre los paralelos 21° 01' y 21° 06' de latitud norte y los meridianos 89° 03' y 89° 08' de longitud oeste. Las localidades de estudio se encuentran en la zona de planicie, con selva baja caducifolia y mediana subcaducifolia con vegetación secundaria, con plantaciones de henequén en abandono y pastizal para ganadería extensiva. La vegetación más común está compuesta por *Brosimum alicastrum*, *Cnidoscolus aconitifolius*, *Tamarindus indica*, *Delonix regia*, *Harvardia albicans*, *Aloe vera* y *Ceiba pentandra*. Con clima AW, con precipitaciones promedio anual de 900mm y temperatura máxima promedio de muy cálida.⁶¹

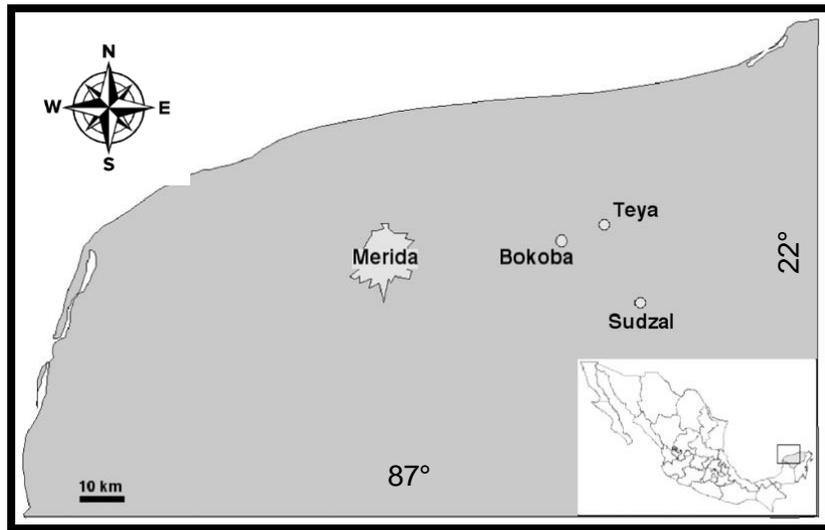


Figura 3. Localidades de muestreo. Modificado de Dumonteil et al. (2002) ⁸²

Los insectos se colectaron en las diferentes localidades y sus alrededores. Dentro de las localidades, los especímenes se colectaron en el interior de los hogares y sus alrededores con trampas pegajosas (Figura 4) en cuyo interior se encontraba un ratón ⁶² y por participación comunitaria. ⁴⁷ En el ambiente selvático (sitios alrededor de las localidades, separado de 2 a 8 km de las casas) los insectos fueron recolectados utilizando trampas de luz. ⁶³ Los triatomíneos colectados fueron colocados en tubos rotulados individualmente con un código único, llevados al Laboratorio de Parasitología del Centro de Investigaciones Regionales Dr. Hideyo Noguchi Inalámbrica de la Universidad Autónoma de Yucatán y congelados a -20°C hasta su análisis. En una tabla Excel se registraron los datos de cada insecto incluyendo el código asignado, el sexo o estadio ninfal, la localidad, el ambiente de colecta y las coordenadas del sitio de colecta.



Figura 4. Trampas pegajosas con cebo ratón

V.2 Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron en el estudio todos aquellos insectos colectados en las localidades de estudio entre 2013 y 2015 con información completa. Además, tres insectos criados en el laboratorio y alimentados con sangre de paloma (*Columba livia*) fueron utilizados como control de todas las etapas descritas a continuación para la identificación de las fuentes alimenticias

V.3 Estrategia de trabajo de laboratorio

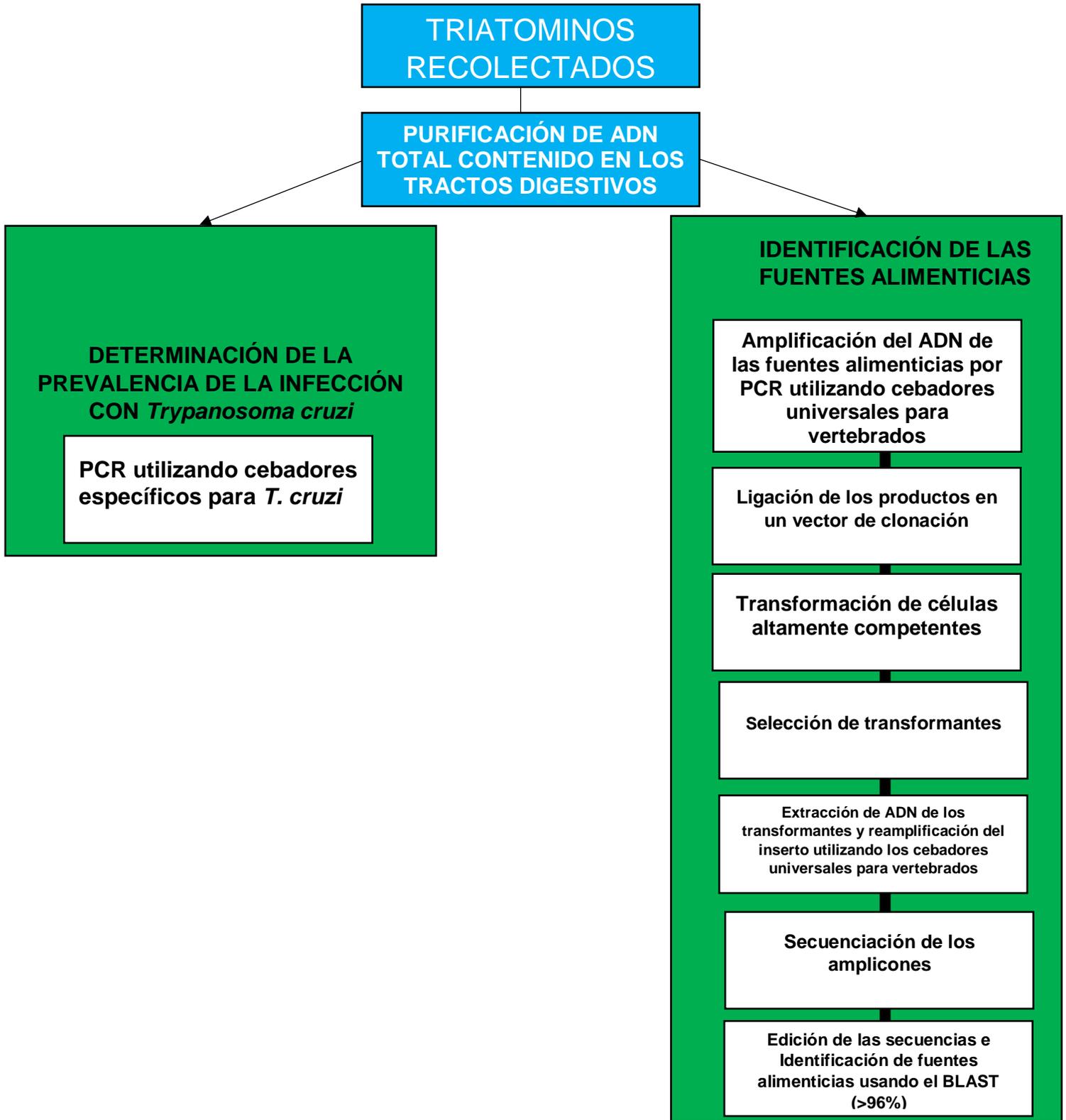


Figura 5. Diagrama de flujo del trabajo de laboratorio

V.4 Extracción de los tractos digestivos de *T. dimidiata*

Los insectos fueron puestos en placas Petri y posteriormente se extrajeron los tractos digestivos de los dos últimos segmentos del abdomen utilizando pinzas para disección estériles. Las muestras se depositaron en tubos Eppendorf de 1.5 mL.

V.5 Purificación y cuantificación del ADN total contenido en los tractos digestivos de *T. dimidiata*

Para la purificación del ADN total contenido en los tractos digestivos se utilizó el kit comercial DNeasy Blood and tissue kit (Qiagen, Valencia, CA). A cada muestra de tracto digestivo (ver V.4) se le adicionaron 20µl de proteinasa K y luego se añadieron 200 µl de amortiguador de lisis (AL). Se agitó la mezcla por 15 segundos en un equipo vortex, y se incubó a 56°C por 120 minutos o hasta que se disolviera el tejido. Después se añadieron 200 µl de etanol grado molecular y se agitó con un equipo vortex por 15 segundos. El lisado obtenido se transfirió a una de las columnas proporcionadas por el kit, la cual fue posteriormente centrifugada a 6000 x g (8000 RPM) por 60 s.

La columna se lavó con 500µl del amortiguador de lavado AW1, posteriormente se centrifugó por un minuto a 6000 x g (8000 RPM), luego se realizó un segundo lavado con el amortiguador AW2, y se centrifugó por tres minutos a 6000 x g (14000 RPM). La columna se eluyó con 50 µL del amortiguador AE. Cada muestra de ADN total purificado se cuantificó en un equipo Nanodrop y fue congelada a -20°C hasta su uso.

V.6 Diagnóstico de la infección de *T. dimidiata* por *T. cruzi*

A partir de las muestras purificadas de ADN total contenido en los tractos digestivos (ver V.5), el diagnóstico de la infección de los triatomíneos con *T. cruzi*

se hizo por PCR. Se utilizaron cebadores específicos para amplificar un gen ubicado en los mini círculos del cinetoplasto. Las secuencias de los cebadores se muestran en el Cuadro 2. El tamaño del amplificado esperado era de 188 pb.

64

Cuadro 2. Secuencia de cebadores para la detección de *T. cruzi*

Primer	Sentido de 5'----->3'
TCZ1	dCGAGCTCTTGCCCCACACGGGTGCT
TCZ2	dCCTCCAAGCAGCGGATAGTTCAGG

Para la reacción se utilizó 0.2µM de cada cebador, 10 µL de Thermo Scientific^{MR} DreamTaq^{MR} 2X y 100 ng de ADN total en un volumen final de 20 µl. Las temperaturas que se utilizaron y los tiempos para la PCR se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Condiciones de la PCR para la detección de *T. cruzi* en tractos digestivos de *T. dimidiata*.

Fase	Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	94	5 minutos	
hibridación	95	30 segundos	
Alineación	60	30 segundos	35
Extensión	72	30 segundos	
Extensión final	72	5 minutos	

Se llevaron a cabo 35 ciclos de hibridación, alineación y extensión. Se incluyó un control negativo en el cual el ADN fue reemplazado por agua ultrapura y un control positivo usando ADN purificado de un cultivo de *T. cruzi*. Los productos de PCR obtenidos fueron separados en un gel de agarosa al 1% teñido con

bromuro de etidio y se visualizaron con luz UV. Se utilizó el marcador de peso molecular 1 Kb DNA ladder Thermo Fisher Scientific^{MR}.

La PCR para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* se realizó al menos dos veces para cada muestra. Para considerarlas como positivas a la infección, las muestras debieron resultar positivas para todas las repeticiones. Las muestras que discreparon en alguna repetición fueron consideradas como indeterminadas.

Para descartar inhibición de PCR, las muestras en las que no se detectó ADN del parásito, se volvieron a amplificar después de añadir 100 ng de ADN de control positivo a la mezcla de PCR. En caso de que no se detectara ningún amplificado, las muestras fueron consideradas como inhibidas.

V.7 Identificación de las fuentes alimenticias de *T. dimidiata*

V.7.1 Amplificación de un fragmento del gen 12S del ARN ribosomal de vertebrados

A partir de las muestras purificadas de ADN total contenido en los tractos digestivos de *T. dimidiata* (ver V.5), la primera etapa para la identificación de las fuentes alimenticias fue la amplificación por PCR utilizando cebadores universales para vertebrados diseñados para amplificar un fragmento de 215 pb del gen 12S del ARN ribosomal. Los cebadores específicos para la amplificación por PCR son L1085 y H1259 (Cuadro 4).⁶⁵

Cuadro 4. Cebadores universales para la amplificación de un fragmento del gen 12S del ARN ribosomal de vertebrados

Cebador	Secuencia 5'----->3'
L1085	CCCAAAGTGGGATTAGATACCC
H1259	TTTGCTGAAGATGGCGGTA

Para la reacción se utilizó 0.35 μ M de cada cebador, 10 μ L de ADN polimerasa Thermo Scientific^{MR} DreamTaq^{MR} 2X y 100 ng de ADN total en un volumen de 20

μl. Las condiciones para la amplificación del fragmento del gen 12S del ARN ribosomal fueron las del Cuadro 5.

Cuadro 5. Condiciones de la PCR para la amplificación del fragmento del gen 12S del ARN ribosomal de vertebrados

Fase	Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	95	5 minutos	
hibridación	95	30 segundos	
Alineación	60	15 segundos	30
Extensión	72	30 segundos	
Extensión final	72	10 minutos	

Se realizaron 30 ciclos de hibridación, alineación y extensión. Se agregó un control negativo que consistió en agua ultrapura en lugar de ADN y para el control positivo se utilizó ADN purificado a partir de una muestra de sangre humana. Los productos de PCR obtenidos fueron separados en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio y se visualizaron con luz UV. Se utilizó el marcador de peso molecular 1 Kb DNA ladder Thermo Fisher Scientific^{MR}. En caso de visualización específica de 215 pb (anexo 1.2) el insecto se consideró como alimentado y se procedió a la clonación del producto de los amplicones Ver V.7.2.

V.7.2 Clonación de los amplicones

V.7.2.1 Ligación de los amplicones al vector de clonación

Los productos de PCR obtenidos (ver V.7.1) fueron purificados usando un kit de purificación PCR clean-up system (Promega) y posteriormente ligados a un vector de clonación p-GEM T (promega) Figura 6.

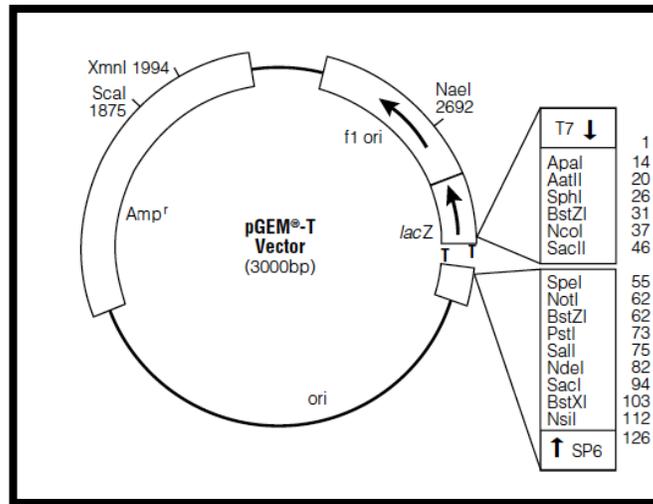


Figura 6. Vector de clonación pGEM-T (PROMEGA)

La ligación se realizó a temperatura ambiente por dos horas y media, utilizando una proporción producto de PCR/vector de 3:1.¹³ Los componentes de la reacción para la ligación se muestran en el Cuadro 6. El vector p-GEM T tiene un tamaño de 3000 pares de bases y proporciona un gen que confiere resistencia a ampicilina lo que permite seleccionar las células transformadas en medio conteniendo el antibiótico (Figura 6). Además, el vector contiene el sitio de inserción dentro de la secuencia del gen que codifica para la β -galactosidasa de tal manera que se pueda seleccionar visualmente, en medio conteniendo X-Gal, las células transformadas con un vector conteniendo el inserto de interés o transformadas con un vector recirculado que no contiene el inserto de interés. Las células que ingresan al vector con el inserto forman colonias color blanco, ya que no son capaces de degradar el X-Gal. Las células que integran un vector recirculado sin inserto son capaces de degradar el X-Gal formando colonias color azul.

Cuadro 6. Condiciones para ligación del producto de PCR purificado al vector de clonación

Reactivo	Reacción estándar	Control positivo	Control negativo
Amortiguador de ligación	5µl	5µl	5µl
Vector pGEM	1µl	1µl	1µl
Producto de PCR	3µl	-	-
Control de inserto De ADN	-	2µl	-
Ligasa T4	1µl	1µl	1µl
Volumen total	10µl	10 µl	10 µl

V.7.2.2 Transformación de células competentes

Se añadieron 2 µl de la reacción de ligación y 50µl de células altamente competentes JM 109 (Promega) en un tubo Eppendorf de 1.5 mL y se agitó cuidadosamente. El tubo Eppendorf se incubó posteriormente de la siguiente manera: 20 minutos en hielo, 50 segundos a 42°C y nuevamente por 2 minutos en hielo. Luego de la incubación se añadieron 950 µL de medio de cultivo SOC al tubo y este fue puesto en agitación a 150 RPM durante una hora y media a 37°C. Posteriormente, se sembraron por duplicado 100µl de cultivo en placas Luria Bertani que contenían 0.5 mM de IPTG, 80mg de X-gal, 100 mg de ampicilina. Se incubaron las placas durante una noche a 37°C.

V.7.3 Reamplificación de los amplicones clonados

Siguiendo lo propuesto por Waleckx *et al.*(2014)¹³ se colectaron al azar ocho colonias blancas de las placas, cada colonia fue puesta en un tubo individual que contenía 25 µL de agua ultrapura, luego, los tubos fueron calentados a 95°C por

5 minutos y luego centrifugados por 60 segundos. Se utilizaron 3 μ l del sobrenadante como ADN molde (template) para reamplificar el fragmento del gen 12S del ARN ribosomal clonado. Se utilizaron los cebadores L1085 y H1259 y las condiciones antes mencionadas (ver V.7.1).

V.7.4. Purificación y secuenciación de los amplicones clonados

Los productos de PCR obtenidos fueron finalmente purificados utilizando el kit de purificación PCR clean-up system (Promega) y fueron enviados a secuenciar. Ambas hebras fueron secuenciadas por la empresa Eton Bioscience (San Diego, CA, EUA).

V.7.5 Edición de secuencias e identificación de las fuentes alimenticias

Las secuencias de ambas hebras fueron alineadas utilizando CLUSTAL W proporcionado en el programa BioEdit V7.2.5⁶⁶ y se corrigieron en caso de cualquier discrepancia mediante la visualización de los cromatogramas correspondientes. Las secuencias corregidas fueron alineadas y fragmentos <<limpios>> de aproximadamente 100-150 pb fueron utilizados para la identificación de la especie/género de vertebrados usando BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>). Una identidad de 96% se utilizó como criterio para aceptar una identificación exitosa a nivel de género o especie.¹³ Sin embargo, en dado caso que las especies identificadas no se encontraran en Yucatán, se asignó la especie más probable reportada para el estado.

V.8 Análisis de los datos

Se aplicaron las pruebas de independencia de χ^2 o Fisher⁶⁷ para determinar si existe una asociación entre la infección y las localidades, los ambientes, las fuentes alimenticias, y/o el sexo del insecto. Con la finalidad de conocer la representatividad de los vertebrados hallados, se construyeron curvas de rarefacción en la página interactiva de internet

(https://www.alyoung.com/labs/biodiversity_calculator.html) Finalmente una red de alimentación y transmisión del parásito se construyó utilizando Cytoscape v. 3.6.1, para visualizar la importancia de las diferentes fuentes alimenticias encontradas, así como las posibles vías de transmisión del parásito entre las especies cuando se detectaron múltiples fuentes en un mismo insecto. Los nodos de la red representan las diversas especies detectadas como fuentes alimenticias. El tamaño de los nodos es proporcional al número de veces que cada fuente alimenticia fue encontrada, éstos, fueron calculados e introducidos de manera manual al programa, tomando como base de cálculo las medidas estándar que ofrece el programa. Las líneas unen a los hospederos que se encontraron en el contenido intestinal de un mismo insecto y el grosor de las líneas es proporcional al número de veces que se encontró la combinación de fuentes alimenticias en el mismo insecto.

VI. RESULTADOS

VI.1. Selección de triatominos

Del 2013 al 2015 se colectaron 422 insectos, de los cuales 248 cumplieron los criterios de inclusión. El detalle de estos insectos se encuentra en el anexo 3. El desglose de la muestra analizada se presenta en el cuadro 7.

Cuadro 7. Características de los triatominos analizados

	Doméstico		Selvático		Total
	Adultos	Ninfas	Adultos	Ninfas	
Bokobá	48	4	14	0	66
Sudzal	61	3	32	0	96
Teya	53	4	29	0	86
Total	162	11	75	0	248

VI.2 Infección de *T. dimidiata* por *T. cruzi*

A los insectos que cumplieron los criterios de inclusión se les determinó por PCR la presencia de *T. cruzi*. De estos, 174 insectos se diagnosticaron exitosamente, 49 insectos tuvieron un diagnóstico indeterminado y 25 insectos tuvieron inhibición. En global, la prevalencia de la infección fue del 17.81% (31/174) (Cuadro 8)

Cuadro 8. Resumen del análisis de la prevalencia por PCR de la infección de *T. dimidiata* por *T. cruzi*. Se analizaron los insectos colectados en tres localidades de Yucatán.

Localidad	Positivo	Negativo	Indeterminado	Inhibido
Bokobá	5	45	6	10
Sudzal	15	50	22	9
Teya	11	48	21	6
Total	31	143	49	25

La infección por localidad fue la siguiente: Bokobá 10% (5/50), Sudzal 23.07% (15/65) y Teya 18.64% (11/59). No se observaron diferencias significativas entre las localidades ($\chi^2= 3.726$, $gl=2$, $p= 0.1552$). El porcentaje global de machos con el parásito fue del 19.51% (16/82), el de las hembras fue del 14.27% (14/86), y el de ninfas 16.66% (1/6). No hubo diferencia significativa de la prevalencia de la infección entre machos y hembras ($\chi^2= 0.299$, $gl=1$, $p=0.58$), y entre adultos y ninfas ($\chi^2= 0.006$, $gl=1$, $p=0.9382$).

En el ambiente doméstico, el porcentaje de triatominos con parásitos fue del 17.07% (21/123). En el ambiente selvático, el porcentaje fue del 19.6% (10/51). No se encontró diferencia significativa de la prevalencia de la infección entre insectos colectados en ambos ambientes ($\chi^2=0.1582$; $gl=1$; $p=0.6908$).

VI.3 Estatus alimenticio e identificación de las fuentes alimenticias de los triatominos

En global el 38.11% (85/223) de los insectos analizados estuvieron alimentados (Cuadro 9). En el ambiente doméstico el 44.5% (69/155) estuvieron alimentados. En el ambiente selvático, el 23.5% (16/68) estuvieron alimentados. Los insectos del ambiente doméstico estuvieron significativamente más alimentados que los selváticos ($\chi^2=8.825$, $gl=1$, $p=0.003$).

Cuadro 9. Estatus alimenticio de *T. dimidiata* capturados en ambientes selvático y doméstico

	Doméstico		Selvático		Total
	Alimentado	No Alimentado	Alimentado	No Alimentado	
Bokobá	20	25	2	9	56
Sudzal	31	26	7	23	87
Teya	18	35	7	20	80
Total	69	86	16	52	223

En total, se identificaron las fuentes alimenticias de 67 insectos, de los cuales, 54 fueron del ambiente doméstico y 13 del ambiente selvático. Se identificaron 16 diferentes fuentes alimenticias. El número máximo de fuentes alimenticias por insecto fue tres y el mínimo fue uno. El total de insectos para los cuales se identificaron múltiples fuentes fue de 15 (22.4%, 15/67) (Anexo 3).

En el ambiente doméstico se identificaron las fuentes alimenticias de 54 insectos. Se identificaron 12 diferentes fuentes alimenticias. Fuentes múltiples fueron encontradas en 12 insectos. El número máximo de fuentes alimenticias encontradas por insecto fue de tres. El promedio de fuentes alimenticias por insecto fue de 1.24. Los insectos se alimentaron principalmente de humano, perro y ganado vacuno. De hecho, estos tres hospederos representan cerca 90% de las fuentes alimenticias identificadas. Además, se identificó una variedad de otros animales domésticos (gato, cerdo, aves de corral), animales sinantrópicos (ratón, tórtola, murciélago) y animales selváticos (mustélido y pecarí) (Cuadro 10). Se observó que la curva de rarefacción para este ambiente aún no alcanzó a ser asintótica (anexo2).

En el ambiente selvático se identificaron las fuentes alimenticias de 13 insectos. Se identificaron ocho diferentes fuentes alimenticias. Se encontraron fuentes múltiples en tres insectos. El promedio de especies por insecto fue de 1.25. En este ambiente también, los insectos se alimentaron principalmente de humano, ganado vacuno y perro. Estos tres hospederos representan cerca del 80% de las fuentes alimenticias identificaciones. Aparte de estos vertebrados, solo se encontraron animales sinantrópicos (tórtola) y selváticos (ardilla, rana, puercoespín y venado) (Cuadro 10). Se observó que la curva de rarefacción para este ambiente está en fase exponencial (anexo2).

Cuadro 10. Fuentes alimenticias de *T. dimidiata* identificadas en insectos capturados en el ambiente doméstico y selvático.

Vertebrado	Doméstico	%	Selvático	%
	n= 54		n=13	
Humano (<i>Homo sapiens</i>)	28	51.8	5	38.4
Perro (<i>Canis lupus</i>)	13	24.1	2	15.0
Ganado vacuno (<i>Bos spp.</i>)	6	11.1	3	23.8
Cerdo (<i>Sus scrofa</i>)	4	7.4	NE	-
Ratón (<i>Mus musculus</i>)	4	7.4	NE	-
Gato (<i>Felis catus</i>)	3	5.5	NE	-
Tórtola (<i>Zenaida spp.</i>)	3	5.5	2	15.3
Pavo (<i>Meleagris gallopavo</i>)	2	3.7	NE	-
Gallo/gallina (<i>Gallus gallus</i>)	1	1.8	NE	-
Murcielago (<i>Artibeus lituratus</i>)	1	1.8	NE	-
Pecarí (<i>Pecari tajacu</i>)	1	1.8	NE	-
Mustélido (<i>Galictis vittata</i>)	1	1.8	NE	-
Ardilla (<i>Sciurus spp.</i>)	NE	-	1	7.7
Rana (<i>Rana spp.</i>)	NE	-	1	7.7
Puercoespín (<i>Coendu spp.</i>)	NE	-	1	7.7
Venado (<i>Odocoileus virginianus</i>)	NE	-	1	7.7

+ La suma de las fuentes alimenticias no concuerda con la n=54 o n= 13 por la presencia de fuentes múltiples.

++NE no encontrado

VI.4 Relaciones *T. dimidiata*/*T. cruzi*/hospederos

En la red de alimentación (Figura 7) se observa que solo las fuentes alimenticias humano, perro, ganado vacuno y tórtola fueron encontradas en ambos ambientes. Además, fueron también las más abundantes. Se puede observar en la red que las dos principales fuentes de alimentación fueron el humano y el perro, y que el perro fue el animal más identificado junto con el humano en un mismo espécimen de *T. dimidiata*.

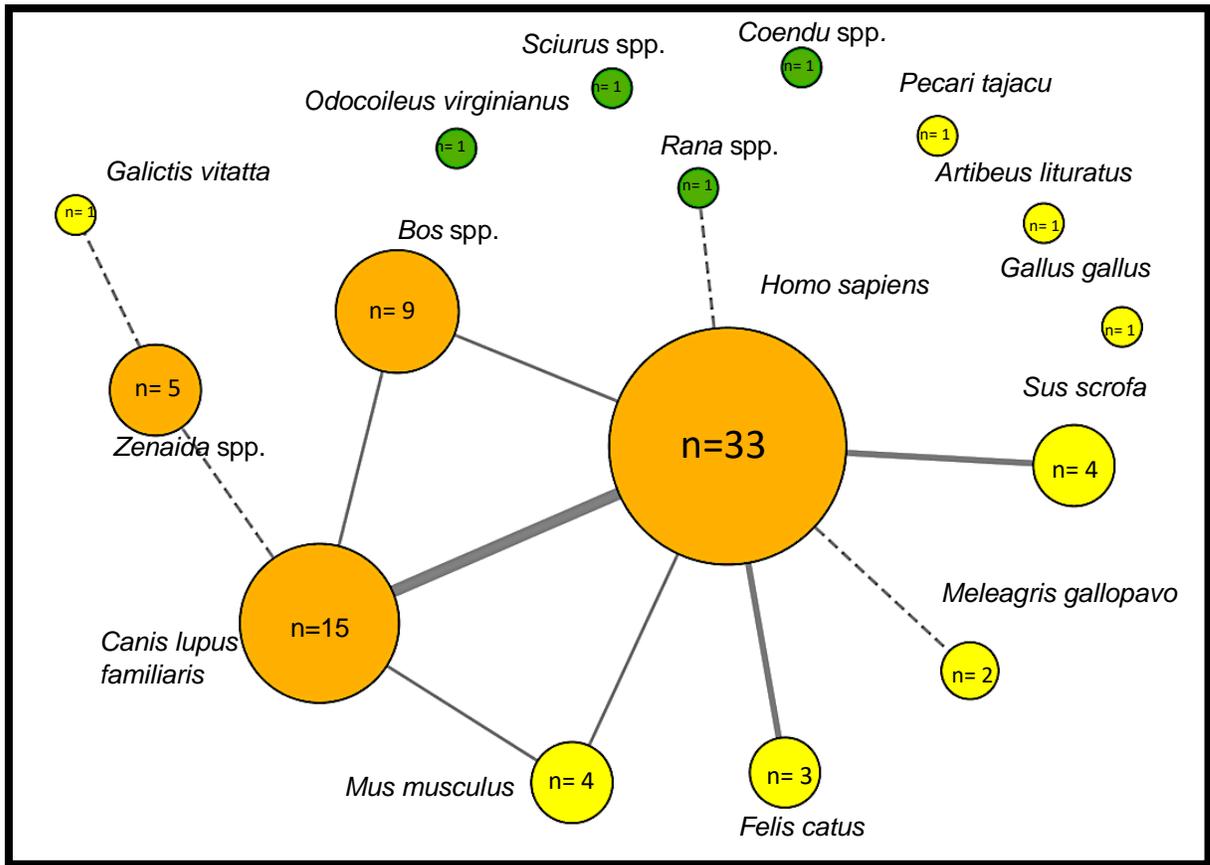


Figura 7. Alimentación de *T. dimidiata* y posible red de transmisión de *T. cruzi*. Los círculos amarillos representan a los vertebrados encontrados en insectos colectados en el ambiente doméstico. Los círculos naranjas representan aquellos vertebrados hallados en insectos colectados en ambos ambientes y en los círculos verdes, representan a los vertebrados hallados en insectos colectados en el ambiente selvático. El área de cada círculo es proporcional al número de veces que se identificó la fuente alimenticia. Las líneas unen especies que se encontraron juntas en el mismo insecto y el ancho de las líneas es proporcional a la frecuencia de la asociación entre especies. Las líneas continuas unen las especies de mamíferos entre los cuales *T. cruzi* puede circular, mientras que las líneas discontinuas unen los vertebrados incompetentes para la transmisión del parásito y que solo sirven como fuente de alimentación. Dentro de cada nodo se encuentra las veces que fue identificada la fuente alimenticia.

Además, podemos notar que 15% de los insectos alimentados de humano y 25% de los insectos alimentados de perro estuvieron infectados (Cuadro 11). No se encontró una asociación entre fuente de alimentación e infección (Test de Fisher, $p=0.087$).

Cuadro 11. Distribución de las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* infectados y no infectados

Fuente alimenticia	Insectos infectados	Insectos no infectados
Humano (<i>Homo sapiens</i>)	4	23
Perro (<i>Canis lupus</i>)	2	6
Gato (<i>Felis catus</i>)	0	2
Cerdo (<i>Sus scrofa</i>)	0	4
Gallo/gallina (<i>Gallus gallus</i>)	0	1
Pavo (<i>Meleagris gallopavo</i>)	0	2
Ratón (<i>Mus musculus</i>)	0	3
Ganado vacuno (<i>Bos spp.</i>)	0	8
Tórtola (<i>Zenaida spp.</i>)	1*	3
Murcielago (<i>Artibeus lituratus</i>)	1	0
Pecarí (<i>Pecarí tajacu</i>)	1	0
Mustélido (<i>Galictis vittata</i>)	1	0
Puercoespín (<i>Coendu spp.</i>)	0	0
Venado (<i>Odocoileus virginianus</i>)	0	0
Rana (<i>Rana spp.</i>)	0	1
Ardilla (<i>Sciurus spp.</i>)	0	1

*La infección de este insecto pudo ser adquirida previamente a esta alimentación, ya que las aves son refractarias a la infección

VII. DISCUSIÓN

Para el desarrollo de estrategias de control vectorial es sumamente importante la caracterización de la ecología del vector y, particularmente la identificación de sus fuentes alimenticias.^{3,53,68} Por lo tanto, en el actual trabajo, identificamos las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* colectados en tres localidades de Yucatán y el ambiente selvático alrededor. El ensayo molecular utilizado permitió la identificación de 16 especies diferentes de vertebrados involucradas en los ciclos de transmisión de *T. cruzi* y/o el mantenimiento de las poblaciones de triatomíneos, además de identificar múltiples fuentes alimenticias en algunos insectos. El número de especies detectadas confirma la sensibilidad del ensayo. Adicionalmente, se confirmó el carácter generalista del insecto, incluyendo en su dieta mamíferos, aves, y anfibios, concordando con trabajos anteriores.^{9-11,71} De manera interesante, identificamos cuatro vertebrados que nunca habían sido reportados previamente como fuentes alimenticias de *T. dimidiata* (mustélido, pecarí, rana y venado). El carácter generalista de los insectos pudo ser la causa por la cual no se encontró asociación hacia alguna fuente alimenticia en particular en los diferentes ambientes.

Se observó que humano, perro y ganado vacuno resultaron las principales fuentes de alimentación en ambos ambientes (85.1% de las identificaciones). Esto sugiere que estos tres mamíferos podrían ser los actores más importantes en la posible conexión de los ciclos de transmisión silvestres y domésticos de *T. cruzi*. Sin embargo, el ganado vacuno podría no participar tanto en el ciclo de transmisión ya que un estudio sugiere que el sistema inmune del ganado vacuno es capaz de eliminar al parásito.⁶⁹ En este sentido, en nuestro estudio, ninguna de las chinches alimentadas de ganado vacuno fue encontrada infectada.

Aunque la presencia de humano en insectos colectados en ambiente selvático no sea sorprendente (por ejemplo se observó que en Guatemala, el humano fue la principal fuente alimenticia en el ambiente selvático)⁶, para descartar una sobre estimación de la presencia de humano en las muestras, se realizaron controles

de todo el proceso (desde la extracción de ADN hasta la secuenciación, ver materiales y métodos) utilizando chinches criadas en el insectario y alimentadas de sangre de paloma. Un 6% de las secuencias obtenidas al final fueron humano en vez de paloma, demostrando la existencia de un bajo nivel de contaminación a pesar de las medidas tomadas durante todo el proceso experimental (uso de métodos físicos y químicos para eliminar fuentes de contaminación). Aunque existió un nivel bajo de contaminación, esta no es suficiente para explicar la predominancia del humano como fuente alimenticia en ambos ambientes.

En nuestras localidades de estudio, la importante proporción de chinches alimentadas a la vez de perro y humano sugieren que el perro es un actor importante en la red de transmisión del parásito al humano. En otros estudios en México y Sur América, el perro fue encontrado como un factor de riesgo en la transmisión del parásito al humano.⁷⁰⁻⁷² En Yucatán, se identificó además como factor de riesgo de infestación de las casas.⁷³⁻⁷⁶ Esto, aporta información clave para el desarrollo de futuras estrategias de control en la región donde el manejo de animales de compañía, principalmente el perro, tiene que recibir una atención particular como lo observado en Guatemala, donde el manejo adecuado de animales de compañía, influyó sobre la alimentación y la infección de los insectos encontrados en el intradomicilio.^{3,70}

Además de lo anterior, en el ambiente doméstico, se identificaron mamíferos silvestres (Pecarí, mustélido) o sinantrópicos (murciélago, tórtola y ratón) como fuentes alimenticias. Esto sugiere i) la movilidad de insectos entre ambientes y/o ii) el avance de animales selváticos hacia los asentamientos humanos.^{77,78} La primera hipótesis podría ser sustentada por el hecho que encontramos que los triatominos del ambiente selvático estaban significativamente menos alimentados que los colectados en el ambiente doméstico, a diferencia de lo reportado anteriormente⁴⁸, lo que podría fomentar la dispersión de las chinches, observado durante la época de secas, hacia el hábitat humano en búsqueda de alimento como se había propuesto previamente.⁷⁹

Sin embargo, es importante notar que aparte de humano, perro y ganado vacuno (el cual se encuentra ampliamente distribuida en la zona de estudio debido a que es una región ganadera), en chinches colectadas en el ambiente selvático, solo se identificaron animales selváticos (tórtola, ardilla, venado, puercoespín y rana). La presencia de humano y perro probablemente se deba a la presencia de cazadores que explotan a la fauna silvestre local. La ausencia de otros animales domésticos sugiere que la conexión de los ciclos es más debida al movimiento de los vertebrados entre ambientes que al movimiento de las chinches entre ambientes. Esto sugiere también que la infestación estacional característica de *T. dimidiata* en Yucatán ^{46,51} sea por los insectos presentes en las áreas silvestres próximas a las viviendas humanas.

La ausencia de zarigüeya (*Didelphis spp.*), reservorio natural del parásito ⁸⁰, como fuente alimenticia de las chinches en Yucatán no concuerda con lo previamente reportado.^{10,11,59} Lo anterior nos generó incertidumbre cuestionándonos si la técnica era capaz de identificar al género *Didelphis*. Confirmamos en el laboratorio que se amplificaba exitosamente el gen 12s ARN ribosomal a partir de ADN total extraído de sangre de zarigüeya (*Didelphis spp.*). Además, un estudio realizado en Guatemala, utilizando la misma técnica, logró identificar a la zarigüeya como fuente alimenticia. ⁶ No encontrar zarigüeya como fuente alimenticia podría por lo tanto deberse a la desaparición de esta especie durante la época de muestreo del insecto pero esto no concordaría con reportes previos donde se evidenció que los marsupiales se hallaban presentes en mayor proporción en la época de seca (mismo período de muestreo del presente trabajo) ⁸¹ o bien, pudo deberse al tamaño de muestra del estudio, aunque, en Guatemala, con un tamaño de muestra menor al nuestro, se identificó al marsupial como fuente alimenticia. ⁶

Otra causa podría ser que en nuestro estudio el limitado número de clonas seleccionadas podría haber también limitado la identificación de fuentes alimenticias, quizás no pudiendo lograr identificar especies que se encontraran

en menor porcentaje. En este sentido, las curvas de rarefacción (anexo 2) muestran que no alcanzamos a determinar toda la diversidad real en la zona de estudio, particularmente en ambiente silvestre y que otras especies que estén en contacto con *T. dimidiata* probablemente no han sido identificadas. Recientemente, se ha desarrollado un ensayo innovador basado en secuenciación masiva que permite identificar las fuentes alimenticias de triatominos con más sensibilidad. El uso de este tipo de ensayo constituiría una perspectiva interesante de este estudio. ¹²

VIII. CONCLUSIONES

- 1- El 17.81% de los insectos se encontró infectado con *T. cruzi*. No hubo diferencias significativas de la infección entre localidades y ambiente de captura de los insectos.
- 2- Los insectos domésticos fueron significativamente más alimentados que los selváticos
- 3- El 12.9% de las chinches infectadas se alimentaron de humano y el 6% de perro. En el ambiente doméstico, el 13% de los insectos que se alimentaron de humano y el 29% de los insectos que se alimentaron de perro estuvieron infectados
- 4- No se encontró asociación de la infección con una fuente alimenticia en particular
- 5- Se sugiere que el perro es el principal actor en la red de transmisión del parásito al humano en nuestras localidades de estudio

IX. PERSPECTIVAS

- Realizar estudios comparando la variación de las fuentes alimenticias e infección por periodos (lluvias y secas)
- Realizar muestreos para determinar la prevalencia de la infección en aquellos mamíferos encontrados como fuente alimenticia de insectos colectados en el ambiente doméstico y el ambiente selvático, con el fin de obtener información que corrobore los datos presentes

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Chagas C. Nova tripanozomíaze humana. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1909;1:159–218.
2. World Health Organization: Chagas disease (American trypanosomiasis). World Health Organ Fact Sheet. 2014; 340: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>
3. Pellecer MJ, Dorn PL, Bustamante DM, Rodas A, Monroy MC. Vector blood meals are an early indicator of the effectiveness of the ecohealth approach in halting Chagas transmission in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg*. 2013;88(4):638–644.
4. Logue K, Keven JB, Cannon M V. Unbiased characterization of Anopheles mosquito blood meals by targeted High-Throughput Sequencing. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(3):1–18.
5. Zeledón R, Solano G, Swartzwelder JC. Sources of blood for *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) in an endemic area of Chagas' disease in Costa Rica. *J Parasitol*. 1970;56(1):102.
6. Stevens L, Monroy MC, Rodas AG, Dorn PL. Hunting, Swimming, and worshipping: human cultural practices illuminate the blood meal sources of Cave Dwelling Chagas Vectors (*Triatoma dimidiata*) in Guatemala and Belize. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(9):e3047.
7. Chinchilla M. Hallazgo de dos nuevos reservorios de la Enfermedad de Chagas en Costa Rica. *Acta Med Costarric*. 1966;9(3):165–166.
8. Hernández C, Salazar C, Brochero H. Untangling the transmission dynamics of primary and secondary vectors of *Trypanosoma cruzi* in Colombia: parasite infection, feeding sources and discrete typing units. *Parasit Vectors*. 2016;9(1):620.
9. Quintal RE, Polanco GG. Feeding preferences of *Triatoma dimidiata maculipennis* in Yucatan, Mexico. *Am J Trop Med Hyg*. 1977;26(1):176–178.
10. Guzmán-Marín E.S, Barrera M.A, Rodríguez M.E., Zavala-Velázquez J.E. Hábitos biológicos de *Triatoma dimidiata* en Yucatán. *Rev Biomédica*. 1992;3:125–131.
11. Guzman-Tapia Y, Ramírez-Sierra MJ, Dumonteil E. Urban Infestation by *Triatoma dimidiata* in the City of Mérida, Yucatán, México. *Vector-Borne Zoonotic Dis*. 2007;7(4):597–606.

12. Dumonteil E, Ramirez-Sierra M-J, Pérez-Carrillo S. Detailed ecological associations of triatomines revealed by metabarcoding and next-generation sequencing: implications for triatomine behavior and *Trypanosoma cruzi* transmission cycles. *Sci Rep*. 2018;8(1):4140.
13. Waleckx E, Suarez J, Richards B, Dorn PL. *Triatoma sanguisuga* blood meals and potential for Chagas disease, Louisiana, USA. *Emerg Infect Dis*. 2014;20(12):2141–2143.
14. Stevens L, Dorn PL, Hobson J. Vector Blood meals and Chagas disease transmission potential, United States. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(4):646–649.
15. Carabarin-Lima A, González-Vázquez MC, Rodríguez-Morales O. Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: An update. *Acta Trop*. 2013;127(2):126–135.
16. Ramsey JM, Peterson AT, Carmona-Castro O. Atlas of Mexican Triatominae (Reduviidae: Hemiptera) and vector transmission of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110(3):339–352.
17. Cruz-Reyes A, Pickering-López JM. Chagas disease in Mexico: An analysis of geographical distribution during the past 76 years - A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006;101(4):345–354.
18. Waleckx E, Pasos-Alquicira R, Ramírez-Sierra MJ, Dumonteil E. Sleeping habits affect access to host by Chagas disease vector *Triatoma dimidiata*. *Parasit Vectors*. 2016;9(1):568.
19. Zavala-Velasquez J. La enfermedad de Chagas en el estado de Yucatan, Mexico. *Rev Biomed*. 2003;14(1):35–43.
20. Rassi A, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet*. 2010;375(9723):1388–1402.
21. Vargas-Parada L. Kinetoplastids and Their networks of interlocked DNA. *Nat Educ*. 2010;3(9):63.
22. Junqueira C, Caetano B, Bartholomeu DC. The endless race between *Trypanosoma cruzi* and host immunity: lessons for and beyond Chagas disease. *Expert Rev Mol Med*. 2010;12(September):e29.
23. Noireau F, Diosque P, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. *Vet Res*. 2009;40(2):26.
24. Ceballos LA. Ciclo silvestre de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en el noroeste de Argentina [Recurso electrónico] Ricardo E. Gürtler. 2010.

25. Hernández Betancourt SF, Cimé Pool J, Sosa Escalante J, Pech Canché J, Chablé Santos J. Mamíferos terrestres. Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. 2010:268–271.
26. Sánchez-Cordero V, Botello F, Flores-Martínez JJ. Biodiversidad de Chordata (Mammalia) en México. *Rev Mex Biodivers.* 2014;85(SUPPL.):496–504.
27. Sosa-Escalante J, Hernández-Betancourt S, Pech-Canché JM, MacSwiney C, Díaz-Gamboa R. Los Mamíferos del Estado de Yucatán. *Rev Mex Mastozoología Nueva época.* 2014.
28. Zavala-Velázquez J, Barrera-Pérez M, Rodríguez-Félix ME, Guzmán-Marín E, Ruíz-Piña H. Infection by *Trypanosoma cruzi* in mammals in Yucatan, Mexico: A serological and parasitological study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1996;38(4):289–292.
29. Reyes-Novelo E, Ruíz-Piña H, Escobedo-Ortegón, J., Rodríguez-Vivas I, Bolio-González M, Polanco-Rodríguez Á, Manrique-Saide P. Situación actual y perspectivas para el estudio de las enfermedades zoonóticas emergentes, reemergentes y olvidadas en la Península de Yucatán, México. *Trop Subtrop Agroecosystems.* 2011;14:35–54.
30. Ruiz-Piña H, Reyes-Novelo E, Escobedo F, Barrera Pérez AM. Mamíferos sinantrópicos y la transmisión de enfermedades zoonóticas en el área rural de Yucatán. (2013)183-194.
31. Bargues MD, Schofield CJ, Dujardin JP. *Classification and Phylogeny of the Triatominae.* American T. London.; 2010.
32. Salazar Schettino PM, De I, Arteaga H, Cabrera Bravo M. Tres especies de triatomíneos y su importancia como vectores de *Trypanosoma cruzi* En Mexico. *Med (Buenos Aires).* 2005;65:63–69.
33. Rabinovich JE, Kitron UD, Obed Y, Yoshioka M, Gottdenker N, Chaves LF. Ecological patterns of blood-feeding by kissing-bugs (Hemiptera : Reduviidae : Triatominae). 2011;106(January):479–494.
34. Schaub GA, Böker CA, Jensen C, Reduth D. Cannibalism and corprophagy are modes of transmission of *Blastochrithidia triatomae* (Trypanosomatidae) between Triatomines. *J Protozool.* 1989;362(2):171–175.
35. Díaz-Albiter HM, Ferreira TN, Costa SG. Everybody loves sugar: first report of plant feeding in triatomines. *Parasit Vectors.* 2016;9(1):114.

36. Jirón LF, Zeledón R. Preferencias alimentarias (Hemiptera : Reduviidae) de tres especies de Triatominae en condiciones experimentales. *Rev. Biol.Trop.* 1982;30(2):151–159.
37. Schofield CJ. The behaviour of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): a review. *Bull Entomol Res.* 1979;69(3):363–379.
38. Cecere MC, Leporace M, Fernández MP. Host-feeding sources and infection with *Trypanosoma cruzi* of *Triatoma infestans* and *Triatoma eratyrsiformis* (Hemiptera: Reduviidae) From the Calchaqui Valleys in Northwestern Argentina. *J Med Entomol.* 2016:tjw002.
39. Flores-Ferrer A, Marcou O, Waleckx E, Dumonteil E, Gourbière S. Evolutionary ecology of Chagas disease; what do we know and what do we need? *Evol Appl.* 2018;11(4):470–487.
40. Pinto J, Cáceres AG, Vega S, Martínez R, Náquira C. Fuentes de alimentación de *Panstrongylus herreri* (hemiptera : Triatominae) Capturados en Utcubamba , Amazonas- Perú. *Rev Peru Med Exp en Salud Pública.* 2008;25(2):179–184.
41. Kieran TJ, Gottdenker NL, Varian CP. Blood meal source characterization using illumina sequencing in the Chagas disease vector *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae) in Panamá. *J Med Entomol.* 2017;54(6):1786–1789.
42. Lucero DE, Ribera W, Pizarro JC. Sources of blood meals of sylvatic *Triatoma guasayana* near Zurima, Bolivia, Assayed with qPCR and 12S Cloning. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(12).
43. Richards B, de la Rúa NM, Monroy C, Stevens L, Dorn PL. Novel polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay to determine internal transcribed spacer-2 group in the Chagas disease vector, *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013;108(4):395–398. 1
44. Monroy MC, Bustamante DM, Rodas AG, Enriquez ME, Rosales RG. Habitats, Dispersion and Invasion of Sylvatic *Triatoma dimidiata*; (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Petén, Guatemala. *J Med Entomol.* 2003;40(6):800–806.
45. Waleckx E, Gourbière S, Dumonteil E. Intrusive versus domiciliated triatomines and the challenge of adapting vector control practices against Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2015;110(3):324–338.
46. Dumonteil E, Gourbiere S, Barrera-Perez M. Geographic distribution of *Triatoma dimidiata* and transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* in the Yucatan peninsula of Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;67(2):176–183.

47. Dumonteil E, Ramirez-Sierra MJ, Ferral J, Euan-Garcia M, Chavez-Nuñez L. Usefulness of community participation for the fine temporal monitoring of house infestation by non-domiciliated triatomines. *J Parasitol.* 2009;95(2):469–471.
48. Payet V, Ramirez-Sierra MJ, Rabinovich J, Menu F, Dumonteil E. Variations in sex ratio, feeding, and fecundity of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) Among Habitats in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2009;9(3):243–251.
49. Barbu C, Dumonteil E, Gourbière S. Optimization of Control Strategies for Non-Domiciliated *Triatoma dimidiata*, Chagas Disease Vector in the Yucatán Peninsula, Mexico. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009;3(4):e416.
50. Gourbière S, Dumonteil E, Rabinovich JE, Minkoue R, Menu F. Demographic and dispersal constraints for domestic infestation by non-domiciliated Chagas disease vectors in the Yucatan Peninsula, Mexico. *J Trop Med Hyg.* 2008;78(1):133–139.
51. Reyes-Novelo E, Ruiz-Piña H, Escobedo-Ortegón J, Barrera-Pérez M, Manrique-Saide P, Rodríguez-Vivas RI. *Triatoma dimidiata* (Latreille) abundance and infection with *Trypanosoma cruzi* in a rural community of Yucatan, Mexico. *Neotrop Entomol.* 2013;42(3):317–324.
52. Ostfeld RS, Keesing F. Biodiversity and disease risk: The case of lyme disease. *Conserv Biol J Soc Conserv Biol.* 2000;14(3):722–728.
53. Cupp EW, Hassan HK, Yue X, Oldland WK, Lilley BM, Unnasch TR. West Nile Virus Infection in Mosquitoes in the Mid-South USA, 2002–2005. *J Med Entomol.* 2007;44(1):117–125.
54. Lee JH, Hassan H, Hill G, Eddie W. C, Higazi TB, Mitchell CJ. Identification of mosquito avian-derived blood meals by polymerase chain reaction-heteroduplex analysis. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;345(6195):455–9.
55. Farfán-García AE, Angulo-Silva VM. *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) populations' feeding behaviour in an endemic zone and related epidemiological implications. *Rev Saude Publica.* 2011;13(1):163–172.
56. Sasaki H, Rosales R, Tabaru Y. Host feeding profiles oh *Rhodnius prolixus* and *Triatoma dimidiata* in Guatemala (Hemiptera: Reduviidae: Triatomae). *Jap J Sanit Zool.* 2003;54(3):283–289.
57. Roellig DM, Gomez-Puerta LA, Mead DG. Hemi-nested PCR and RFLP methodologies for identifying blood meals of the Chagas disease vector, *Triatoma infestans*. *PLoS One.* 2013;8(9):e74713.

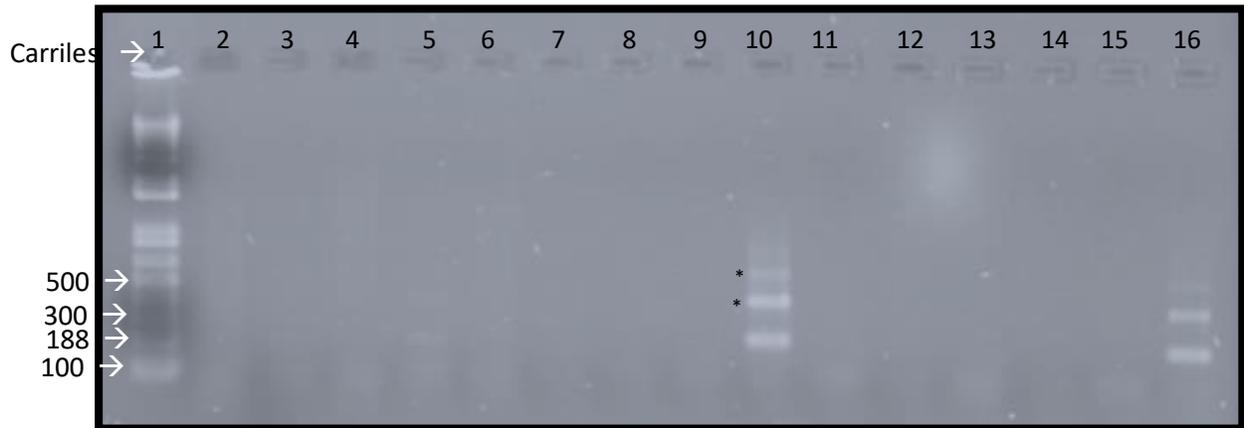
58. Pellecer MJ, Dorn PL, Bustamante DM, Rodas A, Monroy MC. Vector blood meals are an early indicator of the effectiveness of the ecohealth approach in halting Chagas transmission in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg.* 2013;88(4):638–644.
59. Quintal RE, Polanco G. Feeding preferences of *Triatoma dimidiata maculipennis* in Yucatán, Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 1977;26(1):176–178.
60. Dumonteil E, Gourbière S. Predicting *Triatoma dimidiata* abundance and infection rate: a risk map for natural transmission of chagas disease in the yucatan peninsula of Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;70(5):514–519.
61. CONABIO. Portal de geoinformación, sistema nacional de información sobre biodiversidad . [Internet]. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
62. Noireau F, Flores R, Vargas F. Trapping sylvatic Triatominae (Reduviidae) in hollow trees. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1999;93(1):13–14.
63. Noireau F, Dujardin JP. Flight and nutritional status of sylvatic *Triatoma sordida* and *Triatoma guasayana*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96(3):385–389.
64. Moser DR, Kirchhoff L V, Donelson JE. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA Amplification Using the Polymerase Chain Reaction. *J Clin Microbiol.* 1989;27(7):1477.
65. Kitano T, Umetsu K, Tian W, Osawa M. Two universal primer sets for species identification among vertebrates. *Int J Legal Med.* 2007;121(5):423–427.
66. Hall T. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser.* 1999;41:95–98.
67. Fisher RA. On the Interpretation of χ^2 from Contingency tables, and the calculation of P. *J R Stat Soc.* 1922;85(1):87.
68. Graham SP, Hassan HK, Chapman T, White G, Guyer C, Unnasch TR. Serosurveillance of Eastern equine encephalitis virus in amphibians and reptiles from Alabama, USA. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;86(3):540–544.
69. Velasco-Castrejón Ó, Rivas-Sánchez B. Apuntes para la historia de la enfermedad de Chagas en México. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2008;65(1):57–79.

70. Gurtler R, Cecere M, Lauricella M, Cardinal M, Kitron U, Cohen J. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parasitology*. 2007;134(Pt 1):69–82.
71. Zeledon R, Solano G, Swartzwelder JC. Sources of blood for *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) in an endemic area of Chagas' disease in Costa Rica. *J Parasitol*. 1970;56(1):102.
72. Portugal-García C, García-Vázquez Z, Monteón-Padilla V, Chávez-López V, Olamendi-Portugal M, Ramos C. Anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en humanos y perros y presencia del parásito en *Meccus pallidipennis* en la localidad de Puente Pantitlán, Morelos, México. *Biomedica*. 2011;22(3):67–75.
73. Carrillo-Peraza JR, Manrique-Saide P, Rodríguez-Buenfil JC. Estudio serológico de la Tripanosomiasis Americana y factores asociados en perros de una comunidad rural de Yucatán, México. *Arch Med Vet*. 2014;46(1):75–81.
74. Barbu C, Dumonteil E, Gourbière S. Optimization of control strategies for non-domiciliated *Triatoma dimidiata*, Chagas disease vector in the Yucatán Peninsula, Mexico. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(4).
75. Dumonteil E, Nouvellet P, Rosecrans K. Eco-bio-social determinants for house infestation by non-domiciliated *Triatoma dimidiata* in the Yucatan Peninsula, Mexico. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(9):1–9.
76. Koyoc-Cardena E, Mdeina-Barreriro A, Escobedo-Ortegó FJ. Chicken coops, *Triatoma dimidiata* and its infection with *Trypanosoma cruzi* in a rural village of Yucatan, Mexico. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2015;57(3):269–272.
77. Buitrago R, Bosseno M-F, Depickère S. Blood meal sources of wild and domestic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in Bolivia: connectivity between cycles of transmission of *Trypanosoma cruzi*. *Parasit Vectors*. 2016;9(1):214.
78. Farfán-García AE, Angulo-Silva VM. Conducta alimentaria de poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) en una zona endémica y sus implicaciones epidemiológicas. *Rev Salud Pública*. 2011;13(1):163–172.
79. Dumonteil E, Ruiz-Piña H, Rodríguez-Félix E. Re-infestation of houses by *Triatoma dimidiata* after intradomicile insecticide application in the Yucatán Peninsula, Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99(3):253–256.

80. Zavala-Velazquez M; Rodriguez-Felix, ME; Guzman-Martin, E; Ruiz-Pina, H JB-P. Infection by *Trypanosoma cruzi* in Yucatan, Mexico: a serological and parasitological study. *PubMed Abstr Rev Inst Med Trop Sao Pablo*. 1996;38(4):289–292.
81. Ruiz-Piña H, Cruz-Reyes A. The opossum *Didelphis virginiana* as a synanthropic reservoir of *Trypanosoma cruzi* in Dzidzilché, Yucatán, México. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(5):613–620.
82. Dumonteil E, Gourbière S, Barrera-Pérez M. Geographic distribution of *Triatoma dimidiata* and transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* in the Yucatán peninsula of Mexico. *Am J Trop Med Hyg*. 2002;67(2):176–183.

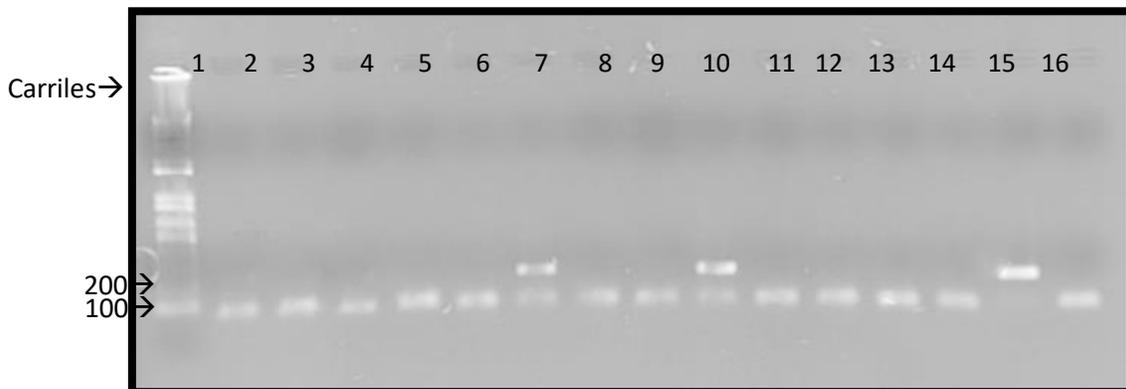
XI. ANEXOS

Anexo 1.1 Visualización de los productos de amplificación del fragmento de 188pb del ADN



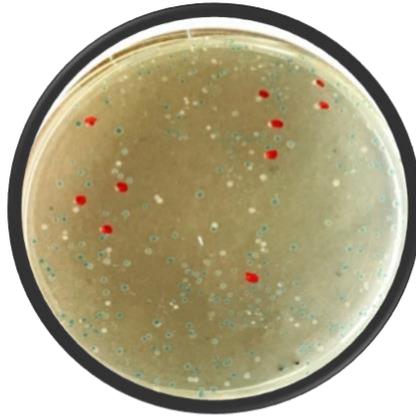
Visualización de los productos de amplificación del fragmento de 188pb del ADN de los minicúrculos de *T. cruzi*. Las bandas de aproximadamente 376 y 564pb (*) son también productos específicos resultado de la amplificación de dos o tres copias de 188pb encontradas en tándem en el genoma de *T. cruzi*. Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. Carril 1 marcador de peso molecular, carriles 2-13 muestras, carril 15 control negativo, carril 16 control positivo. Se tomó como positivo a la muestra del carril 10.

Anexo 1.2 Visualización de los productos de amplificación del fragmento de 215 pb del gen 12S del ARN ribosomal de vertebrados



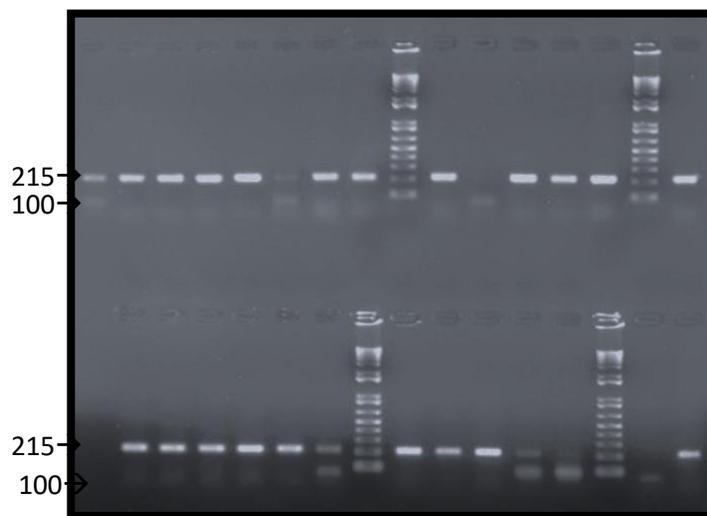
Visualización de los productos de amplificación del fragmento de 215 pb del gen 12S del ARN ribosomal de vertebrados. Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. Carril 1 marcador de peso molecular, carriles 2-14 muestras, 15 control positivo y 16 control negativo. Las muestras de los carriles 7 y 10 fueron consideradas como positivas a alimentación.

Anexo 1.3 Placa con medio Luria Bertani



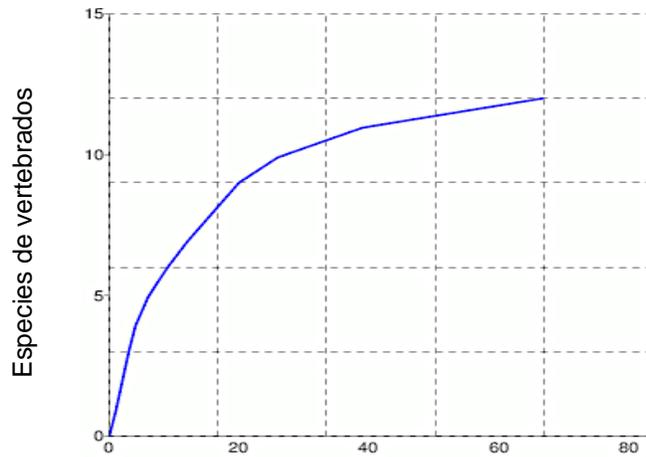
Placa con medio Luria Bertani, ampicilina, IPTG, X-gal, sembrada. Se seleccionaron ocho colonias blancas al azar. Los puntos en rojos fueron las colonias seleccionadas. Los puntos rojos representan las colonias que fueron seleccionadas para extracción de ADN.

Anexo 1.4 Visualización de los productos de reamplificación por PCR del ADN de colonias transformadas



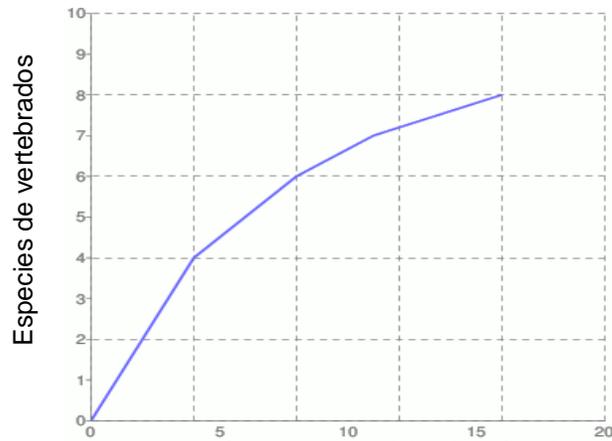
Visualización de los productos de reamplificación por PCR del ADN de colonias transformadas utilizando cebadores universales para vertebrados. Gel de agarosa al 1% teñido con Bromuro de Etidio

Anexo 2 Curvas de rarefacción



Insectos con fuente alimenticia identificada

Curva de rarefacción de las fuentes alimenticias encontradas en *T. dimidiata* capturados en ambiente doméstico. Se graficó el número de especies identificadas contra el número de insectos



Insectos con fuente alimenticia identificada

Curva de rarefacción de las fuentes alimenticias encontradas en *T. dimidiata* capturados en ambiente selvático. Se graficó el número de especies identificadas contra el número de insectos. Se observa que la curva está en fase de crecimiento rápido.

Anexo 3 Base de datos de *T. dimidiata*

CODIGO	LOCALIDAD	ECOTOPO	SEXO	INFECCION	Estatus Alimenticio	humano	Perro	Gato	Cerdo	Gallo/gallina	pavo	Ratón	Ganado vacuno	Tórtola	Murcielago	Pecarí	Mustélido	puercoespin	Venado	Rana	Ardilla	Secuencias resueltas	Especies
BOK001	Bok	peri-dome	Hembra	neg	Neg																		
BOK002	Bok	peri-dome	Hembra	pos	++								X				X					4	2
BOK003	Bok	peri-dome	Macho	neg	++																		

BOK013	Bok	peri-dome	Hembra	neg	++		X		6	1
BOK012	Bok	peri-dome	Hembra	pos	+++		X		6	1
BOK011	Bok	peri-dome	Hembra	neg	+++		X		11	1
BOK009	Bok	peri-dome	Macho	neg	+					
BOK007	Bok	peri-dome	Hembra	ind	Neg					
BOK005	Bok	selvatico	Hembra	neg	neg					
BOK004	Bok	peri-dome	Macho	pos	Neg					

BOK060	Bok	peri-dome	Hembra	ind	Neg				
BOK059	Bok	peri-dome	Hembra	neg	Neg				
BOK058	Bok	peri-dome	Macho	pos	Neg				
BOK057	Bok	peri-dome	Macho	neg	Neg				
BOK056	Bok	peri-dome	Macho	neg	++	X		3	1
BOK055	Bok	peri-dome	Macho	neg	Neg				
BOK054	Bok	peri-dome	Hembra	ind	++	X		5	1

BOK068	Bok	peri-dome	Hembra	neg	Neg			
BOK067	Bok	peri-dome	Hembra	neg	Neg			
BOK065	Bok	peri-dome	Hembra	neg	+	X	7	1
BOK064	Bok	peri-dome	Hembra	INHIBID C	INHIBID O			
BOK063	Bok	peri-dome	Hembra	neg	Neg			
BOK062	Bok	peri-dome	Hembra	neg	+++	X	8	1
BOK061	Bok	peri-dome	Macho	INHIBID C	INHIBID O			

BOK076	Bok	peri-dome	Hembra	ind	Neg				
BOK075	Bok	peri-dome	Macho	neg	Neg				
BOK073	Bok	peri-dome	Macho	neg	++				
BOK072	Bok	peri-dome	Hembra	neg	+		X		1 1
BOK071	Bok	peri-dome	Hembra	neg	Neg				
BOK070	Bok	peri-dome	Macho	neg	Neg				
BOK069	Bok	peri-dome	Hembra	ind	++		X		4 1

BOK083	Bok	peri-dome	Macho	neg	++		X				5	1
BOK082	Bok	peri-dome	Macho	neg	Neg							
BOK081	Bok	peri-dome	Hembra	INHIBID _C	INHIBID _O							
BOK080	Bok	peri-dome	Hembra	neg	Neg							
BOK079	Bok	peri-dome	Macho	neg	Neg							
BOK078	Bok	peri-dome	Macho	neg	Neg							
BOK077	Bok	peri-dome	N5	neg	+++				X		1	1

BOK090	Bok	selvatico	Hembra	neg	neg				
BOK089	Bok	peri-dome	Macho	neg	Neg				
BOK088	Bok	peri-dome	Macho	neg	+				
BOK087	Bok	peri-dome	Hembra	neg	Neg				
BOK086	Bok	peri-dome	Hembra	INHIBID _C	INHIBID _O				
BOK085	Bok	peri-dome	Hembra	neg	Neg				
BOK084	Bok	peri-dome	Hembra	neg	++		X		1 1

BOK097	Bok	selvatico	Macho	INHIBID C	INHIBID O
BOK096	Bok	selvatico	Macho	neg	neg
BOK095	Bok	selvatico	Macho	neg	neg
BOK094	Bok	selvatico	Hembra	neg	neg
BOK093	Bok	selvatico	Hembra	neg	++
BOK092	Bok	selvatico	Hembra	INHIBID C	INHIBID O
BOK091	Bok	selvatico	Hembra	neg	neg

BOK105	Bok	peri-dome	N5	INHIBID C	INHIBID O		
BOK104	Bok	peri-dome	N5	neg	Neg		
BOK103	Bok	selvatico	Macho	neg	+++	X	
BOK102	Bok	selvatico	Macho	neg	neg		
BOK101	Bok	selvatico	Macho	INHIBID C	INHIBID O		
BOK100	Bok	selvatico	Macho	neg	neg		
BOK098	Bok	selvatico	Macho	pos	neg		

6

1

SUD019	Sud	peri-dome	Macho	neg	Neg			
SUD017	Sud	peri-dome	Hembra	neg	+	X	X	7 2
SUD016	Sud	peri-dome	Hembra	INHIBID C	INHIBID O			
SUD015	Sud	peri-dome	Hembra	ind	+++	X		2 1
SUD014	Sud	peri-dome	Macho	neg	Neg			
SUD013	Sud	peri-dome	Hembra	neg	+		X	6 1
SUD012	Sud	peri-dome	Hembra	neg	Neg			

SUD027	Sud	peri-dome	Macho	neg	Neg						
SUD026	Sud	peri-dome	Hembra	neg	+++				X		4 1
SUD025	Sud	peri-dome	Hembra	ind	++			X			4 1
SUD024	Sud	peri-dome	Hembra	INHIBID C	INHIBID O						
SUD023	Sud	peri-dome	Macho	neg	++	X		X			3 2
SUD022	Sud	peri-dome	Hembra	INHIBID C	INHIBID O						
SUD020	Sud	peri-dome	Hembra	neg	+			X			3 1

SUD037	Sud	peri-dome	Hembra	neg	Neg			
SUD036	Sud	peri-dome	Macho	pos	+++		X	1 1
SUD035	Sud	peri-dome	Hembra	INHIBID _C	INHIBID _O			
SUD033	Sud	peri-dome	Hembra	neg	+++	X		6 1
SUD032	Sud	peri-dome	Hembra	neg	++	X		1 1
SUD031	Sud	peri-dome	Macho	neg	Neg			
SUD028	Sud	peri-dome	Macho	neg	Neg			

SUD047	Sud	peri-dome	Hembra	ind	+++		X			10	1
SUD046	Sud	peri-dome	Hembra	neg	Neg						
SUD045	Sud	peri-dome	N5	ind	+++		X			1	1
SUD043	Sud	peri-dome	Hembra	ind	+++		X	X		6	2
SUD042	Sud	peri-dome	Macho	pos	++		X			4	1
SUD039	Sud	peri-dome	Hembra	neg	Neg						
SUD038	Sud	peri-dome	Macho	pos	Neg						

SUD057	Sud	selvatico	Hembra	neg	neg
SUD056	Sud	selvatico	Hembra	ind	neg
SUD055	Sud	selvatico	Hembra	pos	neg
SUD053	Sud	selvatico	Hembra	pos	neg
SUD052	Sud	selvatico	Hembra	INHIBID C	INHIBID O
SUD051	Sud	selvatico	Hembra	ind	neg
SUD050	Sud	selvatico	Hembra	INHIBID C	INHIBID O

SUD086	Sud	peri-dome	Macho	neg	++	X	X	2	2
SUD085	Sud	peri-dome	Hembra	ind	+	X		1	1
SUD082	Sud	peri-dome	Macho	neg	++	X		5	1
SUD080	Sud	peri-dome	Hembra	neg	++	X		7	1
SUD079	Sud	peri-dome	Hembra	neg	++	X		1	1
SUD078	Sud	peri-dome	Macho	ind	Neg				
SUD074	Sud	peri-dome	Macho	ind	++				

SUD093	Sud	selvatico	Hembra	neg	neg					
SUD092	Sud	selvatico	Macho	ind	neg					
SUD091	Sud	selvatico	Hembra	neg	+	X		X	4	2
SUD090	Sud	selvatico	Macho	ind	neg					
SUD089	Sud	selvatico	Macho	neg	neg					
SUD088	Sud	selvatico	Hembra	ind	neg					
SUD087	Sud	peridome	Macho	pos	+	X			2	1

SUD108	Sud	peri-dome	Macho	neg	Neg			
SUD107	Sud	peri-dome	Macho	neg	Neg			
SUD106	Sud	peri-dome	Hembra	neg	+	X		3 1
SUD105	Sud	peri-dome	Macho	INHIBID C	INHIBID O			
SUD104	Sud	peri-dome	Macho	pos	Neg			
SUD103	Sud	peri-dome	Macho	neg	++	X	X	3 2
SUD102	Sud	peri-dome	Hembra	INHIBID C	INHIBID O			

SUD117	Sud	selvatico	Macho	ind	neg								
SUD116	Sud	selvatico	Macho	pos	neg								
SUD113	Sud	peri-dome	Hembra	neg	Neg								
SUD112	Sud	peri-dome	Macho	neg	+++		X					3	1
SUD111	Sud	peri-dome	Macho	INHIBID C	INHIBID O								
SUD110	Sud	peri-dome	Macho	neg	+		X					2	2
SUD109	Sud	peri-dome	N5	neg	+++				X			4	1

SUD125	Sud	selvatico	Hembra	neg	neg				
SUD124	Sud	selvatico	Macho	neg	+	X			4 2
SUD123	Sud	selvatico	Macho	ind	neg				
SUD122	Sud	selvatico	Macho	ind	+		X		7 1
SUD120	Sud	selvatico	Macho	pos	neg				
SUD119	Sud	selvatico	Hembra	pos	neg				
SUD118	Sud	selvatico	Macho	pos	neg				

TEY014	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg
TEY013	Tey	peri-dome	Macho	pos	neg
SUD154	Sud	peri-dome	Hembra	neg	Neg
SUD131	Sud	peri-dome	Hembra	neg	Neg
SUD130	Sud	peri-dome	Hembra	neg	Neg
SUD129	Sud	peri-dome	Hembra	neg	Neg
SUD128	Sud	peri-dome	Macho	neg	Neg

TEY021	Tey	peri-dome	Hembra	pos	Neg		
TEY020	Tey	peri-dome	Macho	neg	Neg		
TEY019	Tey	peri-dome	Hembra	ind	Neg		
TEY018	Tey	peri-dome	N5	ind	Neg		
TEY017	Tey	peri-dome	Hembra	ind	Neg		
TEY016	Tey	peri-dome	N5	ind	++	X	6 1
TEY015	Tey	peri-dome	Hembra	pos	++		

TEY037	Tey	selvatico	Macho	neg	neg														
TEY036	Tey	selvatico	Macho	ind	+	X	X												
TEY035	Tey	selvatico	Hembra	neg	neg														
TEY033	Tey	peri-dome	N5	neg	+	X	X												
TEY032	Tey	peri-dome	Macho	ind	Neg														
TEY031	Tey	peri-dome	Hembra	ind	Neg														
TEY030	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg														

TEY044	Tey	peri-dome	Macho	neg	Neg		
TEY043	Tey	selvatico	Macho	ind	+	X	1 1
TEY042	Tey	selvatico	Macho	neg	neg		
TEY041	Tey	selvatico	Macho	ind	neg		
TEY040	Tey	selvatico	Macho	pos	neg		
TEY039	Tey	selvatico	Macho	ind	neg		
TEY038	Tey	selvatico	Macho	ind	neg		

TEY054	Tey	selvatico	Hembra	neg	neg			
TEY052	Tey	peri-dome	Hembra	ind	Neg			
TEY051	Tey	peri-dome	Macho	ind	Neg			
TEY050	Tey	peri-dome	Hembra	pos	Neg			
TEY049	Tey	peri-dome	Hembra	neg	+	X	X	3 2
TEY048	Tey	peri-dome	Hembra	pos	Neg			
TEY045	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg			

TEY061	Tey	selvatico	Macho	neg	neg			
TEY060	Tey	selvatico	Hembra	neg	++		X	1 1
TEY059	Tey	selvatico	Hembra	neg	neg			
TEY058	Tey	selvatico	Hembra	neg	neg			
TEY057	Tey	selvatico	Hembra	neg	neg			
TEY056	Tey	selvatico	Hembra	neg	neg			
TEY055	Tey	selvatico	Hembra	neg	neg			

TEY068	Tey	selvatico	Macho	neg	neg			
TEY067	Tey	selvatico	Macho	INHIBID C	INHIBID O			
TEY066	Tey	selvatico	Macho	neg	++	X	7	1
TEY065	Tey	selvatico	Macho	neg	neg			
TEY064	Tey	selvatico	Macho	INHIBID C	INHIBID O			
TEY063	Tey	selvatico	Macho	neg	neg			
TEY062	Tey	selvatico	Macho	neg	+			

TEY075	Tey	peri-dome	Macho	neg	+++	X			4	1
TEY074	Tey	peri-dome	Macho	neg	++	X		X	3	2
TEY073	Tey	peri-dome	Macho	neg	+++		X		4	1
TEY072	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg					
TEY071	Tey	selvatico	Macho	neg	+++		X		6	1
TEY070	Tey	selvatico	Macho	neg	neg					
TEY069	Tey	selvatico	Macho	neg	++					

TEY082	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg		
TEY081	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg		
TEY080	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg		
TEY079	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg		
TEY078	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg		
TEY077	Tey	peri-dome	Hembra	neg	+++	X	4 1
TEY076	Tey	peri-dome	Macho	ind	Neg		

TEY097	Tey	peri-dome	Macho	ind	++
TEY093	Tey	selvatico	Macho	neg	neg
TEY089	Tey	selvatico	Hembra	ind	neg
TEY087	Tey	peri-dome	Macho	ind	Neg
TEY085	Tey	peri-dome	Hembra	ind	++
TEY084	Tey	peri-dome	Hembra	neg	+
TEY083	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg

TEY134	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg
TEY133	Tey	peri-dome	Macho	neg	Neg
TEY129	Tey	peri-dome	Macho	neg	+
TEY127	Tey	peri-dome	Macho	INHIBID O	INHIBID O
TEY126	Tey	peri-dome	Hembra	INHIBID O	INHIBID O
TEY124	Tey	peri-dome	Macho	INHIBID O	INHIBID O
TEY123	Tey	peri-dome	Macho	pos	++

TEY149	Tey	peri-dome	Macho	neg	Neg		
TEY141	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg		
TEY140	Tey	peri-dome	Hembra	neg	Neg		
TEY139	Tey	peri-dome	Macho	pos	+++	X	5 1
TEY138	Tey	peri-dome	Macho	neg	++		
TEY136	Tey	peri-dome	Hembra	neg	++		
TEY135	Tey	peri-dome	Hembra	neg	+		

*Bok= Bokobá, Sud=Sudzal, Tey= Teya

**pos.- Positivo a *T. cruzi*

***neg.- Negativo a *T. cruzi*

La intensidad de las bandas se midió como baja (+), mediana (++) y alta (+++)

