



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Investigaciones Biomédicas

**ESTUDIO GENÉTICO Y ENTOMOLÓGICO DE  
TRIATÓMINOS (HEMIPTERA:REDUVIIDAE)  
TRANSMISORES DE *Trypanosoma cruzi* EN CINCO  
COMUNIDADES DE LA REGIÓN  
DEL ISTMO DE TEHUANTEPEC, OAXACA**

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(SISTEMÁTICA)**

P R E S E N T A

GUIEHDANI VILLALOBOS CASTILLEJOS

DIRECTORA DE TESIS: DRA. BERTHA ESPINOZA GUTIÉRREZ

MÉXICO, D.F.

FEBRERO, 2008



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## RECONOCIMIENTOS

Esta tesis de Maestría se realizó bajo la dirección de la Dra. Bertha Espinoza Gutiérrez en el laboratorio de Tripanosomiasis, en el Departamento de Inmunología del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El Comité Tutorial que asesoró el desarrollo de esta tesis estuvo formado por:

Dra. Bertha Espinoza Gutiérrez	Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
Dr. Fernando A. Cervantes Reza	Instituto de Biología, UNAM
Dr. Luis M. Cervantes Peredo	Instituto de Ecología A.C.

Se reconoce el apoyo otorgado por el Posgrado en Ciencias Biológicas por brindarme las herramientas científicas a lo largo de mis estudios de maestría que fueron fundamentales para el desarrollo de este proyecto.

Se reconoce la colaboración del P. de D. Fernando Martínez Hernández en el trabajo realizado en las colectas de campo, así como la de: Deyanira Pérez, Janet García y Cenia Almazán.

Se reconoce el apoyo otorgado por todas las Autoridades Municipales de las diferentes comunidades durante nuestro trabajo de campo.

Se reconoce la asesoría del Dr. Ricardo Alejandro Aguilar de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional en la identificación morfológica de los insectos.

El estudio fue apoyado por el proyecto DGAPA IN212806. Durante los estudios de Maestría gocé de una beca otorgada por CONACYT para la realización de la presente tesis. Además de apoyo otorgado por el PAEP.

Se reconoce los valiosos comentarios del Jurado de Examen:

Presidente	Dr. Fernando A. Cervantes Reza	Instituto de Biología, UNAM
Vocal	Dr. Ricardo Alejandro Aguilar	Escuela Nacional Ciencias Biológicas, IPN
Secretario	Dra. Bertha Espinoza Gutiérrez	I. de Investigaciones Biomédicas, UNAM
Suplente	Dra. Blanca E. Hernández Baños	Facultad de Ciencias, UNAM
Suplente	Dr. Luis M. Cervantes Peredo	Instituto de Ecología A.C.

## *DEDICATORIA*

*A mis padres: Florencia y Eleazar,*

por ser mis guías y apoyarme en mis proyectos, por pensar en mi en todo momento y preocuparse tanto hasta porque no contesto el teléfono, gracias por regalarme la dicha de ser su hija.

*A mi hermano: Fidel,*

por t  incondicional apoyo y por darme los ánimos necesarios, gracias por brindarme la oportunidad de ser t  hermana.

*A Fernando:*

por estar siempre atento a escucharme cuando necesito un amigo y por abrazarme y apoyarme cuando necesito una pareja, gracias por regalarme todo t  amor.

*A mi tía Tencha y mis abuelitos:*

tía te admiro mucho y eres un ejemplo de fortaleza para mi, abuelitos, los adoro.

*A Bertha:*

por todas sus enseñanzas y por brindarme la confianza de pertenecer a su grupo de trabajo.

*A mi reci-mu gano:*

Chabe, Fabi, Jacob, Marci, Mel, Nelly, Yajis, Yaz, Yess y Vane: un amigo verdadero es alguien que llega cuando todos los demás se van, es alguien que cree en ti incluso cuando t  has dejado de creer en ti misma, eso son ustedes, gracias hermanas (o).

*A mis nuevos grandes amigos: Yeya y Roc*

gracias por tantas risas y momentos inolvidables, me han enseñado que ante momentos difíciles no hay nada mejor que re irse.

*A mis compañeros de laboratorio:*

Andrea V., Andrea J., Cenia, Ignacio, José Antonio, Natalia, Noemí y Ma. Luisa.

*Uno de los placeres más grandes  
de la vida, es hacer lo que la gente  
dice que no podemos.*

W. Bagehot

## ÍNDICE

---

---

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	4
I.- Transmisión .....	4
II.- Factores de riesgo .....	6
III.- Triatominos .....	8
IV.- Ciclo de vida .....	9
V.- Morfología .....	10
VI.- Distribución .....	11
VII.- Vectores eficientes en la transmisión de la Enfermedad de Chagas .....	12
VIII.- Estudios de campo en México .....	13
IX.- Vectores en Oaxaca .....	15
X.- Taxonomía .....	18
XI.- Marcadores moleculares empleados en triatóminos .....	19
XII.- ITS-2 y CytB .....	21
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	24
<b>HIPÓTESIS</b> .....	25
<b>OBJETIVOS</b> .....	26
<b>MATERIALES Y MÉTODO</b> .....	27
<b>RESULTADOS</b> .....	38
<b>DISCUSIÓN</b> .....	62
<b>CONCLUSIONES</b> .....	73
<b>PERSPECTIVAS</b> .....	74
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	75
<b>ANEXOS</b> .....	83

## ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS

---

---

FIGURAS	Página
Figura 1. Transmisión de <i>T. cruzi</i> en el humano.	5
Figura 2. Factores de riesgo asociados a la transmisión de <i>Trypanosoma cruzi</i> .	7
Figura 3. Estadios morfológicos durante el ciclo de vida de dos especies de triatóminos.	9
Figura 4. Aspectos morfológicos generales de los triatóminos.	10
Figura 5. Distribución del Complejo <i>Phyllosoma</i> a lo largo de la República Mexicana.	12
Figura 6. Distribución potencial de ocho especies de triatóminos en Oaxaca.	18
Figura 7. Ubicación del ITS dentro del cistron ribosomal.	21
Figura 8. Ubicación del CytB dentro del DNA mitocondrial.	23
Figura 9. Ubicación de las comunidades dentro del estado de Oaxaca.	28
Figura 10. Localización de los municipios dentro del Distrito de Tehuantepec.	29
Figura 11. Localización del municipio de Santa María Petapa dentro del Distrito de Juchitán.	31
Figura 12. Vista satelital del municipio de Magdalena Tequisistlán.	39
Figura 13. Tipo de viviendas en la comunidad de Magdalena Tequisistlán.	40
Figura 14. Vista satelital de la comunidad de San Mateo del Mar.	41
Figura 15. Tipo de vivienda encontrada en San Mateo del Mar y localización de los triatóminos dentro de ellas.	42
Figura 16. Vista satelital de la comunidad de San Miguel Ecatepec.	43
Figura 17. Tipo de vivienda en la comunidad de San Miguel Ecatepec.	44
Figura 18. Vista satelital de la comunidad de Santa María Petapa.	45
Figura 19. Tipo de vivienda en la comunidad de Santa María Petapa.	46

Figura 20.	Vista satelital de la comunidad de Santo Domingo Tehuantepec.	47
Figura 21.	Características de la vivienda en Tehuantepec.	48
Figura 22.	Distribución total de las ninfas y los adultos en las comunidades de Tehuantepec y San Mateo del Mar.	53
Figura 23.	Características morfológicas importantes de <i>Triatoma phyllosoma</i> .	55
Figura 24.	Gel de agarosa al 1.5%, teñido con bromuro de etidio para amplificadores de DNA de triatóminos.	57
Figura 25.	Estadios morfológicos durante el ciclo de vida de dos especies de triatóminos.	61

#### GRÁFICAS

Gráfica 1.	Presencia de animales domésticos asociados a las viviendas humanas en las cinco comunidades analizadas.	49
Gráfica 2.	Distribución y abundancia de triatóminos colectados en San Mateo del Mar.	52

#### TABLAS

Tabla 1.	Revisiones publicadas de triatóminos distribuidos en el estado de Oaxaca desde 1940 hasta la fecha.	16
Tabla 2.	Frecuencia de algunos factores de riesgo para la presencia del triatómino.	50
Tabla 3.	Índices entomológicos obtenidos en Tehuantepec y San Mateo del Mar.	54
Tabla 4.	Características de los ejemplares genéticamente analizados.	56
Tabla 5.	Matriz de distancias para los individuos de San Mateo del Mar y Tehuantepec.	59

## RESUMEN

---

---

México tiene una gran diversidad de insectos triatominos (Hemiptera: Reduviidae) los cuales se encuentran distribuidos en todo el territorio. Estos insectos son importantes a nivel epidemiológico, ya que son transmisores del parásito *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la Enfermedad de Chagas. El estado de Oaxaca es uno de los estados que cuenta con más estudios de la enfermedad, describiéndose en la entidad el primer caso agudo, además de reportarse la presencia de más de seis especies de triatominos. Sin embargo, muchos de los reportes acerca de estos insectos en el estado, carecen de información completa acerca de su biología, entomología y genética, enfocándose generalmente sólo a su distribución, a pesar de que para poder considerar herramientas de control biológico exitosas, se necesitan conocer todos estos aspectos. Con el objeto de contribuir al estudio de estos insectos en el estado de Oaxaca, el presente trabajo tuvo como objetivo realizar un análisis entomológico y genético de triatominos en cinco comunidades de la región del Istmo. Durante un año se realizaron colectas en busca de triatominos en el domicilio y peridomicilio. De las cinco comunidades analizadas sólo en dos se encontraron estos insectos: San Mateo del Mar y Tehuantepec; en estas comunidades, los índices de infestación fueron bajos (< 12%), a diferencia de los de colonización los cuales fueron altos (>85%), lo que indica que a pesar de encontrarse en pocas viviendas, en las que están, se encuentran desarrollando su ciclo de vida completo. A diferencia de San Mateo, en el que los insectos se encontraron en el domicilio, en Tehuantepec se hallaron en el peridomicilio. Los porcentajes de infección con *T. cruzi* fueron diferentes para ambas comunidades, teniendo porcentajes más altos en Tehuantepec (39.4%) que en San Mateo (2.1%), lo cual probablemente este relacionado a la presencia de aves en esta última comunidad. Todos los insectos colectados en estadio adulto y las ninfas analizadas genéticamente pertenecen a la especie *T. phyllosoma*. Poca variación genética se encontró con los marcadores ITS-2 y CytB entre los individuos de ambas comunidades, lo cual se reflejó en los árboles filogenéticos, observándose un sólo clado para todos, sin distinción de comunidades o tipos de hábitat. Por lo tanto, la presencia de triatominos infectados con el parásito y en estrecha relación con la vivienda humana, así como la poca variabilidad

genética encontrada en los individuos de las comunidades analizadas permite concluir que la única especie importante en la transmisión de la Enfermedad de Chagas presente en estas comunidades es *T. phyllosoma*, la cual presentó poca variación genética intraespecífica. Por lo que sería necesario realizar más estudios de esta especie en todo el estado, para determinar su importancia epidemiológica, así como evaluar su variabilidad genética.

## **ABSTRACT**

---

---

Mexico has a wide variety of triatomine bugs (Hemiptera: Reduviidae) which are distributed throughout the territory. These insects are important at epidemiological level, as they are vectors of the parasite *Trypanosoma cruzi*, causative agent of Chagas Disease. The state of Oaxaca is one of the states in which more studies on the disease had been conducted, describing the first report of a human case and the reported of over six species of triatomines. Nevertheless, many of the reports are focused in their distribution lacking information on the vector biology, entomology and genetics. To control these important vectors knowledge of the later aspect are needed. In order to contribute to the study of these insects in the state of Oaxaca, the aim of the present work was to carry on an entomological and genetic analysis of triatomine in five communities in the Tehuantepec Isthmus. The distribution of domestic and perodomic triatomine was surveyed during a year. Only in two communities these insects were found: San Mateo del Mar and Tehuantepec. In these communities, infestation rates were low (<12%) in contrast to the colonization indexes that were high (> 85% ). These result indicate the presence of vector inside the houses, and that in these communities can be regarded as places of multiplication of the triatomines since they include all the developmental stages. In San Mateo del Mar, the insects were found indoors in contrast to Tehuantepec where they were found outdoors in the peri-domestic area. The infection indexes with *T. cruzi* were different for the two communities, with higher percentages in Tehuantepec (39.4%) than in San Mateo (2.1%), which is probably related to the presence of birds in the latter community. All nymphs and adult insects genetically analyzed belong to the specie *T. phyllosoma*. Few genetic variation was found with markers ITS-2 and CytB between individuals from both communities, which is reflected in the phylogenetic tree, with a single clade for all without communities or habitat distinction. Since, *T. cruzi* infected triatomines were collected from houses and that few genetic variation between individuals was found, it can be concluded that *T. phyllosoma* is the only vector associated to the transmission of Chagas disease in these communities. More studies need to be done about this species in order to determine his role as vector in the Oaxaca state.

## **INTRODUCCIÓN**

---

---

La enfermedad de Chagas es una zoonosis exclusiva del Continente Americano, causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909). En términos de salud pública e impacto económico, esta enfermedad es la más importante infección parasitaria en Latinoamérica (Miles *et al.*, 2003), la Organización Mundial de la Salud estima que existen 18 millones de personas infectadas con el parásito en toda América y 100 millones más en riesgo de contraer la enfermedad (WHO, 2002). Sin embargo, recientemente algunos autores calculan una reducción a 10 millones de personas infectadas (Schofield *et al.*, 2006). En México se han realizado varios estudios serológicos que detectan la presencia de individuos infectados con el parásito: según Cruz-Reyes y Pickering-López (2007) se tienen reportados aproximadamente 14, 500 casos hasta el 2004 en todo el país. En 1998, Guzmán-Bracho y colaboradores determinaron una seroprevalencia de 1.5 % en un análisis a 18 bancos de sangre reportando las mayores seroprevalencias en los estados de Hidalgo y Tlaxcala (2.8% y 1.9% respectivamente) (Guzmán-Bracho *et al.*, 1998). Los triatominos (Hemiptera: Reduviidae) son insectos exclusivamente hematófagos y de importancia epidemiológica por ser el principal vector del *T. cruzi*. Varias de las especies de triatominos han colonizado viviendas humanas donde pueden transmitir el parásito tanto al hombre como a animales domésticos. Dada la colonización de los triatominos a las viviendas humanas, éstos son el principal factor de transmisión. La enfermedad se asocia principalmente con condiciones socioeconómicas precarias, particularmente con casas de materiales rústicos y deficiente higiene doméstica lo cual favorece la permanencia de estos insectos en el domicilio (WHO, 2002).

### **I. TRANSMISIÓN**

Existen diferentes formas de adquirir una infección con *T. cruzi*, entre las que encontramos: infección por el triatomo, por transfusión sanguínea, por infección congénita y neonatal y por accidentes de laboratorio. Siendo la principal vía de transmisión la primera, en la cuál, el triatomo que se encuentra naturalmente infectado defeca al mismo tiempo que se alimenta, liberando en las heces y la orina a los

parásitos, los cuales entran a los individuos por el sitio de picadura, de esta manera infecta a más de 100 diferentes especies de animales silvestres y domésticos (WHO, 2002). En el humano, en el que se encuentra mejor descrito el ciclo de vida del parásito que en otros animales en los cuáles poco o nada esta descrito, *T. cruzi* (Figura 1) puede invadir cualquier tipo celular, donde se multiplica hasta llegar a lisis, liberándose al torrente sanguíneo o de nuevo invadiendo otras células, el ciclo se repite cuando un nuevo triatomino se alimenta, adquiriendo a los parásitos (Tyler & Ehgman, 2001; WHO, 2002).

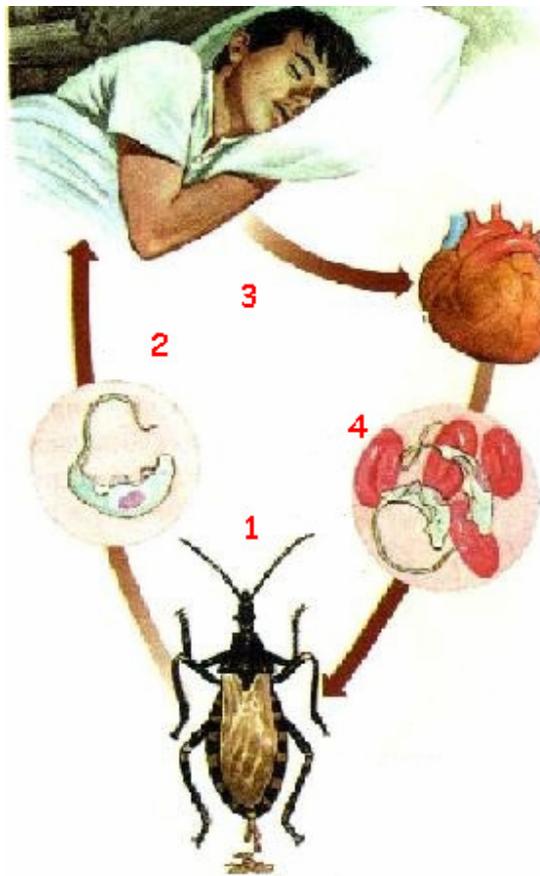


Figura 1. Transmisión de *Trypanosoma cruzi* en el humano: ❶ el triatomino defeca al mismo tiempo que se alimenta, depositando en sus heces a los parásitos; ❷ los parásitos entran al organismo a través del sitio de picadura o por acción mecánica; ❸ dentro del organismo pueden invadir cualquier tipo celular, principalmente células cardíacas, en donde se replican; ❹ al romper las células los parásitos son liberados de nuevo al torrente sanguíneo o pueden invadir otras células. Nuevas chinches pueden alimentarse del individuo, siguiendo la transmisión a otros animales. Tomado de [www.google.com](http://www.google.com)

## II. FACTORES DE RIESGO

Los triatomíneos han cambiado sus hábitos y se han adaptado a los ambientes domésticos y peridomésticos en muchas áreas rurales de Latinoamérica; la Enfermedad de Chagas es el resultado de la interacción del insecto vector, el agente etiológico, los reservorios y la susceptibilidad de las personas dentro de ciertos rangos geográficos y climáticos (Figura 2; WHO, 2002). Estos factores y condiciones determinan la colonización, la alimentación y reproducción de los vectores, el desplazamiento de reservorios y la presencia del hospedero humano (WHO, 2002). Además de los factores biológicos que incluyen variables relacionadas tanto al vector (por ejemplo, adaptación para colonizar viviendas humanas, hábitos fisiológicos de alimentación y defecación), como al parásito (infectividad de las cepas), existen factores sociales; entre los factores sociales tenemos el tipo de viviendas, las cuáles en zonas rurales son hechas principalmente de materiales rústicos, como palmas, carrizos, tejas y láminas, los cuales son excelentes refugios para los triatomíneos; el movimiento de jornaleros agrícolas, los cuales pueden contribuir a la dispersión de los vectores; bajos niveles de educación, que contribuyen al escaso conocimiento de la enfermedad y a la poca exigencia de servicios públicos y prácticas de protección a la salud; la presencia de animales domésticos o la cercanía con animales silvestres, que actúan como reservorios del parásito (WHO, 2002).

Todos los factores citados y la baja prioridad que dan los gobiernos para el control de la Enfermedad de Chagas, tienen como resultado la falla o irregularidad de los programas de control implementados en algunos países, el rociamiento de insecticidas y los estudios médicos en poblaciones rurales, contribuyendo de esta manera a la transmisión de la enfermedad (WHO, 2002).

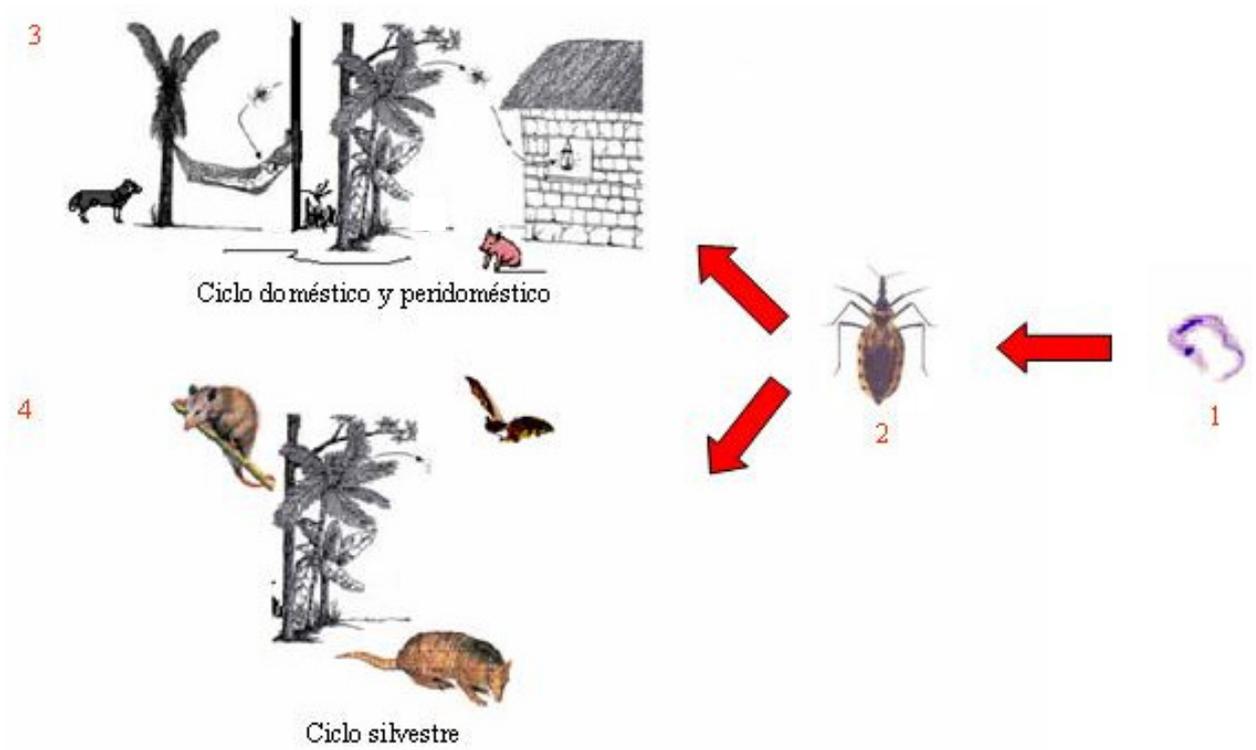


Figura 2. Factores de riesgo asociados a la transmisión de *Trypanosoma cruzi*. ❶ Presencia del parásito; ❷ el vector infectado con el parásito, el cual puede transmitirlo a los humanos y sus animales domésticos, formando ❸ el ciclo doméstico o ❹ a animales silvestre, constituyendo el ciclo silvestre, ambos ciclos pueden interaccionar.

### III. TRIATOMINOS

Aunque se han infectado experimentalmente una variedad de artrópodos con *T. cruzi*, solo los triatominos son epidemiológicamente importantes en la transmisión de la Enfermedad de Chagas (Lent & Wygodzinsky, 1979). Para el género *Triatoma* (Laporte, 1832), Ryckman en 1984 postuló la siguiente clasificación:

Reino: Animalia

Phyllum: Arthropoda

Clase: Insecta

Subclase: Pterygota

Orden: Hemiptera

Suborden: Heteroptera

Familia: Reduviidae

Subfamilia: Triatominae

Tribu Alberproseniini

Tribu Bolboderini

Tribu Cavernicolini

Tribu Linshcosteini

Tribu Rhodniini

Tribu Triatomini:

Género: *Triatoma*

La subfamilia Triatominae contiene numerosas especies que debido a su comportamiento y fisiología similares, pueden actuar como vectores reales o potenciales del parásito (Schofield, 1994). La principal característica biológica de los triatominos, es su obligada hematofagía, este tipo de alimentación incluye a todos los estadios ninfales y adultos, tanto hembras como machos. Entre sus fuentes de alimento se pueden mencionar a mamíferos silvestres, tanto terrestres como arborícolas, especialmente didélfidos, xenartros y roedores, y algunos se han encontrado asociados con aves, reptiles y murciélagos (Lent & Wygodzinsky, 1979, WHO, 2002; Moffitt *et al.*, 2003).

#### IV. CICLO DE VIDA

Los triatominos son ovíparos, su ciclo vital presenta una metamorfosis incompleta, pasando desde el huevo por cinco estadios ninfales hasta el estadio adulto (Figura 3). Los huevos ovoides suelen ser blancos o rosados, y a menudo se tornan más oscuros conforme el embrión se va desarrollando. La ovoposición generalmente empieza de 10 a 30 días después de la copulación. Las hembras pueden copular varias veces, llegando a ovopositar de 100 a 600 huevos o más a lo largo de su vida; y los tiempos de eclosión de cada huevo pueden ir de entre 10 a 40 días. Sin embargo, el número de huevos, el tiempo de eclosión y en general el ciclo de desarrollo de los triatominos varía de acuerdo a la especie, a las condiciones ambientales específicas y su capacidad para alimentarse (Schofield 1984, Schofield, 1994, Guarneri *et al.*, 2000, Martínez-Ibarra *et al.*, 2003a, b).

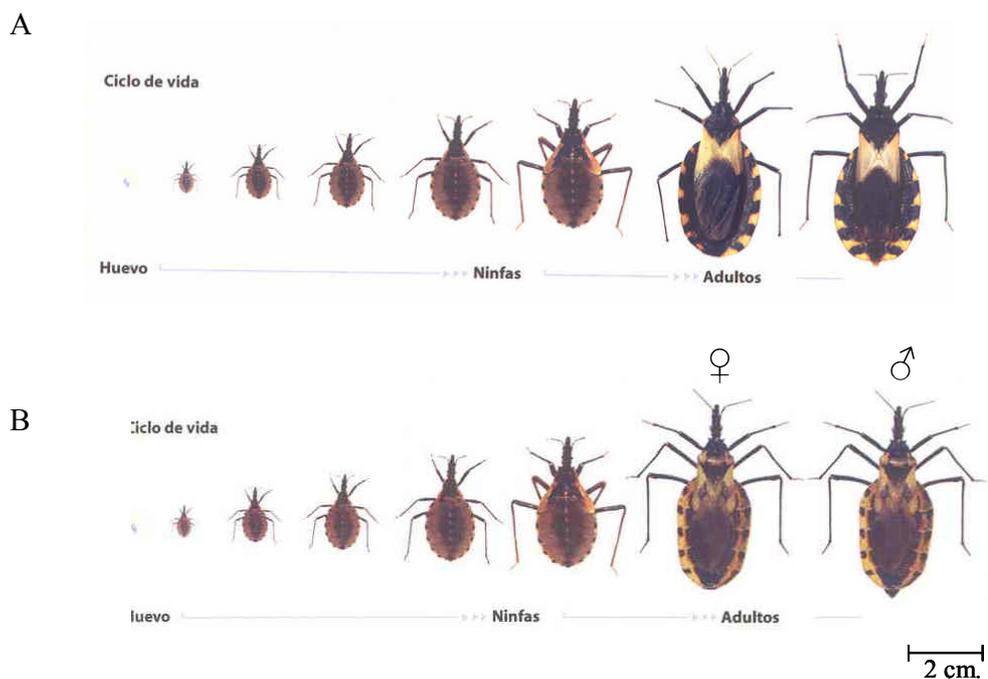


Figura 3. Estadios morfológicos durante el ciclo de vida de dos especies de triatominos. A) *Triatoma pallidipennis*; B) *T. picturata*. Se muestran las similitudes entre los estadios ninfales de ambas especies y la morfología de los adultos tanto hembras como machos. Tomado de folletos realizados por la Secretaría de Salud.

## V. MORFOLOGÍA

La estructura general de los triatominos no difiere significativamente de otros redúvidos. Son artrópodos aplanados dorsoventralmente, presentan una cabeza pequeña generalmente cilíndrica y alargada, poseen ojos compuestos, antenas divididas en cuatro artejos y lateralmente insertadas, articulaciones membranosas entre el segundo y tercer artejo del rostro y la ausencia de glándulas de esencia en el lado dorsal del abdomen (Figura 4; De La Merced, 1987). Los adultos se diferencian de las ninfas por la presencia de ocelos, genitales externos bien desarrollados y en la mayoría de los casos la presencia de alas anteriores y posteriores bien desarrolladas (Lent & Wygodzinsky, 1979). Las hembras pueden ser reconocidas por el ápice abdominal truncado, en tanto que en los machos es redondeado y generalmente las hembras son más grandes que los machos. Entre las estructuras que se utilizan para clasificarlos morfológicamente se encuentran: estructura general del cuerpo y coloración, tamaño y posición de las antenas, las alas, la cabeza y los genitales, entre otros. El tamaño del insecto así como la coloración del cuerpo y el conxivo son las características más vistosas en la identificación, las coloraciones van desde amarillas hasta negras, con manchas de diferentes tonalidades, como son anaranjadas, café, amarillas, blancas, rojas, grises o verdes (Lent y Wygodzinsky, 1979).

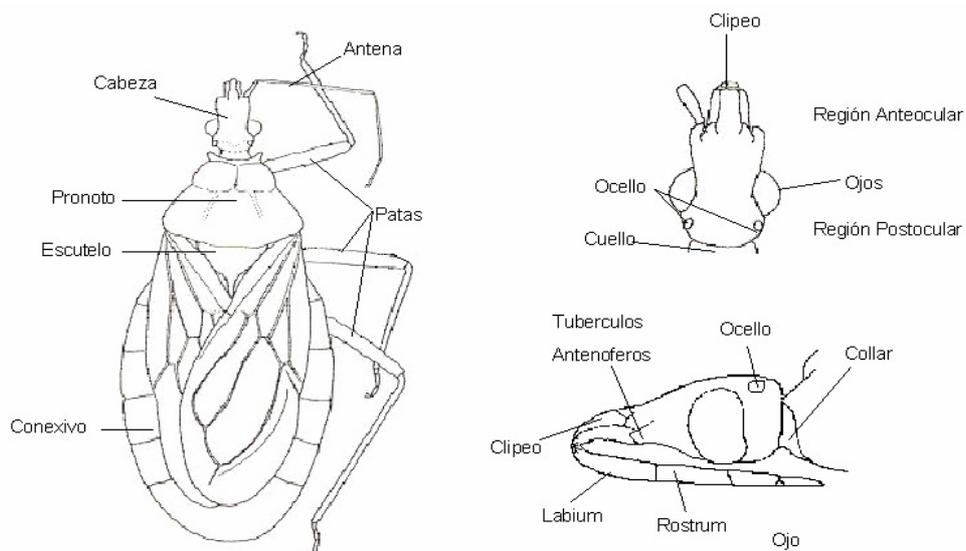


Figura 4. Aspectos morfológicos generales de los triatominos. Tomado del Lent y Wygodzinsky, 1979.

## VI. DISTRIBUCIÓN

El área de distribución de los Triatominae se encuentra limitada a las regiones neotropicales y neárticas, encontrándose en el Continente Americano desde Salt Lake City en Estados Unidos a 41° latitud norte hasta el sur del continente americano a 46° latitud sur, además se han reportado en la India y en Asia (De La Merced, 1987; Carcavallo *et al.*, 2000; WHO, 2002). Se llegan a establecer a altitudes entre 200 y 1500 m.s.n.m., aunque estas altitudes pueden variar según la especie (WHO, 2002). México se encuentra entre la altitud y la latitud propicia para el establecimiento de los triatominos, reportándose éstos en la mayoría del territorio nacional. Debido a que los estudios de distribución de los insectos en el país no han sido minuciosos, no se descarta la posibilidad de encontrar nuevos lugares de establecimiento u otras especies no reportadas anteriormente. En México se reportan hasta el momento 33 especies de triatominos distribuidas en siete géneros: *Dipetalogaster*, *Eratyrus*, *Paratriatoma*, *Panstrongylus*, *Belminus*, *Triatoma* y *Rhodnius* (Galvão *et al.*, 2003), de las cuales, 28 especies son endémicas (Paredes *et al.*, 2001) y más de la mitad se han reportado infectadas con *T. cruzi* (Zárate & Zárate, 1985; Vidal-Acosta *et al.*, 2000).

Entre las especies reportadas endémicas de México, se encuentran aquellas pertenecientes al complejo *Phyllosoma*: *T. phyllosoma*, *T. picturata*, *T. pallidipennis*, *T. longipennis*, *T. mazzottii*, *T. mexicana* y *T. bassolsae* (Martínez *et al.*, 2006), éstas se encuentran distribuidas principalmente en el centro del país y representan especies de importancia epidemiológica debido principalmente a sus porcentajes de infección con *T. cruzi* y sus índices de colonización (Figura 5). *T. pallidipennis* es la especie del complejo *Phyllosoma* más ampliamente distribuida en el país, reportándose en 13 estados (Guerrero, Morelos, Guanajuato, Jalisco, Puebla, Querétaro, Edo. de México, Colima, Michoacán, Oaxaca, Zacatecas, Nayarit y Veracruz), seguida de *T. longipennis*, la cual se encuentra en seis (Jalisco, Nayarit, Guanajuato, Colima, Aguascalientes y Zacatecas); en tanto que *T. bassolsae* y *T. phyllosoma* se encuentran sólo en un estado (Puebla y Oaxaca respectivamente). *T. mazzottii* y *T. picturata* se distribuyen en estados de la costa del pacífico y *T. mexicana* se encuentra en estados del centro del país

(Galvão *et al.*, 2003; López-Cárdenas *et al.*, 2005; Villalobos, 2005; Cohen *et al.*, 2006; Becerril-Flores *et al.*, 2007; Walter *et al.*, 2007).



Figura 5.- Distribución del complejo *Phyllosoma* a lo largo de la República Mexicana.

## VII. VECTORES EFICIENTES EN LA TRANSMISIÓN DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Entre los criterios que se toman en cuenta para poder definir si una especie es un vector eficiente en la transmisión de la Enfermedad de Chagas están: altos porcentajes de infección, capacidad de domiciliación, antropofagia, tiempo de defecación y distribución (WHO, 2002). *T. dimidiata* es uno de los más importantes vectores de la enfermedad de Chagas en la península de Yucatán (Yucatán, Campeche y Quintana Roo), reportándose como única especie en esta región, encontrándose asociada al domicilio y al peridomicilio y presentando altos indicadores entomológicos (Guzmán-

Marín *et al.*, 1990, 1992; Dumontiel *et al.*, 2002, 2007; Dumontiel & Gourbiere, 2004). En la región de Baja California Sur, *Dipetalogaster maxima* es el vector más frecuentemente colectado, encontrándose tasas de infección con *T. cruzi* del 7.0% (Jiménez *et al.*, 2003).

Las especies del complejo *Phyllosoma* también son de importancia epidemiológica, por ejemplo *T. longipennis* es uno de los más importantes vectores de la enfermedad de Chagas en el occidente del país, de acuerdo a su distribución, alto grado de domiciliación y altos indicadores entomológicos (Magallón-Gastélum *et al.* 1998, Martínez-Ibarra, 2001, 2003b; Walter *et al.*, 2007), mientras que *T. barberi* y *T. mazzottii* son los vectores más importantes en el estado de Oaxaca debido a su distribución, abundancia y altas tasas de infección con *T. cruzi*, además que *T. barberi* es considerada como una especie domiciliada (Ramsey *et al.*, 2000). *T. picturata* se ha reportado con 7.4 % de infección por *T. cruzi* en Jalisco (Magallón-Gastélum *et al.*, 1998), en tanto que en localidades de Nayarit éste índice de infección se ha reportado entre el 52% y el 60 % (Flores *et al.*, 2001; Martínez-Ibarra *et al.*, 2001), además de encontrarse asociado a áreas domésticas, peridomésticas y silvestres (Flores *et al.*, 2001; Martínez-Ibarra *et al.*, 2001; Magallón-Gastélum *et al.*, 2006). *T. pallidipennis*, es un vector ampliamente distribuido en el país y presenta también altos porcentajes de infección, por ejemplo en Guerrero se ha reportado un 38.2% (Becerril-Flores & Valle-De La Cruz, 2003). En cambio, poca información se tiene de *T. phyllosoma* y *T. bassolsae*: para *T. phyllosoma* se ha reportado del 9.1% al 66.7% de infección con el parásito en el estado de Oaxaca (Ramsey *et al.*, 2000; Vidal-Acosta *et al.*, 2000), en tanto que no se cuenta con información acerca de porcentajes de infección en campo para *T. bassolsae*.

## VIII. ESTUDIOS DE CAMPO EN MÉXICO

Nuestro país alberga una gran diversidad de triatomíneos, por lo que los estudios de campo son importantes, ya que éstos permiten conocer aspectos como la distribución, hábitat y comportamiento de las especies.

En México, se cuentan con trabajos pioneros, por ejemplo el realizado por Mazzotti (1940) en el que reporta la presencia de triatominos en el estado de Oaxaca. Después de muchos años Goldsmith y colaboradores (1978), confirmaron la presencia de cuatro especies de estos insectos en el mismo estado. Por otro lado, existen los estudios de Lent & Wygodzinsky (1979), los cuales realizaron colectas de campo y recopilaron información acerca de la distribución de estos insectos en el país y el resto de América, además de realizar la clave taxonómica para su identificación. Zárate y Zárate (1985), hicieron colectas y búsqueda bibliográfica de triatominos distribuidos sólo en México, descartando distribuciones dudosas. Más recientemente Galvão y colaboradores (2003), realizaron una nueva lista de triatominos del mundo, tomando en consideración las distribuciones de las especies de México, además de hacer validaciones de nombres, por ejemplo, el nombre de las especies del complejo *Phyllosoma*, llamadas genéricamente *Triatoma* fue cambiado a *Meccus*.

Existen casos en los que por falta de nuevas colectas o porque éstas están enfocadas a estudios en ciertas zonas del país, los reportes de las distribuciones se basan en estudios muy viejos, con pocos individuos colectados o lugares en los cuáles no se ha vuelto a tener datos de la presencia de ciertas especies; por ejemplo *T. longipennis* fue reportada en Chihuahua por Tay en 1969, posteriormente se reportó en Yucatán en 1976 (Pinzón Cantarell *et al.*, 1976) con un solo ejemplar colectado, estos datos aunque posiblemente incorrectos, siguen siendo considerados como distribuciones actuales. Es por ello, que es importante la realización de nuevas colectas de campo para corroborar o corregir los hallazgos reportados. Estudios de campo recientes, han confirmado la distribución de algunas especies en ciertos estados, como: Jalisco, Morelos, Nayarit, Hidalgo, Guanajuato y la península de Yucatán (Martínez-Ibarra *et al.*, 2001; Paredes *et al.*, 2001; Dumontiel *et al.*, 2002; 2004; Enger *et al.*, 2004; Cohen *et al.*, 2006; Magallón-Gastélum *et al.*, 2006; Becerril-Flores *et al.*, 2007; Walter *et al.*, 2007). La mayoría de estos reportes son de distribución e infección de triatominos con *T. cruzi*, pero poca información existe respecto a su asociación con la vivienda humana.

## IX. VECTORES EN OAXACA

El estado de Oaxaca es uno de los que alberga la mayor diversidad de triatominos, además de ser el estado en el que se describió el primer caso de Enfermedad de Chagas (Mazzotti, 1940) y en el que realizó uno de los primeros estudios de serología en donadores de sangre (Goldsmith *et al.*, 1978). Mazzotti (1940) encontró cuatro especies de triatominos: *T. barberi*, *T. phyllosoma*, *T. mazzottii* y *Rhodnius prolixus*, posteriormente se encontró a *T. dimidiata* (Mazzotti & Días, 1949). Las especies de vectores reportadas para el estado desde 1940 ha ido en aumento (Tabla 1), encontrándose especies como *T. pallidipennis*, *T. picturata*; especies poco reportadas como *T. nitida* y *T. bolivari* (Ramsey *et al.*, 2000) y una especie nueva *T. gomeznunezi* (Martínez *et al.*, 1994).

Uno de los trabajos más extenso con los que se cuentan para el estado, es el que se realizó entre 1996-98, en el cual se estudio el 11% de las comunidades, en donde se encontraron ocho especies de triatominos en hábitat domésticos y peridomésticos: *T. barberi*, *T. bolivari*, *T. dimidiata*, *T. mazzottii*, *T. nitida*, *T. pallidipennis*, *T. phyllosoma* y *R. prolixus* (Ramsey *et al.*, 2000). Es importante considerar que se encontraron nuevas especies no descritas anteriormente, lo que nos indica la diversidad de especies que potencialmente pueden presentarse en el estado. En este estudio se tomaron datos ambientales como la temperatura, la precipitación y la altitud de los lugares en donde habían sido encontrados los insectos, para realizar un mapa de la potencial distribución de cada especie en el estado (Figura 6); en este mapa podemos observar que existen especies que tienen similares rangos de distribución, como por ejemplo *T. phyllosoma* y *T. mazzottii*, además de que la mayoría de las localidades con triatominos se encuentran en la zona central del estado, con poca información de la región de la cañada, mixteca y del istmo. Aunque este estudio incluyó a varios municipios del estado, no se realizó una colecta de tipo sistemática, es decir, sólo se reportan los insectos que fueron enviados a la capital del estado por el personal de la Secretaria de Salud de cada localidad, pero se desconoce información acerca del hábitat, índices entomológicos y distribución de los insectos.

Tabla 1. Revisiones publicadas de triatominos distribuidos en el estado de Oaxaca desde 1940 hasta la fecha.

Mazzotti, 1940 * Mazzotti & Díaz, 1949	Zárate & Zárate, 1985	Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000	Ramsey <i>et al.</i> , 2000	Galvão <i>et al.</i> , 2003*
<i>Triatoma mazzottii</i>	<i>T. mazzottii</i> (Alacranes; Pocitos Collantes; Santiago Juxtlahuaca; Pinotepa Nacional; San Pedro Tututepec; Río Grande; Juquila; S. Juan Lachao Nuevo; S. Juan Cacahuatpec; S. José de las Flores; Santiago Cuixtla; Santiago Jamiltepec.)	<i>T. mazzottii</i> *	<i>T. mazzotti</i> (Arroyo Seco; Bajo El Arenal; Barra El Potrero; El Camalote; Cerro Cruz; Cerro Esperanza; Charco Seco; El Ciruelo; Copalita La Hamaca; Maninaltepec; Merced del Potrero; Palma Larga; Piedra Blanca; Pueblo Viejo; Puerto Escondido; S. Francisco Cozoaltepec; S. Isidro Llano Grande; S. Pedro Mixtepec; S. Sebastián Ixcapa; S. María Colotepec; Santa María Jicaltepec; Santiago Jamiltepec; Llano Grande; Santo Domingo Ingenio; Nopala; Soluta; Tilzapote; Yugoxi)	<i>T. mazzottii</i>
<i>T. phyllosoma</i>		<i>T. phyllosoma</i> (Huajuapán de León; Nejapa de Madero; S. Carlos Yautepec; S. Isidro Chihuiro; S. Pedro Quiatoni)		<i>T. phyllosoma</i>
<i>T. barberi</i>		<i>T. barberi</i> (Ayagaililla; Santa María Papantla; Huajuapán de León; San Agustín Atenango; S. Andrés Etla; S. Juan Comaltepec; Santa María Comotlán; Teotitlán del Valle.		<i>T. picturata</i> **
<i>T. dimidiata</i>	<i>T. phyllosoma</i> (Pocitos Collantes; Juchitán, Tehuantepec; S. Pedro Totolopan; S. Pedro Tututepec; Pinotepa Nacional; S. Francisco Cozoaltepec; Salina Cruz)	<i>T. pallidipennis</i> (Santiago Ayuquillilla)	<i>T. phyllosoma</i> (Asunción Tlacolulita; Barra el Potrero; El Camarón; Candelaria Yegale; Cerro la Cruz; Guicha; Los Horcones; Ixtepec; Macahuite; Las Margaritas; Nejapa de Madero; S. Bartolomé Loxicha; S. Carlos Yautepec; S. Isidro Chihuiro; S. José de Gracia; S. José las Flores; S. Martín de Porres; S. Pedro Totolapa; Santa Gertrudis Miramar; Santo Domingo Chihuitán; La Soledad Salinas; Tres Ríos)	<i>T. barberi</i>
<i>Rhodnius prolixus</i>	<i>T. picturata</i> (Chiquihuitlán; Juchitán) **  <i>T. barberi</i> (Tepelmeme; Magdalena Apazco; Sola de Vega; Cuicatlán; Miahuatlán; Santo Domingo Tomaltepec)  <i>T. dimidiata</i> (Chiquihuitlán; Choapan; Santos Reyes Nopala; Istmo de Tehuantepec)  <i>R. prolixus</i> (Santo Domingo Teojomulco; S. José de las Flores;	<i>T. dimidiata</i> (Guichicam; Agua Blanca; S. Agustín Loxicha; S. Juan Comaltepec; San Juan Guichicovi; S. Juan Juquila; Santa María Zoquiapan; Santo Domingo Petapa; Totontepec.	<i>T. phyllosoma</i> (Asunción Tlacolulita; Barra el Potrero; El Camarón; Candelaria Yegale; Cerro la Cruz; Guicha; Los Horcones; Ixtepec; Macahuite; Las Margaritas; Nejapa de Madero; S. Bartolomé Loxicha; S. Carlos Yautepec; S. Isidro Chihuiro; S. José de Gracia; S. José las Flores; S. Martín de Porres; S. Pedro Totolapa; Santa Gertrudis Miramar; Santo Domingo Chihuitán; La Soledad Salinas; Tres Ríos)  <i>T. pallidipennis</i> (S. Miguel Amatitlán; Santa Cruz Fraile; S. Agustín Atenango; S.	<i>T. dimidiata</i>  <i>T. gomeznunezi</i>  <i>R. prolixus</i>

Continuación... Tabla 1

	Santiago Jamiltepec; Putla; Cerro del Aire.; límites con Guerrero)	<i>R. prolixus</i> (Nejapa de Madero)	<p>Lorenzo Vista Hermosa)</p> <p><i>T. barberi</i> (Agua Blanca; La Chilana; La Compañía; Jalapa del Valle; Piedras Negras; Rojas de Cuahutemoc; S. Andrés Zautla; S. Baltasar Guelavila; S. Isidro; S. Juan Bautista Guelache; S. Miguel del Valle; S. Pedro Apóstol; San Sebastián Tutla; Santa Cruz Papalutla; Santa Gertrudis; Santa María Coyotepec; Santiago Yosondua; Santiago Suchilquitongo; Tlacolula de Matamoros; Teotitlán del Valle)</p> <p><i>T. dimidiata</i> (Asunción Lachixila; Chaxnaban; S. Francisco Yovego; S. Isidro; S. José Chinatequilla; S. José Comaltepec; San Mateo Cajones; S. Miguel Quetzaltepec; S. Sebastián Yutanino; Santa Ana; El Tesoro; La Victoria; Villa Unión)</p> <p><i>T. bolivari</i> (Charco Seco; El Tule; Villa Unión)</p> <p><i>T. nitida</i> (El Gavilán; S. Miguel Tlamichico)</p> <p><i>R. prolixus</i> (Nejapa de Madero; S. José las Flores)</p>	
--	--	---------------------------------------	--	--

\* Municipios no reportados

\*\* Especie de dudosa presencia en el estado

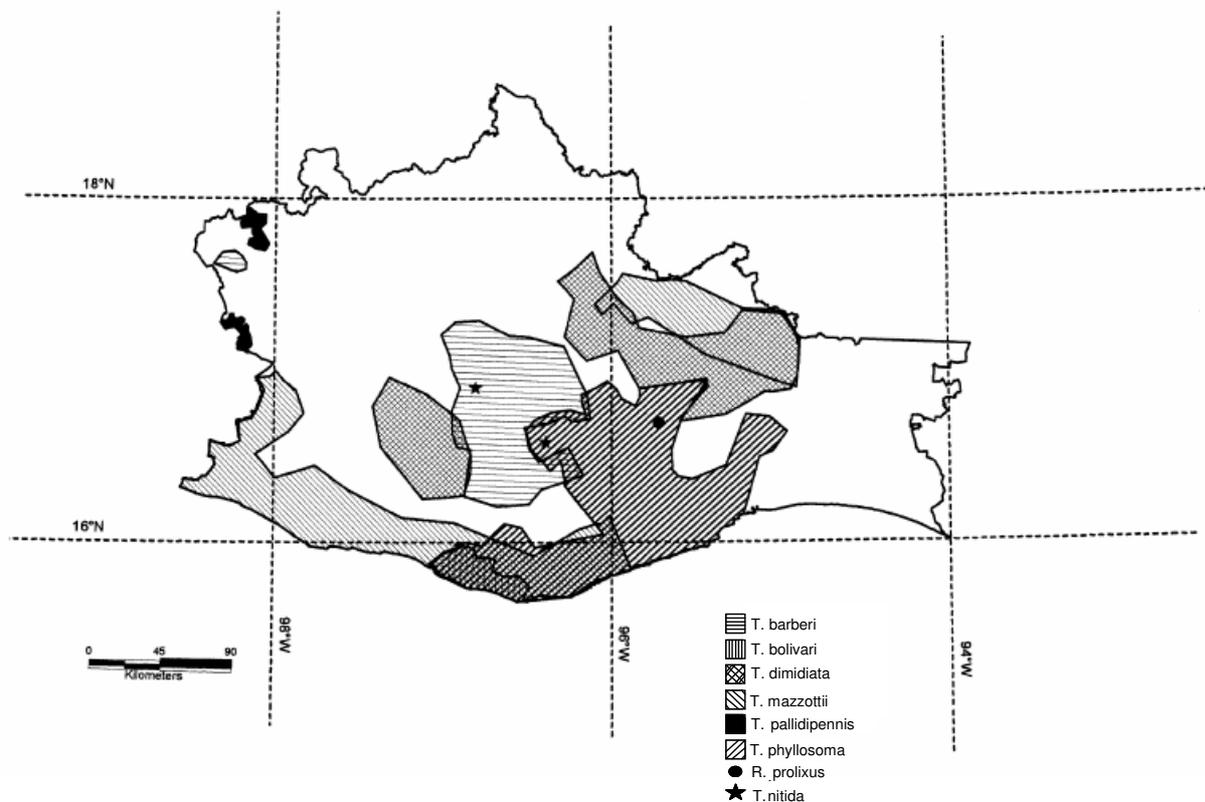


Figura 6. Distribución potencial de ocho especies de triatominos en Oaxaca. Tomado de Ramsey *et al.*, 2000.

## X. TAXONOMÍA

Se han descrito 137 especies de triatominos en el mundo distribuidos en 18 géneros formando 6 tribus: 1) Alberproseniini: *Alberprosenia*; 2) Bolboderini: *Bolboderia*, *Belminus*, *Parabelminus*, *Microtriatoma*; 3) Cavernicolini: *Torrealbaia*, *Cavernicola*; 4) Linshcosteini: *Linshcosteus*; 5) Rhodniini: *Rhodnius*, *Psammolestes* y 6) Triatomini: *Triatoma*, *Meccus*, *Dipetalogaster*, *Mepraia*, *Eratyrus*, *Panstrongylus*, *Hermanlenticia*, *Paratriatoma* (Carcavallo *et al.*, 2000; Hypsa *et al.*, 2002; Galvão *et al.*, 2003).

Debido a que la mayoría de las especies de la subfamilia Triatominae son morfológicamente muy similares cuando se encuentran en estadios ninfales y algunos en estadios adultos (ver figura 3), con frecuencia existen problemas de clasificación.

Estos problemas taxonómicos son importantes cuando se trata de establecer cuáles son los vectores de importancia epidemiológica en el país, los cuales no pueden ser reconocidos debido a que en la mayoría de los insectos colectados se encuentran en estadios ninfales (Magallón-Gastélum *et al.*, 1998; Vidal-Acosta *et al.*, 2000; Flores *et al.*, 2001; Paredes *et al.*, 2001; Brenière *et al.*, 2004; 2007). Se ha tratado de buscar herramientas morfológicas para el reconocimiento de especies en estadios ninfales, empleando características morfológicas como el tamaño de la cabeza y diversos aspectos de los aparatos reproductivos (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2003; Bustamante *et al.*, 2004; Lehmann *et al.*, 2005), sin embargo sólo se han aplicado a ciertas especies y no han logrado en su totalidad sus objetivos. También se han realizado estudios morfométricos, los cuales han ayudado principalmente a la diferenciación entre poblaciones de especies; por ejemplo, empleando la morfometría de la cabeza de la especie *T. dimidiata* se han distinguido poblaciones de diferentes regiones geográficas del país (Lehmann *et al.*, 2005).

En los últimos años, los métodos basados en el análisis del ADN, han tenido gran impacto en la resolución de problemas de clasificación y reconocimiento de especies, así como para análisis filogenéticos, ya que no se ven afectados por variaciones ambientales, ni del desarrollo del organismo estudiado, además el número de polimorfismos detectados es ilimitado, se pueden seleccionar secuencias específicas en todo el genoma y se puede analizar lo que se expresa y lo que no se expresa. Entre algunos métodos empleados para el estudio de los triatominos, basados en el análisis del ADN, se encuentran los RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA), el SSCP (Single Strand Conformational Polymorphism) y la secuenciación del ADN tanto nuclear como mitocondrial (Monteiro *et al.*, 2001).

## XI. MARCADORES MOLECULARES EN TRIATOMINOS

El empleo de estas técnicas han sido de gran utilidad en diversos análisis, por ejemplo, a nivel de géneros, los estudios con RAPD's han demostrado gran eficacia, logrando diferenciar a *Panstrongylus*, *Rhodnius* y *Triatoma*, además de poder diferenciar a especies cercanamente relacionadas del género *Rhodnius* (*R. pictipes*, *R.*

*ecuadorensis*, *R. neglectus*, *R. nasutus*, *R. robustus* y *R. prolixus*) (García *et al.*, 1998). Sin embargo en el caso de algunas especies del complejo *Phyllosoma*, que al igual que las del género *Rhodnius* son muy cercanas (*T. longipennis*, *T. picturata* y *T. pallidipennis*), no se encontraron perfiles de bandeo que pudieran diferenciar a *T. longipennis* de *T. picturata*, en tanto que se observaron pocas bandas para diferenciarlas de *T. pallidipennis* (Brenière *et al.*, 2003). Por otro lado, analizando la variación genética de distintas especies representativas de los géneros *Rhodnius*, *Triatoma* y *Panstrongylus* empleando SSCP, se observó su utilidad para determinar variaciones inter e intraespecíficas. En este análisis, los géneros *Triatoma* y *Panstrongylus* estuvieron cercanamente relacionados, con respecto a el género *Rhodnius* (Stothard *et al.*, 1998).

Los análisis empleando secuencias parciales de ADN también han sido muy útiles; en el caso de secuencias mitocondriales, se ha empleado porciones de los genes del RNA ribosomal mitocondrial (12S y 16S), citocromo oxidasa I (COI) y el citocromo B (mtCytB) principalmente. Diferentes especies de triatominos han sido analizados con estos marcadores, como por ejemplo, algunas especies del género *Rhodnius* (*R. prolixus*, *R. robustus*, *R. pictipes*, entre otros), *Panstrongylus* (*P. megistus*) y diferentes complejos de especies del género *Triatoma* (*T. infestans*, *T. protacta*, *T. dimidiata*, y otros), en el que solo se han trabajado con dos especies del complejo *Phyllosoma*, *T. mazzottii* (12S y 16S) (García *et al.*, 2001) y *T. pallidipennis* (CytB) (Lyman *et al.*, 1999). Los genes 12S, 16S y el COI, fueron utilizados para ver relaciones filogenéticas entre diferentes especies de complejos de triatominos; los dos primeros marcadores presentaron un porcentaje de 32.7 y 32.2 % de sitios variables respectivamente, lo que nos indica que son buenos marcadores para distinguir a nivel de complejos, sin embargo no se analizaron especies de complejos muy estrechamente relacionados (complejo *Phyllosoma* y especies del género *Rhodnius*; García *et al.*, 2001). En los análisis de las secuencias del ADN de origen nuclear, también se han empleado diferentes tipos de marcadores. Los más empleados corresponden a marcadores del ADN ribosomal (rADN), como la sub-unidad pequeña o 18S, con la cual se encontró una temprana

divergencia entre las tribus Triatomini y Rhodniini, mostrando ser un buen marcador a nivel de poblaciones, sin embargo a nivel de géneros y de especies estrechamente relacionadas fue incapaz de resolver las afiliaciones genéticas (no pudiendo distinguir entre los géneros *Panstrongylus* y *Dipetalogaster* del género *Triatoma* y las especies del complejo *Phyllosoma*) (Bargues *et al.*, 2002). El ITS-2 (Internal Transcribed Spacer 2), perteneciente al nrADN ha sido de gran utilidad para resolver relaciones filogenéticas desde niveles superiores hasta sub-especies e híbridos (Marcilla *et al.*, 2001; Bargues *et al.*, 2002).

## XII. ITS-2 Y CytB

El ITS-2 de origen nuclear y el CytB de origen mitocondrial, son marcadores moleculares que han ayudado a resolver relaciones filogenéticas y taxonómicas en especies de triatominos. El ITS-2 forma parte del ADN ribosomal, se encuentra entre la subunidad 5.8S y la subunidad grande 28S (Figura 7; Coleman, 2003), por ser parte del ADN ribosomal ha sido utilizado en estudios filogenéticos desde phyla hasta poblaciones (Bargues & Mas-Coma, 1997), además de emplearse como marcador diagnóstico para la diferenciación de especies (Bargues *et al.*, 2001).

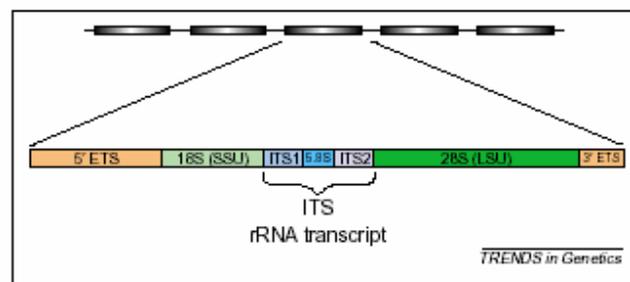


Figura 7. Ubicación del ITS-2 dentro del citrón ribosomal. Tomado de Coleman, 2003.

Son varias las ventajas que proporciona el uso del ITS-2 como marcador molecular, por ejemplo, dado que la región del ITS se encuentra altamente representado en el genoma, se puede amplificar con cantidades pequeñas de ADN; las secuencias altamente conservadas dentro de la mayoría de los genes del nrADN son muy útiles en el diseño de oligonucleótidos “universales”, lo cual facilita la amplificación del ITS.

Estos marcadores despliegan bajos niveles de homoplasia (similitud no debida a parentesco), además detecta grupos monofiléticos (taxones derivados de un solo ancestro común) y polifiléticos (taxones con diferentes ancestros), con los que se puede obtener información valiosa acerca de la evolución y las relaciones entre taxa que divergieron relativamente hace poco tiempo, menos de 50 millones de años (Marcilla *et al.*, 2001).

En distintas especies del género *Triatoma* y *Rhodnius*, se ha empleado el ITS-2 como marcador molecular, siendo de gran utilidad para resolver relaciones supraespecíficas, específicas y subespecíficas. En el caso particular de las especies pertenecientes al complejo *Phyllosoma*, el ITS-2 las logró diferenciar, además de analizar sus relaciones filogenéticas con especies de otros complejos (Martínez *et al.*, 2006). En el caso de *T. dimidiata*, se observó una variación entre los individuos de diferente procedencia (Marcilla *et al.*, 2001), indicando que este marcador puede diferenciar entre poblaciones de especies de lugares diferentes. Por otro lado, en el género *Panstrongylus*, se analizaron diferentes especies, utilizando este mismo marcador, logrando resolver problemas de ancestría, sugiriendo que este género es polifilético (Marcilla *et al.*, 2002).

Por otro lado, el ADN mitocondrial presenta ciertas características que lo hacen especialmente útil para estudios de evolución molecular y taxonómicos, debido a que ya se cuenta con la caracterización completa de su genoma en el caso de los triatominos (Dotson y Beard., 2001), presenta numerosas copias dentro de cada individuo, existiendo hasta 1000 por célula (Ingman y Gyllensten., 2001), su transmisión es por vía materna por lo que no hay recombinación (Sutovsky *et al.*, 1999), presenta una rápida tasa de evolución que es de 5–10 veces más que el ADN nuclear (Brown *et al.* 1982), además de presentar numerosos polimorfismos e inclusive la inserción ancestral de fragmentos de mtADN en el genoma nuclear.

El CytB es una proteína que pertenece al ADN mitocondrial, este último ya se tiene secuenciado para la especie *T. dimidiata*, siendo de 17, 019 pares de bases (Dotson

& Beard, 2001). El CytB se encuentra delimitado por el gen que codifica para la proteína ND6 y por un segmento de gen que codifica para RNA de transferencia; su tamaño es de 1132 pares de bases que codifican una proteína de 377 residuos de aminoácidos, tienen un anillo nitrogenado llamado porfirina que encierra un átomo metálico de hierro. Esta molécula desempeña una función vital en el transporte de energía química en todas las células vivas (Figura 8).



Figura 8. Ubicación del CytB dentro del ADN mitocondrial. Los cuadros con las letras S, P, T y H corresponden a RNA de transferencia; el signo de interrogación señala la presencia de una secuencia probablemente de un gen pero que no tiene homología con otras secuencias.

Los estudios realizados con este marcador en triatomíneos han generado resultados consistentes con la taxonomía aceptada de la subfamilia Triatominae (se analizaron algunas especies de la tribu Rhodniini y la Triatomini), distinguiendo a las dos tribus así como a los subgrupos de estas. Se ha estudiado además especies del género *Rhodnius* que presentan problemas de identificación, logrando separarlas y confirmando la taxonomía que se tenía de este grupo (Lyman *et al.*, 1999). En especies mexicanas, se ha empleado este marcador para analizar el complejo *Phyllosoma* y su relación con otros complejos de especies, logrando separar claramente a este complejo de los otros, además, dentro del complejo *Phyllosoma* se logró diferenciar a las especies (Martínez *et al.*, 2006).

## **JUSTIFICACIÓN**

---

Dado que sólo se cuenta con drogas muy tóxicas para tratar la Enfermedad de Chagas en etapa aguda, los cuales generalmente causan efectos secundarios, se ha enfocado el control de la enfermedad a su principal vía de adquisición, es decir, al insecto vector: los triatominos. Una forma de control incluye el uso de insecticidas, sin embargo se ha visto que éstos son costosos y de corta duración, lo que hace que en algunos lugares haya re-infestación, y en aquellos en los que se encuentran especies que viven en simpatria, alguna tolere más el insecticida y llegue a desplazar a la especie predominante. Así para poder enfocar las estrategias de control hacia los vectores, es necesario conocer varios de sus aspectos biológicos, por ejemplo su hábitat, sus ciclos biológicos, sus porcentajes de infección con el parásito, sus fuentes de alimentación, su distribución, sus relaciones genéticas, su interacción con el humano, entre otros.

México alberga un gran número de triatominos, de los cuales, poco se conoce de sus aspectos biológicos. Además un gran problema que presenta este grupo de insectos, es que sólo se pueden clasificar taxonómicamente en estadio adulto, y esto se debe a que existe una gran similitud morfológica entre las ninfas y en algunos adultos, y dado que en la gran mayoría de las colectas de campo se encuentran individuos en estos estadios es difícil determinar la especie, si hay más de una y cuál es la de mayor importancia epidemiológica. Por otro lado, aunque existen numerosos reportes de colectas de triatominos en México, es importante darle un seguimiento a estas en los estados, ya que constantemente encontramos reportes de nuevas especies y de nuevas distribuciones que en muchos casos no concuerda con las descritas anteriormente.

En particular, el estado de Oaxaca cuenta con más de seis especies descritas, incluyendo algunas de presencia dudosa, y a pesar que se han hecho colectas existen zonas escasamente analizadas, y con reportes de personas infectadas con *T. cruzi*, como por ejemplo, comunidades de la región del Istmo, en las que se ha encontrado anticuerpos contra el parásito en más del 80% de las personas que presentan afecciones al corazón. Por lo que los estudios enfocados a la distribución, hábitat, genética poblacional y a la identificación correcta de los triatominos son esenciales, si se desea tener un control exitoso de la Enfermedad de Chagas.

## **HIPÓTESIS**

---

---

Dada las condiciones geográficas y ecológicas que pueden favorecer la presencia de triatomíneos y a los reportes de serología positiva a *T. cruzi* reportadas en la región del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, esperamos encontrar una presencia diversa de especies de triatomíneos infectados con *T. cruzi* en diferentes localidades de la región y en estrecho contacto con la población humana.

## **OBJETIVOS**

---

---

### **General**

Realizar un estudio genético y entomológico de insectos triatominos en cinco comunidades de la región del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca.

### **Particulares**

- Determinar la presencia del insecto y en qué hábitat se encuentra.
  
- Identificar las especies morfológica y genéticamente.
  
- Analizar la heterogeneidad genética entre los triatominos de las zonas colectadas.
  
- Analizar parámetros entomológicos: índice de infección, índice de infestación, índice de colonización.

## **MATERIALES Y MÉTODO**

---

---

*Zona de colecta.*- La región del Istmo de Tehuantepec es una de las ocho regiones geoeconómicas del estado de Oaxaca, se ubica al sureste de la entidad entre los paralelos 15° 49' 12" y 17° 27' 00" y los meridianos 93° 54' 36" y 95° 58' 40", con una altitud máxima de 2000 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m); colinda al norte con el estado de Veracruz, al sur con el golfo de Tehuantepec, al este con el estado de Chiapas y al oeste con las regiones de la sierra sur y de la costa del Pacífico. La región cuenta con una superficie total de 26,214.37 km<sup>2</sup> que representa el 26% de la superficie total del estado, incluyendo 41 municipios repartidos en dos Distritos (Tehuantepec y Juchitán) ([www.oaxaca.gob.mx](http://www.oaxaca.gob.mx)).

*Determinación de las comunidades de estudio.*- A excepción de Santo Domingo Tehuantepec, el cual cuenta con una población de 39, 161 habitantes (INEGI, 2005), el resto de las áreas de estudio se escogieron con base a: localidades menores a 5000 habitantes, tipo de clima e informes de personas infectadas con el *T. cruzi*. Por un lado, se eligieron localidades con pocos habitantes para que de esta manera se pudiera tomar una muestra representativa del lugar. La distribución de los climas es un factor que puede determinar la distribución de los insectos, por lo que se decidió tomar este otro parámetro para determinar el lugar de estudio, para ello se tomaron como base los mapas de climas determinadas por el INEGI ([www.inegi.gob.mx](http://www.inegi.gob.mx)). Además se revisaron los registros de donadores de sangre en el Banco de Sangre del Hospital Civil de Salina Cruz, durante el período de 2004-2005, en este hospital se concentran habitantes de un gran número de comunidades aledañas, esto con el fin de averiguar las localidades de procedencia de personas que hubiesen sido rechazadas para donar sangre, por presentar anticuerpos contra *T. cruzi*. De esta manera se escogieron las siguientes comunidades: San Mateo del Mar, Magdalena Tequisistlán, San Miguel Ecatepec, Santa María Petapa y Santo Domingo Tehuantepec (Figura 9).

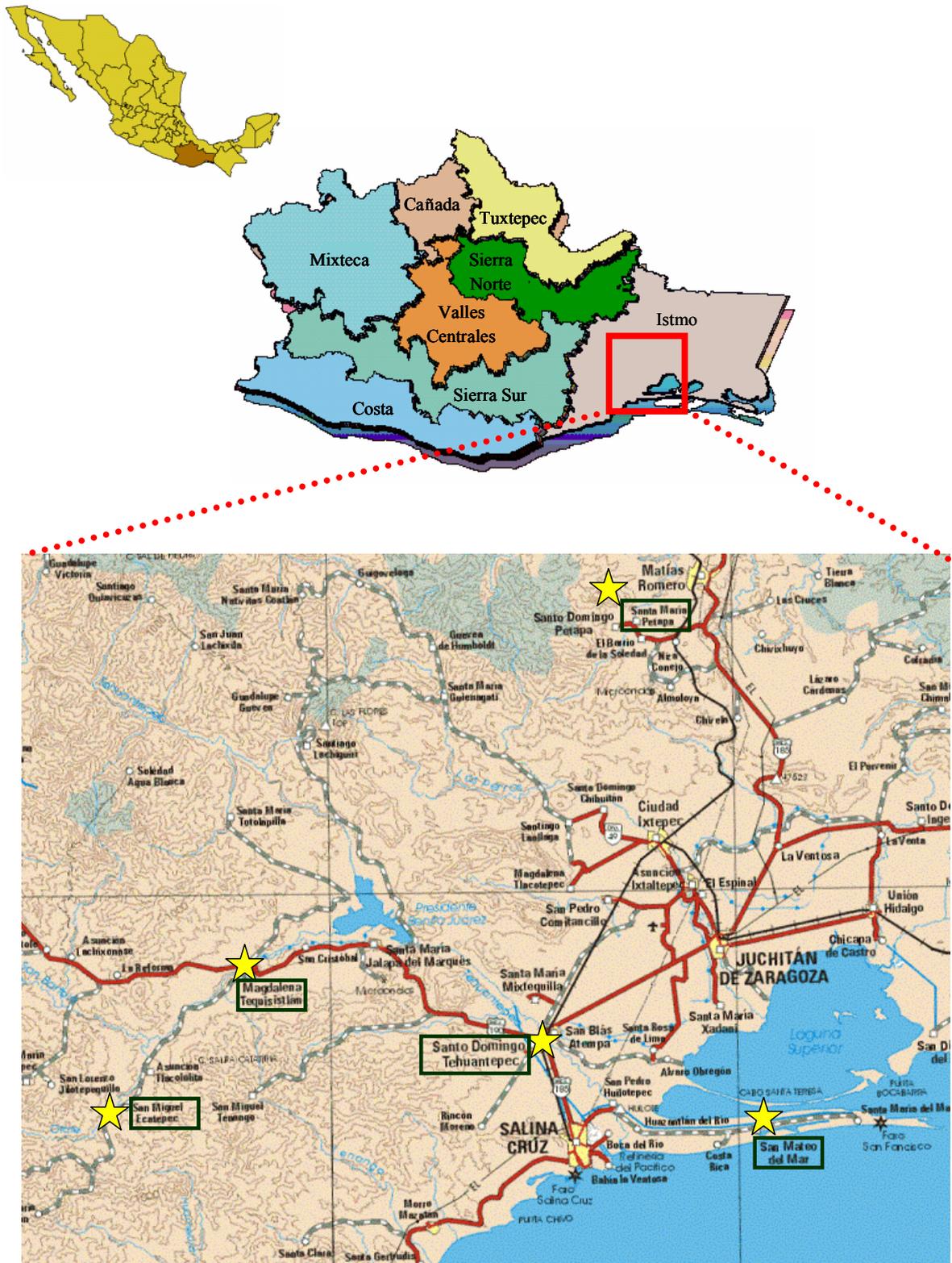


Figura 9. Ubicación de las comunidades dentro del estado de Oaxaca. Cada comunidad se encuentra marcada con una estrella.

\* Magdalena Tequisistlán

Se localiza en las coordenadas geográficas 95° 36' longitud oeste, 16° 24' latitud norte, a una altitud de 190 m.s.n.m. Limita al norte con Santa María Totolapilla, al sur con San Pedro Huamelula, al poniente con Asunción Tlacolulita, Santa María Ecatepec y Nejapa de Madero y al oriente con Santa María Jalapa del Marqués, San Miguel Tenango y Santo Domingo Tehuantepec. La superficie total del municipio es de 599.64 km<sup>2</sup> (Figura 10). Su clima es semicálido, subhúmedo con lluvias en verano y vegetación de tipo selva baja. El grupo étnico predominante es el mixe y en menor proporción se encuentra el zapoteca. El municipio está compuesto por 16 agencias municipales, de las cuales se escogió a la cabecera del municipio, Magdalena Tequisistlán, que cuenta con una población aproximada de 3860 habitantes (www.inegi.com; censo poblacional 2005). La mayoría de las viviendas están construidas con cemento y en una menor proporción con madera, lámina o barro; se produce maíz y hortalizas para el auto consumo; el 30% de la población se dedica a la cría de ganado vacuno y a la explotación de yacimientos de mármol (www.oaxaca.gob.mx).

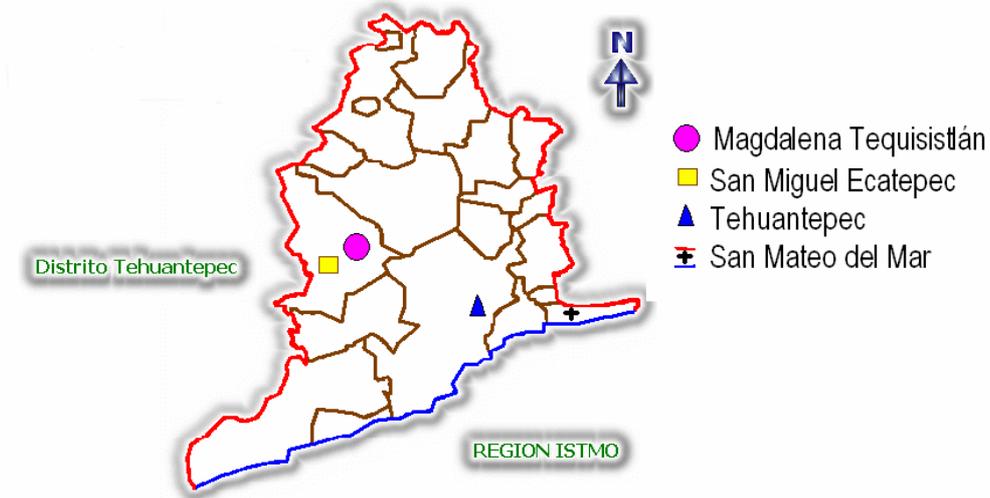


Figura 10. Localización de los municipios estudiados dentro del Distrito de Tehuantepec. Tomado de www.oaxaca.gob.mx

#### \* San Mateo del Mar

Se localiza al sur de la región del Istmo, pertenece al distrito de Tehuantepec y se ubica en las coordenadas 94° 59' longitud oeste, 16° 12' latitud norte, a una altitud de 10 m.s.n.m. (Figura 10). Limita al norte con Juchitán de Zaragoza y San Pedro Huilotepec, al sur con el Océano Pacífico, al oriente con Salina Cruz y San Pedro Huilotepec, y al poniente con la Laguna Inferior. La superficie total del municipio es de 75.2 km<sup>2</sup>. Su clima es cálido subhúmedo, con oscilaciones térmicas cortas, lluvias en verano y principios de otoño. El municipio está constituido por nueve regidurías, de las cuales se escogió para el estudio la cabecera del municipio que tiene el mismo nombre, el cual tiene una población aproximada de 1715 habitantes que pertenecen al grupo étnico huave ([www.inegi.com](http://www.inegi.com); censo poblacional 2005). Más de la mitad de las viviendas están construidas de techo de palma, paredes de carrizo y pisos de arena. Su principal actividad económica es la pesca ([www.fallingrain.com](http://www.fallingrain.com); [www.oaxaca.gob.mx](http://www.oaxaca.gob.mx)).

#### \*San Miguel Ecatepec

Es una de las agencias pertenecientes al municipio de Magdalena Tequisistlán, (Figura 10). Se ubica a 96° 43' longitud oeste y al 16°13' latitud norte a una altitud de 699 m.s.n.m. Su clima es templado subhúmedo con lluvias en verano. El grupo étnico predominante es el mixe y en menor proporción se encuentra el zapoteco. Su población es de aproximadamente 677 habitantes ([www.inegi.com](http://www.inegi.com); censo poblacional 2005). Más de la mitad de las viviendas están construidas de paredes de lodo y techos de carrizo, lámina o tejas. Su principal actividad económica es la agricultura, predominantemente el maíz, teniendo generalmente al lado de sus casas sus pequeños sembradíos ([www.fallingrain.com](http://www.fallingrain.com); [www.oaxaca.gob.mx](http://www.oaxaca.gob.mx)).

#### \* Santa María Petapa

Se localiza en el distrito de Juchitán, en las coordenadas 95° 07' longitud oeste y 16° 49' latitud norte, a una altura de 260 m.s.n.m. (Figura 11). El municipio tiene una superficie total de 145.44 Km<sup>2</sup>. Limita al norte con los municipios de San Juan Guichicovi y Matías Romero, al sur con Santo Domingo Petapa y El Barrio de la



Figura 11. Localización del municipio de Santa María Petapa dentro del Distrito de Juchitán, indicado con el color gris. Tomado de [www.oaxaca.gob.mx](http://www.oaxaca.gob.mx)

Soledad, al oeste con San Juan Guichicovi y Santo Domingo Petapa, al este con Matías Romero. Su clima es cálido húmedo con lluvias abundantes en las estaciones de primavera, verano y otoño; su tipo de vegetación es bosque de pino-encino ([www.conabio.com](http://www.conabio.com)). El grupo étnico predominante es el zapoteca y el menor proporción el mixe; de todas las regidurías con las que cuenta, se analizó la de El Paraíso,

La Paz y La Unión, que en conjunto tienen

814 habitantes ([www.inegi.com](http://www.inegi.com); censo poblacional 2005). Se encuentran edificadas viviendas construidas con pisos de tierra y cemento, muros de tabique y madera, y techos de loza y tejas. La riqueza natural más importante es la forestal, se explotan los bosques para obtener maderas finas y de construcción, en tanto que la agricultura es la base de la economía del municipio, en donde se cultiva maíz, frijol, café y hortalizas.

#### \*Santo Domingo Tehuantepec

Se localiza a 16° 17' de latitud norte y 95° 25' de latitud oeste con una altura de 99 m.s.n.m. (Figura 10). Colinda al norte con los municipios de Santa María Jalapa del Marqués, Santa María Mixtequilla y Magdalena Tlacotepec; al sur con el Océano Pacífico; al oeste con San Pedro Huamelula, San Miguel Tenango y Magdalena Tequisistlán; al este con San Pedro Comitancillo, San Blas Atempa y Salina Cruz. La superficie es de 965.8 kilómetros cuadrados que en relación al estado es el 1.01. Su clima es cálido húmedo con lluvias en las estaciones de primavera, verano y otoño; el tipo de vegetación es selva baja caducifolia ([www.conabio.com](http://www.conabio.com)). El grupo étnico presente es el zapoteca. Cuenta con más de 30 localidades, siendo la cabecera de municipio, Tehuantepec, la escogida para nuestro análisis, esta localidad cuenta con 39,161 habitantes ([www.inegi.com](http://www.inegi.com); censo poblacional 2005). Se encuentran edificadas

viviendas construidas principalmente de cemento. Sus principales actividades económicas son la agricultura, la ganadería, la pesca y el turismo.

*Colecta de triatominos.*- En cada localidad se analizó de manera aleatoria aproximadamente el 10% de las viviendas. En ellas, se realizó la colecta por el método hora/hombre (Oliveira, 1997) y de manera manual dentro del domicilio y peridomicilio, durante un año. Los triatominos capturados fueron colocados en botes de plástico con tapas, a las cuales se les hicieron agujeros; los botes fueron marcados con una clave específica para cada localidad y para cada casa incluyendo la fecha de colecta. A cada insecto se le asignó su propia clave, la cual se compone del nombre del lugar de colecta con el número asignado a cada individuo y con características específicas como son, el número de la casa, su ubicación dentro de ella, su estadio y sexo.

*Determinación de factores de riesgo.*- Se determinaron los factores socioeconómicos de los habitantes de la localidad mediante el empleo de cuestionarios; el formato del cuestionario fue tomado del estudio que sobre la Enfermedad de Chagas realizó el grupo de Médicos sin Fronteras (Anexo 1). Las viviendas fueron clasificadas según el material de construcción del techo, muro y piso; así si la vivienda tenía tanto techo como muro y piso de un material clasificado como “sin riesgo” (cemento, concreto, lámina de asbesto, ladrillo, block, piedra) se designó como casa; cuando tanto el techo como el muro y el piso eran de material “con riesgo” (madera, carrizo, palma, zacate, teja, adobe, tierra) eran de tipo choza, y cuando alguno de los materiales fueron de riesgo se clasificó como jacal (Segura *et al.*, 2005). De cada respuesta se obtuvo el porcentaje y se comparó con las otras comunidades, finalmente los resultados fueron graficados.

*Índices entomológicos.*- Los índices entomológicos que se determinaron fueron definidos según la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2002):

\* Índice de infección:

$$\frac{\text{Número de casas infestadas por triatominos}}{\text{Número de casas examinadas}} \times 100$$

\* Índice de hacinamiento:

$$\frac{\text{Número de triatominos capturados}}{\text{Número de casas con triatominos}}$$

\* Índice de colonización:

$$\frac{\text{Número de casas con ninfas de triatominos}}{\text{Número de casas con triatominos}} \times 100$$

\* Índice de infección natural:

$$\frac{\text{Número de triatominos con } T. \text{ cruzi}}{\text{Número de triatominos examinados}} \times 100$$

*Evaluación de la infección de insectos por T. cruzi.*- La presencia de *T. cruzi* en las heces de los triatominos vivos se determinó por observación directa al microscopio. Para ello se apretó suavemente el abdomen de cada insecto, dejando caer las heces sobre un portaobjetos que contenía una gota de búfer de fosfatos (PBS), posteriormente estas muestras se observaron al microscopio óptico a 40X y se determinó la presencia de *T. cruzi* por sus características morfológicas, entre las que destacan la presencia del cinetoplasto y del flagelo (Flores, 2001).

*Identificación morfológica de insectos.*- La identificación morfológica de los triatominos se realizó con ayuda de las claves de Lent & Wygodzinsky (Lent & Wygodzinsky, 1979) y fue corroborada por el Dr. Ricardo Alejandr  de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politecnico Nacional. Dos ejemplares

machos y dos hembras fueron depositados en la Colección del Laboratorio de Tripanosomiasis del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

*Identificación genética de insectos.*- Para la identificación genética se emplearon dos marcadores moleculares: ITS-2 (Villalobos, 2005) y el mtCytB (Martínez, 2003). Para ello se realizaron los siguientes pasos:

\* *Extracción de ADN.*- Se emplearon dos patas del insecto, las cuales se congelaron en un tubo de 1.5 mL usando nitrógeno líquido, e inmediatamente se maceraron con ayuda de un micropistilo hasta pulverizarlas. Éstas se resuspendieron en 1 mL de solución de extracción (50 mM de Tris-Cl (pH8), 50 mM de EDTA (pH8), 50 mM de NaCl, 20 µg/mL de RNasa y 1% de SDS), se dejó incubando a 55°C por una hora. Al término, se agregó 150 µL de Proteinasa K (30 mg/mL), se agitó cuidadosamente y se incubó a 37°C toda la noche. La extracción de ADN se realizó mediante la técnica de fenol-cloroformo descrita por Sambrook y colaboradores (1989) con algunas modificaciones realizadas por Martínez y colaboradores (Martínez *et al.*, 2006), al finalizar la extracción, el ADN se resuspendió en agua previamente esterilizada, filtrada e irradiada (EUF). La concentración de ADN se cuantificó mediante el espectrofotómetro de capilares (Gene Quant pro, Amersham Pharmacia Biotech), el cual nos proporciona además de la cuantificación, la pureza del ADN mediante lecturas de absorbancia de 260 y 280 nm, considerando que una unidad de absorbancia a 260 nm corresponde a 50 µg/mL de ADN.

\* *PCR.*- La reacción en cadena de la polimerasa se realizó en un volumen de reacción de 25 µL, el cual contenía 200 ng de ADN, 2.5 µL de solución para PCR 1X, 0.25 µL dNTPs a 50 mM, 1 µL de oligos a 100 pM, 1 µL *Taq* polimerasa (*Taq gold* 5 U, Perkin elmer), 2.5 µL de MgCl<sub>2</sub> a 50 mM y agua EUF. Los oligos utilizados para la amplificación del ITS-2 fueron sintetizados a partir del publicado por Marcilla y colaboradores (Marcilla *et al.*, 2001), para los del CytB fueron tomados de Martínez y colaboradores (Martínez *et al.*, 2006). Las secuencias de los oligonucleótidos para el ITS-2 fueron: directo 5' CTAAGCGGTGGATCACTCGG 3' y reversa

5'GCACTATCAAGCAACACGACTC 3' y para el CytB, directo 5'  
CGAATTAGTTAAATGATTRTGRGG 3' y reversa 5'  
TATGCRAATAGGAARTATCATTC 3'.

La PCR consistió en un paso inicial a 95 °C por 10, un segundo paso de desnaturalización a 94°C por 4 minutos; 35 ciclos de amplificación, las cuales incluyen un minuto a 94°C (desnaturalización de las hebras de ADN), un minuto a 55°C (alineamiento de los oligonucleótidos) y un minuto a 72°C (elongación); y un paso final de elongación por 7 minutos a 72°C (modificado de Wincker *et al.*, 1994). Los fragmentos amplificados se observaron en un gel de agarosa al 1.5% en solución de electroforesis TAE 1X, corridos a 120 volts por 90 minutos aproximadamente en una cámara de electroforesis horizontal; el gel se tiñó con bromuro de etidio y se observó en un transiluminador.

\* *Clonación.*- Para la inserción del producto de PCR en el vector de clonación y posteriormente a las células bacterianas se utilizó el kit de clonación TA Cloning kit (Invitrogen, No. Cat. K2040), siguiendo la metodología del proveedor.

\* *Extracción de ADN de plásmido.*- Después de la clonación (kit de clonación), se verificó el inserto deseado (ITS-2 o CytB), para ello se extrajo el ADN de plásmido, mediante la técnica de lisis alcalina, brevemente, se centrifugó el cultivo bacteriano en un tubo de 1.5 mL a 14 000 rpm por un minuto, para obtener la pastilla de células bacterianas. A la pastilla obtenida, se agregó 150 µL de solución I (500 mM Glucosa, 25 mM Tris-HCl pH8, 10 mM EDTA pH8), se agitó fuertemente; se agregó 200 µL de solución II recién preparada (0.2 N NaOH, 1 % SDS), se mezcló por inversión de 4 a 6 veces; se agregó 100 µL de solución III (5 M de acetato de potasio, 11.5 mL de ácido acético glacial 99.7% de pureza, agua) y se mezcló por inversión de 4-6 veces. Se centrifugó a 14 000 rpm por 10 minutos (4°C). Se extrajo todo el sobrenadante y se pasó a un tubo eppendorf de 1.5 mL, y se agregó 500 µL de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico en una proporción 25/24/1 y se centrifugó a 14 000 rpm por 5 minutos; se recuperó la fase superior (o fase acuosa) y se transfirió a otro tubo de 1.5 mL y se le agregó 500 µL de cloroformo, se centrifugó a 14 000 rpm por 5 minutos. Se recuperó la fase superior y se pasó a otro tubo de 1.5 mL, al cual se le agregó 1 mL de etanol frío y

se deja a  $-70^{\circ}\text{C}$  por una hora. Se centrifugó a 14 000 rpm por 10 minutos. Se tiró el sobrenadante y se quedó con la pastilla, la cual se lavó con etanol al 75%. Finalmente se resuspende la pastilla de ADN con 30  $\mu\text{L}$  de solución TE con RNAsa [20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ].

\* *Digestión del ADN de plásmido.*- El ADN de plásmido se digirió con la enzima EcoRI. La digestión se realizó en un volumen de 20  $\mu\text{L}$ , el cual contenía 2  $\mu\text{L}$  de ADN de plásmido (no cuantificado), 2  $\mu\text{L}$  de solución de ligación 10X, 1  $\mu\text{L}$  de EcoRI (1 U) y 15  $\mu\text{L}$  de agua estéril. Los controles de la digestión sólo contenían 2  $\mu\text{L}$  del ADN de plásmido y 18  $\mu\text{L}$  de agua estéril. Estas reacciones se dejaron incubando 3 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . Las digestiones se corrieron en un gel de agarosa al 1.5% con búffer TAE 1X a 120 volts por 90 minutos; el gel se tiñó con bromuro de etidio y se observó en el transiluminador de rayos U.V., para verificar cuales clonas poseen el inserto esperado. Las clonas que tuvieron el inserto deseado se volvieron a sembrar en medio LB líquido con kanamicina (50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) a  $37^{\circ}\text{C}$  toda la noche, para de nuevo ser extraído el plásmido, con el QIAprep® Miniprep Kit (QIAGEN, No. Catálogo 27104), esto con el fin de tener ADN de plásmido con una mejor pureza y concentración. El ADN se cuantificó en el espectrofotómetro de capilares.

\* *Secuenciación.*- Las clonas que contenían los insertos de interés fueron secuenciados en el secuenciador automático Abi Prism 310 (Applied Biosystems). Los oligonucleótidos utilizados fueron el M13 Reverse y el T7 promoter, los cuales se encuentran dentro del vector de clonación.

\* *Análisis genético.*- Las secuencias obtenidas se procesaron para verificar que no existieran errores en la impresión de la secuenciación y para obtener las secuencias consenso. Las secuencias fueron alineadas usando el programa Clustal W2 ([www.ebi.ac.uk](http://www.ebi.ac.uk)). Los parámetros utilizados para este alineamiento fueron los predeterminados por el programa, además se revisó manualmente el alineamiento. Para determinar las regiones del ITS-2 y del CytB, se alinearon las secuencias obtenidas en este trabajo con aquellas secuencias del ITS-2 y del CytB para especies de triatomíneos reportados en el GenBank, de esta manera por homología, se establecieron las secuencias. Finalmente, se determinaron los sitios variables de cada secuencia comparada con la del GenBank.

Se utilizó el programa Modeltest (Posada & Crandall, 1998) para determinar cuál es el modelo de evolución que mejor se ajusta a nuestros datos. El modelo de sustitución de nucleótidos escogido fue el Hasegawa, Kishino y Yano con distribución gamma (HKY; Hasegawa *et al.*, 1985) tanto para las secuencias del mtCytB como para las del ITS-2. Con estos datos obtenidos en el Modeltest se corrieron filogramas con los programas Mr. Bayes (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) y PAUP (Swofford, 2001); en el caso del PAUP se utilizó el método de máxima parsimonia con un bootstrap de 1000 repeticiones. En el caso del método probabilístico (Mr. Bayes) el análisis fue realizado para diez millones de generaciones. Para el método de parsimonia se realizó un árbol de consenso de mayoría. Para el árbol probabilístico se realizó un consenso después de eliminar a los primeros 100 árboles obtenidos, esto al analizar los valores de verosimilitud con respecto a las generaciones y determinar el burn-in. Para la visualización gráfica de los árboles obtenidos se utilizó el programa TreeView (Page, 1996). La especie *T. infestans* fue empleada como grupo externo, después de analizar a las especies *T. lecticularia*, *T. rubida* y *Rhodnius prolixus*. Por otro lado, se construyó una matriz de distancias en el programa MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) versión 3.0 (Kumar *et al.*, 2004), utilizando la opción “Distancia” contenida en el menú principal y empleando las distancias de Kimura dos parámetros.

## **RESULTADOS**

---

---

### **Colectas de campo**

El estudio de campo se realizó en cinco comunidades de la región del Istmo de Oaxaca. En los municipios se obtuvo el permiso de los encargados municipales para la realización del proyecto. Durante un año, en cada comunidad se escogieron al azar las casas analizadas, de tal manera que al finalizar el estudio, contáramos con aproximadamente el 10% de las casas de las comunidades muestreadas ([www.inegi.com](http://www.inegi.com)). En cada casa, se estableció comunicación con el jefe de familia o el encargado, se le explicaba de manera general el motivo de nuestra presencia y se pedía permiso para poder revisar sus casas, siempre respetando sus decisiones. A los jefes de familia o encargados se les aplicaba un cuestionario sobre aspectos sociales, médicos y relacionados a la Enfermedad de Chagas y sus vectores (ver factores de riesgo; Anexo 1).

#### **\* Magdalena Tequisistlán**

Se estableció contacto con el presidente municipal y el regidor de salud, los cuáles nos brindaron las facilidades para trabajar en la comunidad; se muestrearon 45 casas (Figura 12); la mayoría estaban construidas de cemento y sólo algunas, principalmente en los alrededores, eran de lodo y teja (Figura 13); en estas últimas casas, generalmente habían animales de corral. En nuestra búsqueda, no encontramos triatomíneos ni en el domicilio ni peridomicilio. Estos hallazgos concuerdan con las respuestas de la mayoría de los habitantes de no conocer al insecto y tampoco asociarlo a sus viviendas.

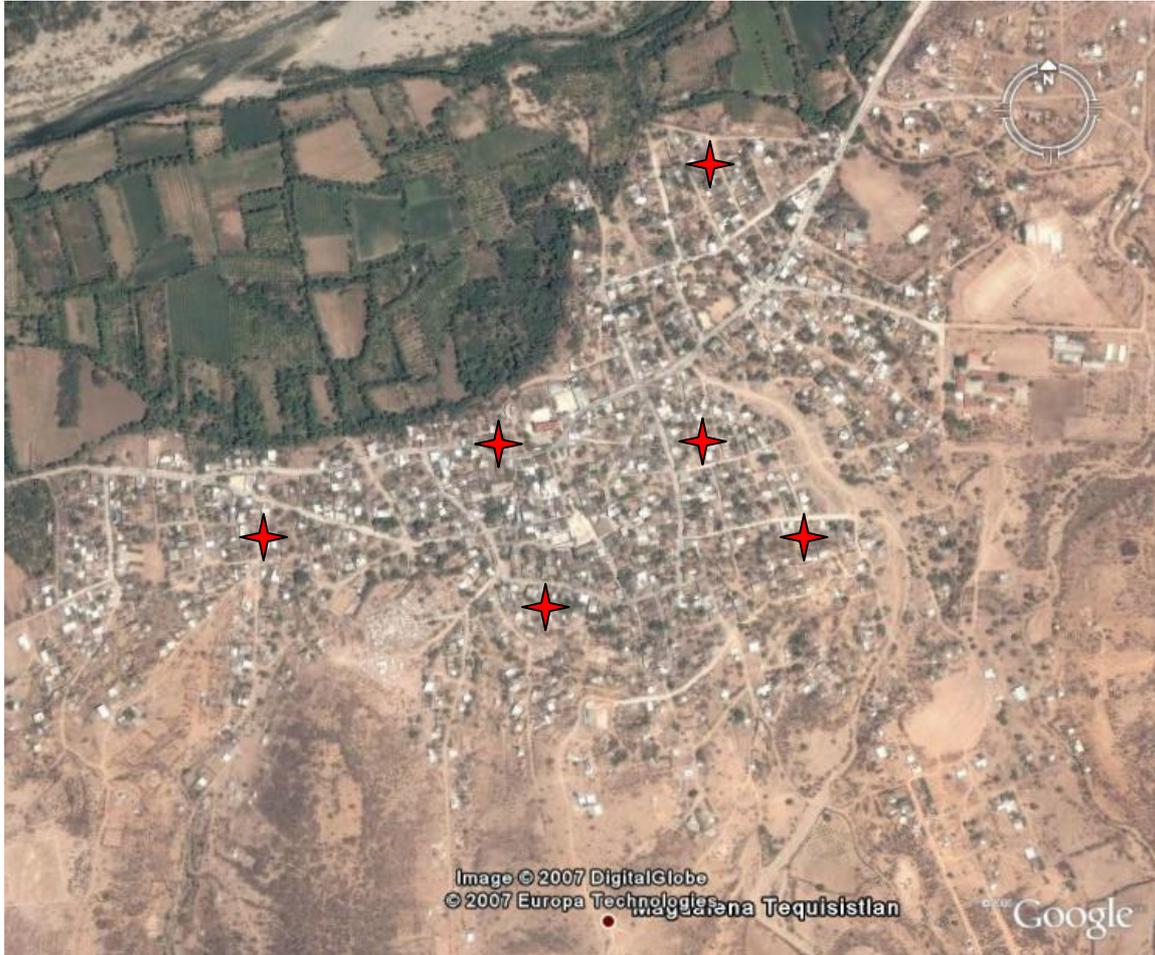


Figura 12. Vista satelital del municipio de Magdalena Tequisistlán. Se muestra con estrellas las zonas en donde se muestrearon las casas. Tomado de [www.google.com](http://www.google.com), a una altura de 1.76 km.



Figura 13. Tipo general de viviendas en la comunidad de Magdalena Tequisistlán.

\* San Mateo del Mar

Se estableció contacto con el presidente municipal, el cual ofreció la ayuda de un traductor de la lengua nativa (huave), que fue de gran ayuda en aquellas casas en dónde ningún habitante hablaba español. En esta comunidad se muestrearon 60 casas (Figura 14), de las cuales sólo en siete se encontraron triatominos; más del 60% de las casas muestreadas eran construidas de palma, la cual funciona como su habitación principal, además de tener estructuras de igual construcción alrededor de ésta, que sirven de cocina y baño (Figura 15). Las casas que se encontraron infestadas con triatominos se ubicaron sólo en la parte norte de la comunidad, la cual corresponde a una colonia de reciente establecimiento y que además colinda con las zonas silvestres, lo que nos sugiere la probable invasión humana al habitat de los insectos.



Figura 14. Vista satelital de la comunidad de San Mateo del Mar, señalando con estrellas las zonas muestreadas y con una cruz la zona de la comunidad en donde se encontraron las casas con triatominos. Tomado de [www.google.com](http://www.google.com), a una altura de 2 km.



Figura 15. Tipo de vivienda encontrada en San Mateo del Mar. Se muestra con la lupa la localización de los triatominos dentro de ellas, las cuales se encontraron entre las palmas que forman la habitación.

#### \* San Miguel Ecatepec

En esta comunidad se contó con el apoyo del agente municipal que informó a la comunidad de nuestra visita. Se muestrearon 25 casas (Figura 16); construidas principalmente de cemento y tejas (Figura 17). En ninguna de las casas analizadas se encontraron triatominos, a pesar que algunos de los pobladores reconocieron al insecto, sin embargo negaron haberla visto en sus viviendas, más bien las conocían porque las encontraban frecuentemente durante las noches cerca de sus animales o de ellos cuando se disponían a descansar en sus sembradíos, los cuales se encuentran ubicados en las afueras de la localidad.



Figura 16. Vista satelital de la comunidad de San Miguel Ecatepec, señalando las zonas de colecta. Tomado de [ww.google.com](http://ww.google.com), a una altura de 1.18 km.



Figura 17. Tipo de vivienda en la comunidad de San Miguel Ecatepec.

#### \* Santa María Petapa

En esta comunidad se contó con el apoyo del presidente municipal y del regidor de salud; se muestrearon tres regidurías que se encuentran a 5 km aproximadamente de la cabecera de municipio y que están juntas, en ellas se muestrearon 20 casas (Figura 18), las cuales estaban construidas principalmente de cemento y tejas (Figura 19). En ninguna de las casas se encontraron triatominos, y a diferencia de San Miguel Ecatepec, en donde los habitantes si la habían visto aunque no en sus viviendas, en estas regidurías nadie conocía la insecto.

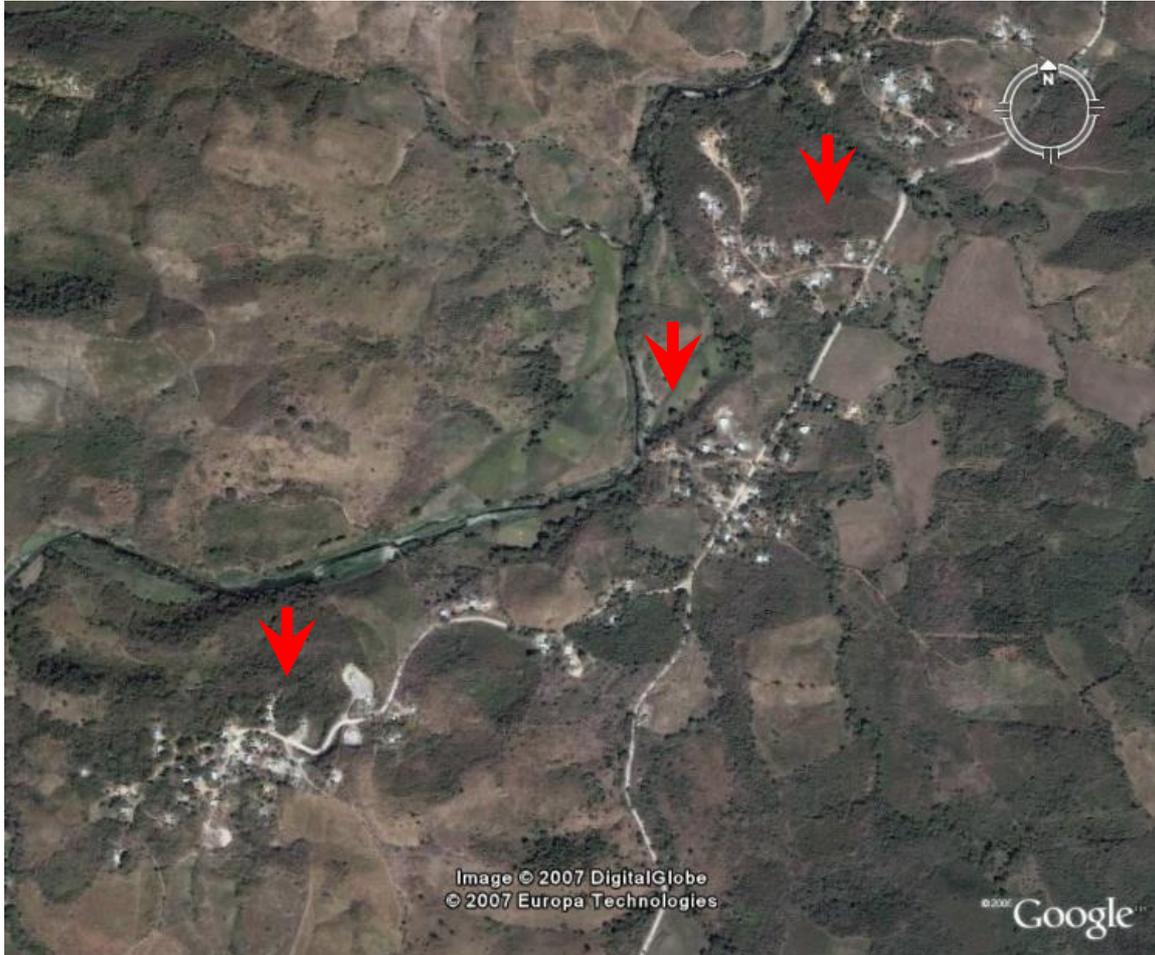


Figura 18. Vista satelital de la comunidad de Santa María Petapa, mostrado con flechas las tres regidurías estudiadas. Tomado de [www.google.com](http://www.google.com), a una altura de 1.85 km.



Figura 19. Tipo de vivienda en la comunidad de Santa María Petapa

\* Santo Domingo Tehuantepec

En esta comunidad se muestrearon 92 casas (Figura 20), construidas de cemento y láminas (Figura 21). En nueve casas se hallaron triatomíneos, los cuales se encontraron únicamente en viviendas ubicadas en las afueras de la comunidad a pesar que también se revisaron casas en el centro de esta y no se encontraron; estos hallazgos sugieren la presencia del insecto en las casas fuera del centro de la comunidad pero no dentro de ella.

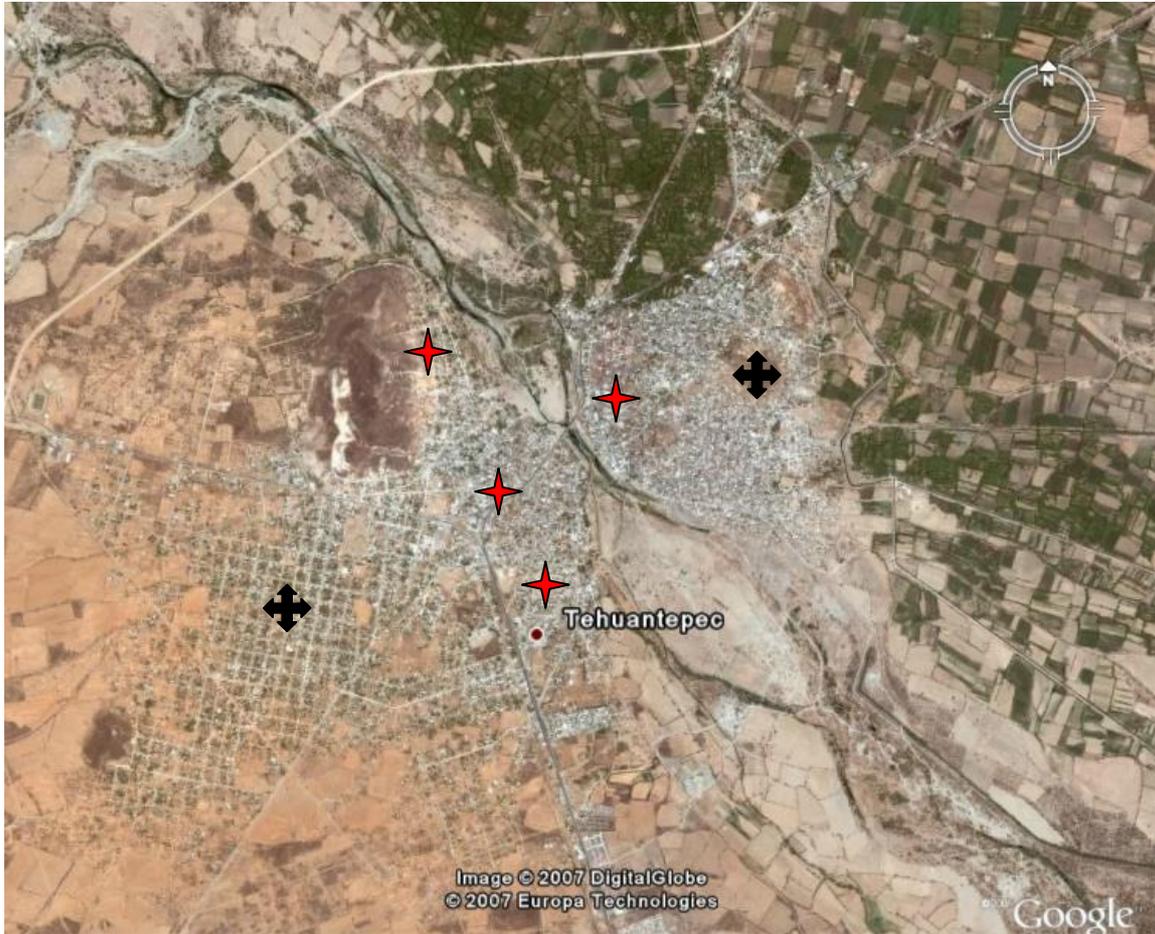


Figura 20. Vista satelital de la comunidad de Santo Domingo Tehuantepec, señalando con estrellas las zonas de colecta y con cruces aquellas zonas donde se ubicaban las casas con triatominos. Tomado de [ww.google.com](http://ww.google.com), a una altura de 6.56 km.

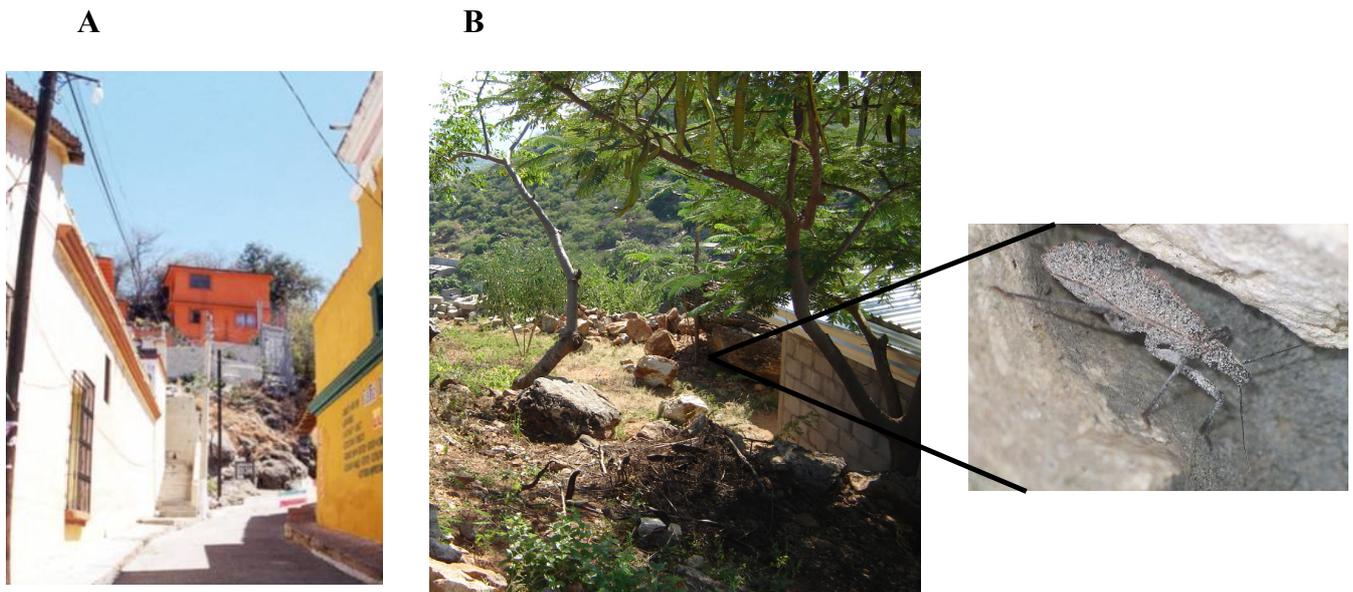


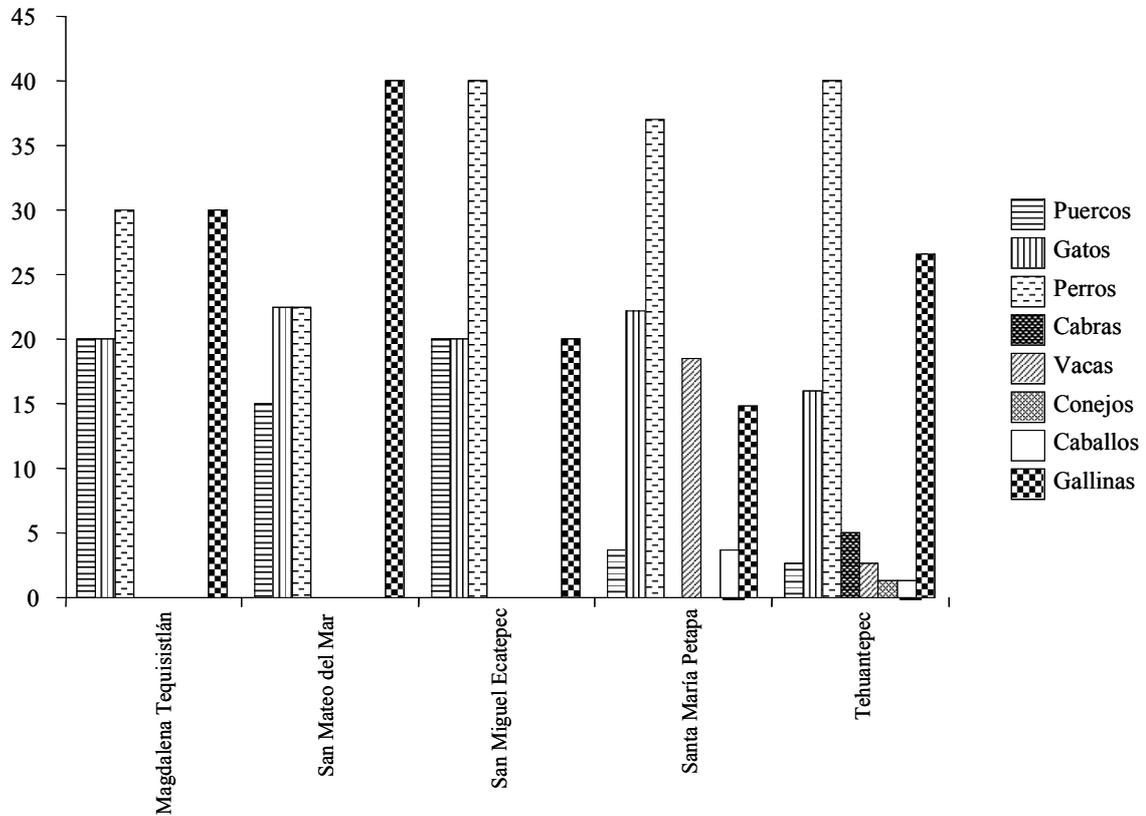
Figura 21. Características de las viviendas en el municipio de Tehuantepec. A) Tipo de vivienda encontrada frecuentemente en la comunidad; B) Localización de los triatominos en las viviendas, presentando en el recuadro el sitio donde fueron hallados.

### Factores de riesgo

Existen diferentes aspectos biológicos y sociales que se consideran como factores de riesgo para estar en contacto con el vector y así incrementar la incidencia de infección con *T. cruzi*, por ejemplo, el tipo de vivienda y la presencia de animales domésticos y silvestres en contacto con poblaciones humanas, entre otros.

Se aplicaron cuestionarios a los jefes de familia para conocer aspectos que pudieran estar relacionados a la presencia del triatomino. En Magdalena Tequisistlán y Santa María Petapa, ninguna persona entrevistada reconoció al insecto, en tanto que en San Miguel Ecatepec pocos los relacionaban a sus sembradíos, estos resultados concuerdan con la ausencia de triatominos en estas comunidades. El tipo de vivienda fue heterogénea entre las comunidades analizadas, siendo los materiales de construcción más comunes, el concreto (Tehuantepec y Magdalena Tequisistlán), la palma (San Mateo del Mar) y las tejas (Santa María Petapa y San Miguel Ecatepec). Se encontró que en todas las comunidades, la población convive con animales domésticos, principalmente perros y gatos, mismos que pueden servir como fuente de alimento para los triatominos (Gráfica 1). Además, las personas encuestadas mencionan la presencia

de ciertos animales silvestres, denominados por ellos como tlacuaches, murciélagos, zorros, iguanas y ratas.



Gráfica 1. Presencia de animales domésticos asociados a las viviendas en las cinco comunidades analizadas.

Sólo en San Mateo, las gallinas suelen entrar a las viviendas y quedarse a dormir dentro de ellas. El tipo de vivienda de choza fue mayoritariamente encontrada en Santa María Petapa, el de jacal en San Mateo del Mar y el de casa en Tehuantepec, sin embargo en todas las comunidades, se encontraron por lo menos dos tipos de vivienda. En todas las comunidades, la mayoría de las viviendas tenían más de 10 años de haberse construido, además de la presencia de fisuras dentro de la vivienda, estos resultados variaron, siendo San Mateo del Mar y Santa María Petapa las comunidades que presentaban los mayores porcentajes (Tabla 2). Resultados similares fueron observados en cuanto a la ventilación de las viviendas. Pocas campañas de fumigación se han realizado en las comunidades, de las cuales pocas se han realizado en periodos menores a seis meses. El nivel de educación vario del 10% al 75% siendo Tehuantepec, el que

presentó los mayores porcentajes (Tabla 2). Más del 80% de los encuestados de todas las comunidades coincidieron en no conocer de la Enfermedad de Chagas, ni que ésta tuviera relación con los triatominos.

Tabla 2. Frecuencia de algunos factores de riesgo para la presencia del triatomo en las comunidades analizadas.

Factores	Tequisistlán	S. Mateo	S. M. Ecatepec	S. M. Petapa	Tehuantepec
	%	%	%	%	%
Convivencia con el perro	30	22.5	40	37	40
Convivencia con el gato	20	22.5	20	22.2	16
Convivencia con gallinas	40	40	20	14.8	26.6
Lugar donde duermen los animales					
Dentro *	-	50	-	-	-
Fuera **	80	16.6	100	100	100
Establo	20	33.3	-	-	-
Tipo de vivienda					
Choza	40	33.4	65	85	-
Jacal	-	66.6	-	15	-
Casa	60	-	35	-	100
Tiempo construcción vivienda					
Menores a 10 años	-	20	-	-	-
Fisuras					
Si	15	75	53.5	88	57.1
No	85	25	46.5	12	42.8
Ventilación					
Mala	-	78	25	73	-
Regular	15	22	50	27	85.7
Buena	85	-	25	-	14.2
Fumigación ***					
Si	45	10	-	-	35
No	55	90	100	100	65
Nivel de educación adecuado ****	60	10	25	15	75

\* En la habitación principal (dormitorios).

\*\* En el área peridoméstica.

\*\*\* Se considera como si, aquellas viviendas fumigadas hace menos de seis meses.

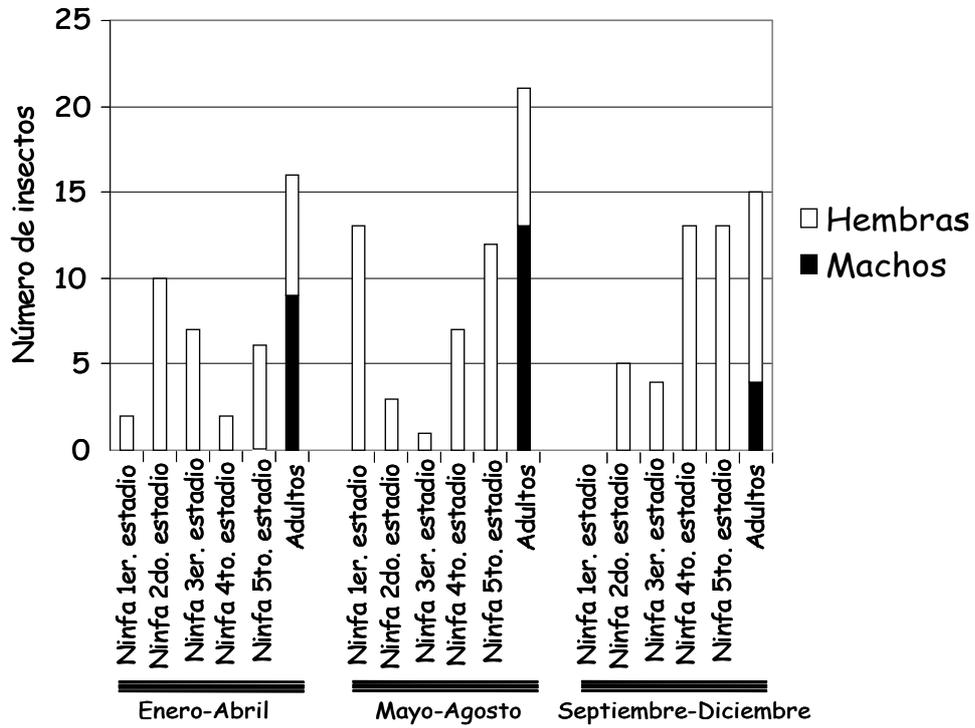
\*\*\*\* Considerado como aquellos habitantes que sabían leer y escribir.

## **Ciclo biológico**

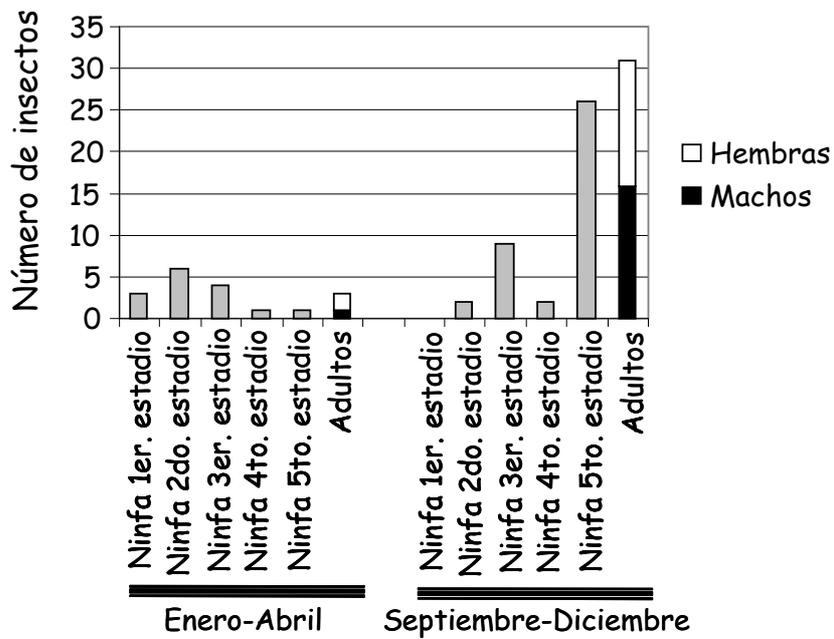
Durante el año en el que se realizaron las colectas de triatominos, se logró monitorear cada cuatro meses la abundancia y los diferentes estadios del insecto en las comunidades donde fueron colectados (San Mateo del Mar y Tehuantepec), con el fin de distinguir si existen patrones de estacionalidad relacionados al ciclo biológico de los triatominos, los resultados obtenidos se muestran en la gráfica 2. Como observamos en la gráfica, para la comunidad de San Mateo del Mar, en todos los períodos encontramos insectos, siendo más abundantes en el período de mayo a agosto con un 38% (57) de los individuos colectados, además de una mayor presencia de ninfas en primer estadio y adulto. Para los meses de septiembre a diciembre encontramos un aumento en ninfas de cuarto y quinto estadio, ambas con 17.3% (26) de los individuos colectados, además de un aumento del estadio adulto (20%). Los meses de enero a abril, fueron los menos abundantes con el 29% (43) de individuos colectados; dentro de estos el segundo estadio y los adultos fueron los más abundantes. Estos datos sugieren que probablemente estos insectos se estén reproduciendo mayoritariamente a principios de año en el periodo de enero a abril, de tal manera que encontramos la presencia de ninfas de primer estadio, alcanzando su mayor abundancia en los meses de mayo a agosto, correlacionando con el mayor índice de infestación.

En el caso de Tehuantepec, sólo se logró registrar la distribución y abundancia de los triatominos en dos períodos. En estos períodos se observó la mayor abundancia en los meses de septiembre a diciembre con un 47% (70) de los individuos colectados, con una incidencia mayoritaria de individuos en quinto estadio y adultos. El periodo de enero a abril correlacionó con los datos de San Mateo del Mar, en ser los meses con menos incidencia de triatominos (20 individuos colectados, 13%), sin embargo no se colectaron tantos ejemplares adultos como en San Mateo del Mar. En estos dos periodos se encontraron triatominos en estadios adultos; la presencia de ninfas en primer estadio sólo se presentó en los meses de enero a abril, sin hallarse en los meses de septiembre a diciembre, por lo que este último periodo pudiera ser los posibles meses de reproducción sin embargo sería necesario colectar en los meses faltantes para poder tener el registro de todos los periodos del año.

A



B



Gráfica 2. Distribución y abundancia de triatomines colectados en A) San Mateo del Mar y B) Tehuantepec.

## Índices entomológicos

En la comunidad de Tehuantepec fueron colectados 103 triatominos, todos ellos se encontraron en el peridomicilio, entre rocas que funcionaban como pequeñas bardas y entre amontonamientos de tabiques, en tanto, en San Mateo del Mar se encontraron 150 triatominos, los cuales fueron hallados en su totalidad entre las palmas de los dormitorios, en ambas comunidades se encontraron insectos en todos los estadios ninfales y adultos, siendo más abundantes los estadios ninfales (Figura 22). Con los datos del número total de insectos colectados, el número de casas revisadas y si el insecto se encontraba infectado con el parásito, se obtuvieron los índices entomológicos (WHO, 2002) para ambas localidades (Tabla 3).

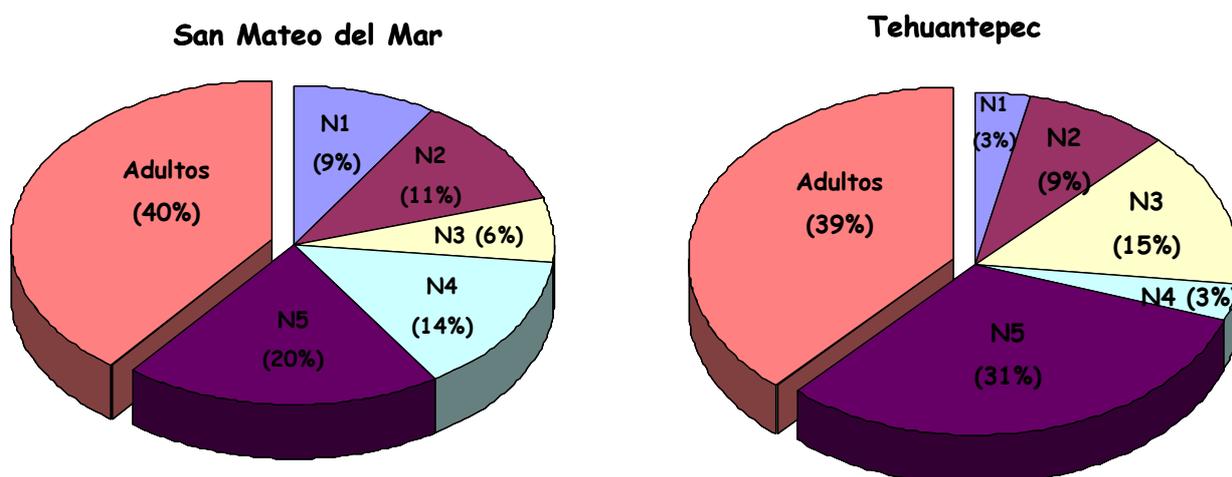


Figura 22. Distribución total de las ninfas y los adultos en las comunidades de Tehuantepec y San Mateo del Mar. Más del 60% corresponden a estadios ninfales (N1-N5).

Menos del 12% de las casas revisadas en ambas poblaciones se encuentra infestadas con el insecto, sin embargo para Tehuantepec hay menos insectos por casa (11 por casa) que en San Mateo del Mar (21 por casa); en ambas comunidades los índices de colonización son altos, esto es importante ya que nos indica que el insecto esta efectuando su ciclo de vida en las casas, sin embargo si hay que distinguir que en Tehuantepec, los insectos se encuentran en el peridomicilio, en tanto que en San Mateo

del Mar están en el domicilio. En cuanto a los índices de infección con el parásito, se encontró un mayor porcentaje de estos en los insectos colectados en Tehuantepec que en San Mateo del Mar, siendo este porcentaje de 39.5%.

Tabla 3. Índices entomológicos obtenidos en Tehuantepec y San Mateo del Mar.

	Índices	
	Tehuantepec	San Mateo del Mar
Índice de infestación	9.8% (9/92)	11.7 % (7/60)
Índice de hacinamiento	11.4 (103/9)	21.4 (150/7)
Índice de colonización	88.8%(8/9)	100% (7/7)
Índice infección natural	39.4%(37/94)	2.1% (3/143)
Total de insectos	103	150

### Identificación morfológica

Las especies de triatominos pueden ser reconocidos cuando estos se encuentran en estadios adultos y principalmente se emplean las claves morfológicas para estos insectos realizados por Lent & Wygodzinsky (1979). Los triatominos colectados en estadios adultos fueron revisados empleando esta clave, identificando a la especie *Triatoma phyllosoma* como la única presente en las dos comunidades (Figura 23). Las características predominantes de esta especie son:

- 1.- Pronoto completamente negro;
- 2.- Conexivo negro con manchas amarillentas o naranjas;
- 3.- Corio predominantemente negro;
- 4.- Corio con pelos erectos y alargados;
- 5.- Hemelitos no sobrepasando el VI urotergito;
- 6.- Región ante-ocular de 2.5 a 2.8 veces mayor que la pos-ocular; segundo segmento del rostro relativamente corto.

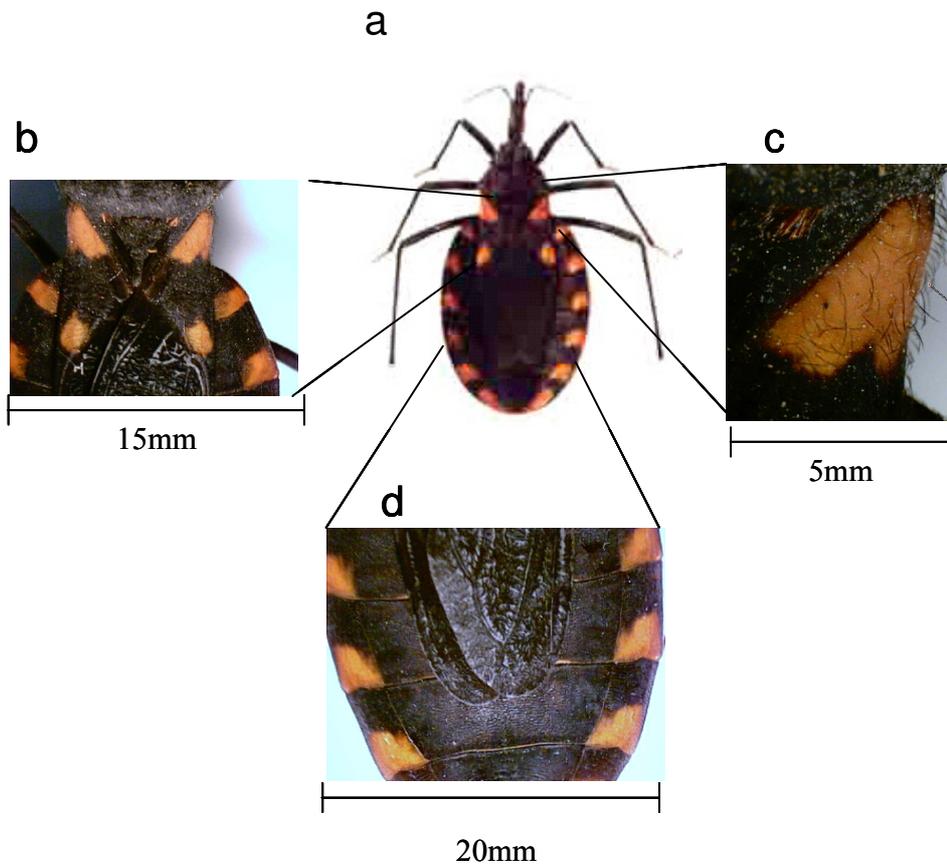


Figura 23. Características morfológicas importantes de *Triatoma phyllosoma*. a) *Triatoma phyllosoma*; b) Vista del corio; c) Pilosidad abundante en el cuerpo; d) Abdomen ancho y alas cortas.

### Análisis genético

Como observamos en la figura 22, más del 60% de los triatominos colectados se encontraron en estadios ninfales, y dado que sólo pueden ser reconocidos en estadio adulto, es importante definir que especies son las que se encuentran como ninfas. Para identificar a las ninfas, empleamos dos marcadores moleculares (ITS-2 y CytB); para ello escogimos el 10% de las ninfas para cada localidad en donde fueron encontradas, de tal manera que se analizaron 10 ninfas por localidad, seleccionando dos individuos por cada estadio ninfal, además de algunos ejemplares adultos (Tabla 4). Adicionalmente incluimos dos individuos de la especie *T. phyllosoma*, que habían sido

colectados en dos comunidades aledañas a las muestreadas (Salina Cruz y Tlacolulita). Los ejemplares analizados genéticamente, se encuentran descritos en la tabla 4.

Tabla 4. Características de los ejemplares genéticamente analizados.

Localidad	Identificación	Estadio	Sexo
San Mateo del Mar	SMMOAX15	Adulto	♀
	SMMOAX54	Ninfa, 1er estadio	-*
	SMMOAX145	Ninfa, 1er estadio	-
	SMMOAX1	Ninfa, 2do estadio	-
	SMMOAX112	Ninfa, 2do estadio	-
	SMMOAX21	Ninfa, 3er estadio	-
	SMMOAX90	Ninfa, 3er estadio	-
	SMMOAX37	Ninfa, 4to estadio	-
	SMMOAX22	Ninfa 4to estadio	-
	SMMOAX23	Ninfa 5to estadio	♂
	SMMOAX80	Ninfa 5toestadio	♀
Tehuantepec	TEHOAX1	Adulto	♀
	TEHOAX4	Adulto	♀
	TEHOAX28	Adulto	♀
	TEHOAX40	Ninfa, 1er estadio	-
	TEHOAX41	Ninfa, 1er estadio	-
	TEHOAX45	Ninfa, 2do estadio	-
	TEHOAX27	Ninfa, 2do estadio	-
	TEHOAX33	Ninfa, 3er estadio	-
	TEHOAX86	Ninfa, 3er estadio	-
	TEHOAX50	Ninfa, 4to estadio	-
	TEHOAX55	Ninfa 4to estadio	-
	TEHOAX25	Ninfa 5to estadio	♂
	TEHOAX71	Ninfa 5toestadio	♂
Salina Cruz	SCOAX1	Adulto	♀
Tlacolulita	TLAOAX1	Adulto	♀

\* En ninfas de 1er. a 4to. estadio no se puede determinar el sexo.

Para cada ejemplar, se amplificaron las secuencias para el ITS-2 y el CytB, el fragmento amplificado para el ITS-2 corresponde a un banda de aproximadamente 900 pares de bases, en tanto que para el CytB fue de 330 pares de bases (Figura 24). Estos amplificados fueron clonados y mandados a secuenciar.

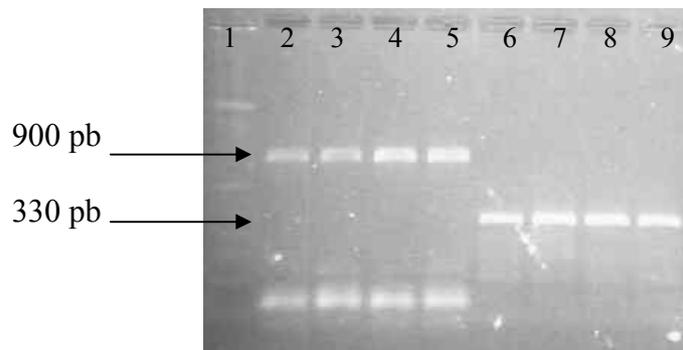


Figura 24. Gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio para amplificados de ADN de triatomíneos. Carriles: 1) Marcador de tamaño; Amplificados para el ITS-2: 2) SMMOAX15; 3) SMMOAX21; 4) SMMOAX23; 5) SMMOAX37; Amplificados para el CytB: 6) SMMOAX15; 7) SMMOAX21; 8) SMMOAX23; 9) SMMOAX37.

Cada secuencia obtenida, fue comparada con aquellas para triatomíneos accesadas en el GenBank ([www.genbank.com](http://www.genbank.com)), todas las secuencias obtenidas para ambas comunidades y con ambos marcadores, tienen un alto porcentaje de identidad (arriba del 98%) con la especie *T. phyllosoma*, lo que correlaciona con haber identificado a la misma especie en estadio adulto. Por lo que las ninfas analizadas y los adultos predominantemente pertenecen a esta especie.

Por otro lado, se encontraron dos ejemplares (SMMOAX21 y SMMOAX37) que cuando se analizaron sus secuencias para el gen de CytB, estas se asemejaban más a la especie *T. picturata*, sin embargo sus secuencias con el ITS-2 eran 100% idénticas a la especie *T. phyllosoma*. Estos resultados fueron corroborados revisando más clonas con ambos marcadores; en el caso del ITS-2 las tres clonas analizadas para los dos ejemplares siempre presentaban altos porcentajes de identidad con la especie *T. phyllosoma*, en tanto que las clonas analizadas para el CytB tuvieron una proporción de 1:2 con respecto a la especie *T. picturata*.

### **Variación intra-específica**

La variación intra-específica nos permite conocer qué tanta variación existe entre individuos de la misma especie. Para ambos marcadores, los porcentajes de variación encontrados para todos los individuos analizados fue menor al 2% entre ellos y también al compararlos con las secuencias reportadas en el GenBank para la especie *T. phyllosoma*. Hay que hacer notar sin embargo que en el caso particular del fragmento del CytB se encontraron dos clonas para el individuo SMMOAX37 y una clona para el individuo SMMOAX21 que presentaron porcentajes de identidad del 85% con la especie *T. phyllosoma*.

Con las secuencias obtenidas para la identificación genética, se construyó una matriz de distancias utilizando las distancias de Kimura 2 parámetros (Tabla 5). Como observamos en la tabla los individuos de ambas comunidades presentan distancias genéticas muy pequeñas; en el caso de las secuencias del ITS-2 no sobrepasan el 0.01, en tanto que para el CytB van del 0.02 al 0.2.

Tabla 5. Matriz de distancias para los individuos de San Mateo del Mar y Tehuantepec. Por arriba de la diagonal se presentan las distancias obtenidas con las secuencias del ITS-2, por debajo se encuentra las de CytB.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1SCOAX1		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01-0.04
2SMMOAX1	0.02		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.01-0.04
3SMMOAX15,54,80	0.02	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01-0.04
4SMMOAX21	0.02	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
5SMMOAX22	0.02	0.01	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
6SMMOAX23	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
7SMMOAX37	0.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
8SMMOAX90	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02		0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
9SMMOAX112	0.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
10SMMOAX145	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02		0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
11TEHOAX1	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00		0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
12TEHOAX4,33,41	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
13TEHOAX25	0.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.20	0.00	0.02	0.00	0.02	0.02	0.02		0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
14TEHOAX27	0.02	0.01	0.00	0.00	0.01	0.03	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
15TEHOAX28	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
16TEHOAX40	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
17TEHOAX45	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.16	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.04	0.02	0.02	0.02		0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.02-0.05
18TEHOAX50	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02		0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
19TEHOAX55	0.02	0.01	0.00	0.00	0.01	0.03	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02	0.01	0.00	0.00	0.02	0.00		0.01	0.01	0.00	0.00	0.01-0.04
20TEHOAX71	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00		0.01	0.01	0.01	0.01-0.04
21TEHOAX86	0.01	0.03	0.03	0.26	0.00	0.26	0.01	0.03	0.01	0.03	0.03	0.03	0.01	0.03	0.03	0.03	0.04	0.03	0.03	0.03		0.01	0.01	0.01-0.04
22TLAOAX1	0.01	0.03	0.03	0.03	0.03	0.26	0.01	0.03	0.01	0.03	0.03	0.03	0.01	0.03	0.03	0.03	0.04	0.03	0.03	0.03	0.02		0.00	0.01-0.04
23TphyllosomaGB	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03		0.01-0.04
24C. phyllosoma	0.11-0.14	0.12-0.15	0.12-0.15	0.12-0.15	0.13-0.15	0.12-0.15	0.11-0.14	0.12-0.15	0.11-0.14	0.12-0.15	0.12-0.15	0.12-0.15	0.11-0.15	0.13-0.15	0.12-0.15	0.12-0.15	0.13-0.15	0.12-0.15	0.13-0.15	0.12-0.15	0.12-0.16	0.11-0.16	0.12-0.15	

Estas distancias van aumentando cuando se comparan con el resto de las especies del *C. Phyllosoma*. Se obtuvo el promedio de las distancias de las especies pertenecientes a este complejo con respecto a resto de los individuos analizados y se generó un intervalo, que en el caso de las secuencias obtenidas con el CytB fue entre 0.11 y 0.15, en tanto que para el ITS-2 fue de 0.01 a 0.04.

Con los resultados obtenidos en el Modeltest se corrieron análisis filogenéticos en los programas PAUP y Mr. Bayes, empleando para ambos marcadores a la especie *T. infestans* como grupo externo. Las topologías obtenidas para ambos análisis son similares, por lo que sólo se muestran los árboles obtenidos con el programa Mr. Bayes (figura 25).

En el árbol obtenido con las secuencias del CytB la mayoría de los individuos analizados se agrupan dentro del clado que incluye a la especie *T. phyllosoma*; dentro de este clado podemos distinguir a dos grupos, el primero incluye 6 individuos analizados, en tanto que el segundo tiene al resto. Existen clonas de dos individuos que se encuentran agrupados con la especie *T. picturata*.

Para el árbol obtenido con las secuencias del ITS-2, se observa sólo un clado de los individuos analizados, agrupándose con la especie *T. phyllosoma*. Interesantemente, el individuo TEHOAX86 se ubica dentro del clado que agrupa al resto de las especies pertenecientes al complejo *Phyllosoma* a diferencia de la secuencia del mismo individuo con el CytB, con el cual no observamos esta agrupación.

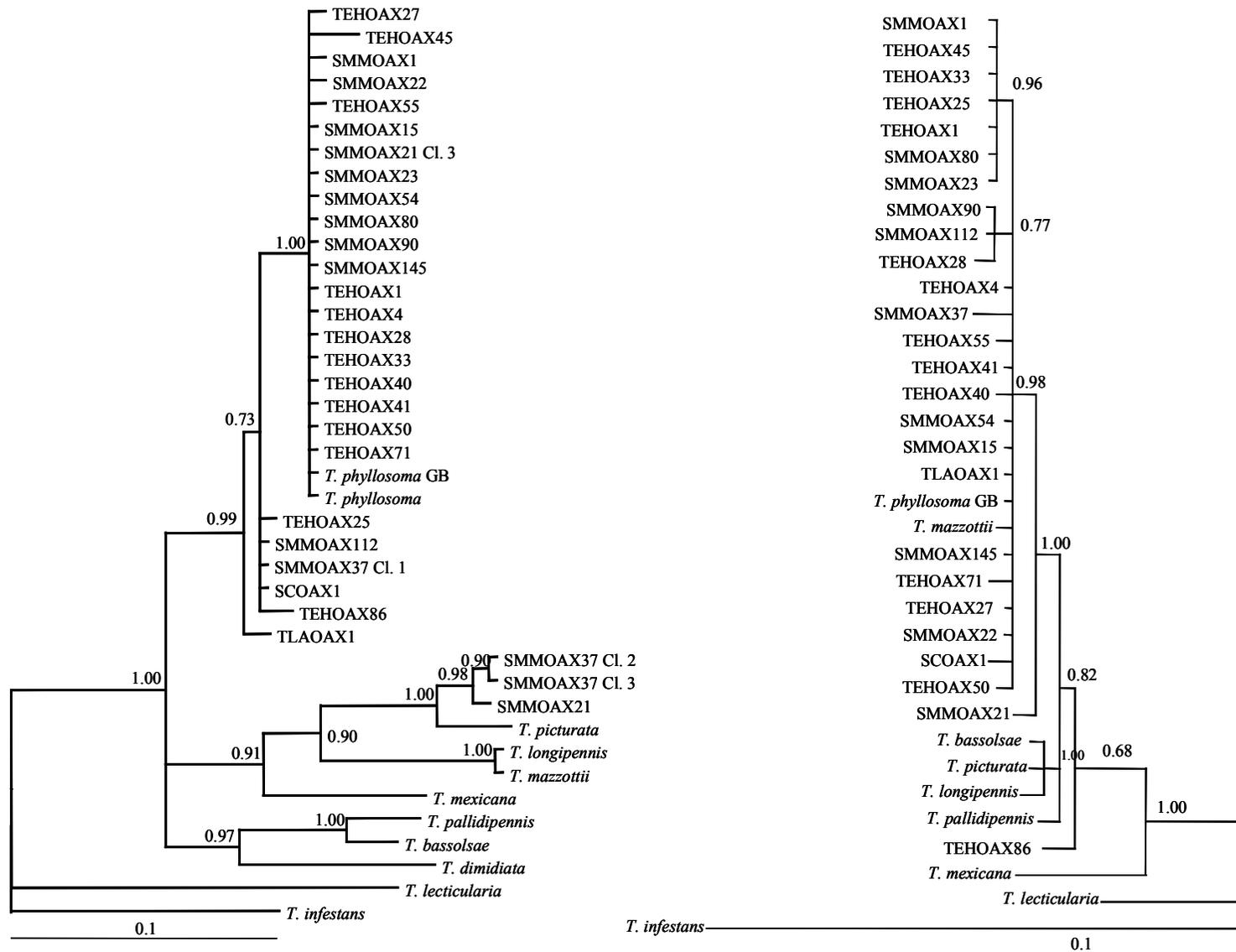


Figura 25. Filogramas obtenidos para las secuencias del CytB (izquierda) y del ITS-2 (derecha). Los árboles fueron construidos con el modelo de evolución HKY en el programa Mr. Bayes. Los valores en los nodos representa la probabilidad posterior.

## **DISCUSIÓN**

---

---

El Istmo de Tehuantepec, es una de las regiones más grandes del estado de Oaxaca; recientemente se ha descrito la presencia de tres especies de triatomíneos en la zona: *T. dimidiata*, *T. mazzottii* y *T. phyllosoma* (Ramsey *et al.*, 2000), sin embargo los estudios más detallados acerca del lugar de establecimiento, su cercanía con la vivienda humana y sus porcentajes de infección no han sido analizadas. Además de estos reportes, se cuenta con un estudio serológico, encontrando un 87.5 % de pacientes positivos a los anticuerpos contra *T. cruzi* (Reyes *et al.*, 2001). Por lo que la búsqueda de triatomíneos en cinco comunidades de la región así como la determinación de parámetros entomológicos y su correcta clasificación fue el objeto del presente trabajo.

Al analizar las cinco comunidades, Magdalena Tequisistlán y San Miguel Ecatepec son dos de las tres en donde no se encontraron triatomíneos; estas comunidades pertenecen al mismo municipio. En ambas, pocos habitantes reconocieron de manera correcta al insecto, y pocos las ubicaban en sus sembradíos. Esto último se correlacionó con haber encontrado un ejemplar de la especie *T. phyllosoma* en una comunidad que se encuentra entre estas dos (Tlacolulita), el insecto fue hallado en un sembradío, el dueño informó que tampoco lo ha observado en su vivienda como lo reportaron los habitantes de las otras dos comunidades, sino que son frecuentes en su sembradío y cerca de los animales que se quedan en estos lugares. En estos municipios, es importante realizar colectas en zonas silvestres y un análisis de las probables barreras que pudieran estar impidiendo el paso de los insectos a las viviendas humanas; por ejemplo, en nuestras visitas a estas comunidades, pudimos notar la presencia de un río que pudiera ser considerado una barrera geográfica, ya que la mayoría de los sembradíos se ubicaban pasando éste.

Otra comunidad muestreada en la que no se hallaron triatomíneos fue Santa María Petapa. Probablemente en esta comunidad, los triatomíneos se encuentren habitando las zonas silvestres, de tal manera que no tengan la necesidad de ingresar a las viviendas. Esto puede ser posible ya que en los alrededores de la comunidad los habitantes reportan la presencia de animales silvestres que pudieran funcionar como sus

principales fuentes de alimento. Por otro lado, pocos habitantes tienen animales en sus sembradíos lo que pudiera estar influenciando el no haberlas visto en estos lugares. La ausencia de insectos en estas tres comunidades fue confirmada por comunicación personal con los encargados de vectores de la Jurisdicción Sanitaria No. 2 del Istmo, los cuáles tampoco tienen datos de triatominos en estas comunidades.

San Mateo del Mar y Tehuantepec fueron las comunidades en las que se encontraron triatominos. A pesar que estas comunidades son aledañas a aquellas en donde no se encontraron triatominos, se ha reportado que en búsquedas activas de estos insectos por personal experimentado, han encontrado comunidades vecinas en donde en una encuentran triatominos y en la otra no (Magallón-Gastélum *et al.*, 2006). San Mateo del Mar presenta más del 80% de sus viviendas construidas de palma, la cual funciona como la habitación principal y en las cuáles se encontraron a todos los triatominos, teniendo en este tipo de viviendas un excelente refugio que los aísla de depredadores y les asegura la alimentación, además de que se establece una estrecha relación con el humano. Las casas en las que se encontraron triatominos se encuentran ubicadas en una colonia de reciente formación y en la que los habitantes han tenido que talar árboles para la construcción de sus viviendas; esto es interesante ya que los pobladores refieren que hace aproximadamente 12 años hubo una campaña intensa de fumigación contra los mosquitos que transmiten el dengue, lo que afectó de manera indirecta a los triatominos, a partir de esta fecha las poblaciones de estos insectos se vieron disminuidas, de tal manera que actualmente los habitantes los ven de manera escasa en sus hogares.

Tehuantepec, es la cabecera municipal y una de las comunidades más grandes de la región; la mayoría de las viviendas se encuentran construidas de concreto y en términos generales las construcciones se encuentran en buen estado. Las casas en donde se encontraron triatominos se encuentran ubicadas en la periferia de la comunidad. En esta población, los insectos no han llegado a invadir viviendas en el centro de la misma, lo que probablemente este correlacionado con la cercanía a la zonas silvestres de las viviendas que se encuentran en los alrededores.

En la comunidad de San Mateo del Mar, los triatominos se encontraron en su totalidad dentro del domicilio, a diferencia de Tehuantepec, en la cual estaba en el peridomicilio. Reportes del hábitat de la especie encontrada en estas localidades (*T. phyllosoma*) no existen, sin embargo se tienen datos para otras especies relacionadas a ésta. Por ejemplo, *T. longipennis* se ha encontrado asociada al peridomicilio (69.2%), y en menor proporción al domicilio (27.8%) en el estado de Nayarit (Martínez-Ibarra *et al.*, 2001), datos similares fueron obtenidos por otro grupo, para esta especie en el mismo estado (Magallón-Gastélum *et al.* 2001). La especie *T. picturata* a diferencia de *T. longipennis* se a colectado más en el domicilio (58.1%) que en el peridomicilio (41.9%); los triatominos colectados en estos dos tipos de hábitat se encuentran asociados en el peridomicilio a corrales de gallinas y cerdos, en tanto que dentro de la casa se han encontrado en las paredes y en las camas (Martínez-Ibarra *et al.*, 2001). Por otro lado, también existen especies que escasamente se encuentran asociadas a la vivienda, por ejemplo, *T. dimidiata* en la península de Yucatán (Dumontiel *et al.*, 2002). Sin embargo, también se ha observado que dependiendo de la zona de estudio el comportamiento de cada especie puede variar, en el caso de *T. dimidiata* se ha colectado principalmente en áreas silvestres y peridomésticas en la península de Yucatán (Dumontiel *et al.*, 2004), sin embargo en el estado de Veracruz se ha encontrado asociada al domicilio (datos no publicados). Por lo que es importante destacar que por primera vez se describe que *T. phyllosoma* es una especie que tiene la capacidad de invadir y realizar su ciclo de vida en las viviendas humanas (tanto dentro de ellas como en sus alrededores).

Se han reportado múltiples factores asociados a la presencia del insecto y por lo tanto al riesgo de transmisión de *T. cruzi*, principalmente en estudios realizados en Sudamérica. Por ejemplo, la presencia del triatomo en el domicilio y el peridomicilio, el tipo de vivienda y los posibles refugios del insecto dentro de ellas (pared, techo, grietas), la presencia de animales domésticos, el desorden y la falta de limpieza en las viviendas, entre otros (Schofield, 1985; Sanmartino & Crocco, 2000; WHO, 2002). En estudios realizados en México, se reportan factores similares a los ya mencionados,

además de otros, por ejemplo, el tiempo de construcción de la vivienda, la iluminación y ventilación de las casas, la convivencia de la población humana con los animales domésticos y el grado de escolaridad (Ramsey *et al.*, 2005; Segura *et al.*, 2005). Al parecer estos factores facilitan la infestación y permanencia de los triatominos en las viviendas y aumentan la relación humano-vector. Otro factor es la convivencia con los animales domésticos, ya que representan una fuente de alimento para los insectos. En las comunidades estudiadas con triatominos, existían un gran número y variedad de estos animales y además la convivencia era muy cercana a la población humana, ya que en muchos casos los animales se refugian dentro de las casas.

Por otro lado, se ha asociado la Enfermedad de Chagas a viviendas de tipo rural como idóneas para el establecimiento del insecto, sin embargo existen reportes de ciudades en las cuales el tipo de vivienda es de buena calidad de construcción y en las cuales se encuentran los insectos (Ramsey *et al.*, 2005). En nuestro estudio, tanto en viviendas rurales como en aquellas consideradas urbanas, así como con buena o mala ventilación e iluminación, se encontraron triatominos. Por lo que en este caso, el tipo de vivienda no determinaría la presencia del insecto. Sin embargo, en las que sí, el tipo de material de construcción podría ser un factor importante para la presencia de los triatominos domiciliados, ya que la palma favoreció la domiciliación del triatolino en San Mateo del Mar.

Otro factor que se asocia a la vivienda, es el tiempo de haber sido construida está, considerando una mayor incidencia de triatominos en casas menores a siete años de edificación (Ramsey *et al.*, 2005); sólo las viviendas en San Mateo del Mar infestadas con triatominos tienen aproximadamente  $5 \pm 1$  años de haberse establecido, lo que correlaciona con este factor; sin embargo, en Tehuantepec esta característica no parece estar influenciando la presencia de los insectos, ya que las viviendas tienen más de 10 años de construcción. Sin embargo, la ubicación de las casas con triatominos fue una característica que pareciera estar determinando la presencia del insecto en las comunidades donde fueron hallados, ya que en ambas, las casas se encontraron en la periferia de las comunidades y en áreas muy cercanas a zonas silvestres. Estos

resultados sugieren la correlación del ambiente silvestre y los animales que en el habitan con la presencia de triatominos en casas que presentan cercanía a este ambiente.

La escolaridad es un factor que se ha asociado a la cultura médica en una población, pues se considera que a mayor escolaridad, mayor probabilidad existe de tener información para el mejor cuidado de la salud, del entorno y viceversa (Sanmartino & Crocco, 2000; Segura *et al.*, 2005).

Con los resultados anteriores, no pudimos establecer factores generales que pudieran determinar la presencia del triatomo en las localidades. Sin embargo, si se puede establecer características particulares en las localidades en las que fueron encontrados los insectos (tipo de vivienda, la cercanía con animales domésticos, etc). Esto sugiere que la presencia de los triatominos requiere de la interacción de múltiples factores, ya que no sólo factores socioeconómicos particulares sino que también los factores ambientales podrían estar favoreciendo la presencia de estos insectos en las viviendas.

Con respecto a los índices entomológicos, pocas evaluaciones se han realizado en México, sobretodo que incluyan un apropiado muestreo, los cuales serían importantes en el conocimiento de las características epidemiológicas de la Enfermedad de Chagas (Ramsey *et al.*, 2005; Magallón-Gastélum *et al.*, 2006).

En nuestro análisis, se encontraron bajos porcentajes de infestación en ambas comunidades (<12%), estos datos contrastan con los de otras especies de triatominos, en donde estos porcentajes son altos, por ejemplo para la especie *T. pallidipennis* en Chalcatzingo (Morelos) el porcentaje de infestación fue de 28.4% (Enger *et al.*, 2004), en tanto que para *T. longipennis* en el municipio de Cuxpala (Zacatecas) sus porcentajes eran superiores al 40% (Magallón-Gastelúm *et al.*, 2006).

Escasos reportes se tienen en cuanto al índice de hacinamiento de triatominos en México, en el caso de *T. longipennis* se encontraron 28.3 triatominos por casa, en tanto que para *T. barberi* fue de 7.5 (Magallón-Gastélum *et al.*, 2006; Brenière *et al.*, 2007). En la comunidad de San Mateo del Mar, más insectos se observaron en las viviendas que en Tehuantepec (21.4 y 11.4 respectivamente), lo que perjudica de manera directa a

los pobladores ya que hay más posibilidad en San Mateo del Mar de infección por este insecto. Si estos resultados se correlacionan con los índices de colonización obtenidos resulta importante, ya que observamos 100% de colonización en San Mateo del Mar, esto es, existen más insectos por casa y todos se encuentran realizando su ciclo de vida en la vivienda. A nivel epidemiológico esto es un factor muy importante ya que establece una relación más estrecha entre los insectos y el hombre. Asociado a esto, existen algunos reportes es los cuales se trata de hacer una correlación entre el tipo de vivienda y los porcentajes de colonización (Cerece *et al.*, 2002), sin embargo, en este estudio, el tipo de construcción en ambas localidades es diferente, encontrando viviendas de palma en una y de concreto en la otra, localizando insectos en ambas, por lo que en este caso no existiría una correlación entre el tipo de construcción y la presencia del insecto.

Por otro lado, destaca que los porcentajes de infección natural con *T. cruzi* sean bajos para San Mateo del Mar (2.1%) y altos para Tehuantepec (39.4%). En el caso de Tehuantepec, estos porcentajes son altos comparándolos con los resultados obtenidos: 1) para diferentes especies de triatominos en Oaxaca, por ejemplo Vidal-Acosta y colaboradores (2000) reportaron porcentajes de infección que van del 4.1 al 9.1%; 2) con otras especies en otros estados, para *T. dimidiata* en la península de Yucatán fue de 34% (Dumontiel *et al.*, 2002), para *T. longipennis* en Colima de 33.3% (Espinoza-Gómez *et al.*, 2002); 3) o similares a los reportados para *T. infestans*, principal vector domiciliado en Sudamérica (WHO, 2002; Gurtler *et al.*, 1998). Algunos estudios de carácter epidemiológico han demostrado que en las zonas donde predominan vectores con un comportamiento ornitofílico la prevalencia de la infección con el parásito en humanos, así como las manifestaciones clínicas de la enfermedad tienden a ser mínimas (Calderón-Arguedas *et al.*, 2003), por lo que los bajos porcentajes de infección encontrados en San Mateo del Mar podrían deberse a la presencia de gallinas como fuente de alimento, los cuales se encuentran en todas las casas con triatominos. Se ha descrito que los únicos animales que no se infectan con el parásito son las aves (DaMatta *et al.*, 2000; Teixeira *et al.*, 2006), las cuales podrían estar funcionando como una barrera natural para detener la infección a los humanos; en el caso de Tehuantepec,

en las casas dónde se encontraron a los insectos no existían gallinas, pero si la presencia de otro tipo de animales domésticos como los perros y gatos que son susceptibles a la infección. Resultaría interesante analizar la procedencia de la fuente de alimentación del insecto en ambas comunidades para poder determinar si esto es lo que esta influenciando los bajos porcentajes de infección.

De todos los triatomíneos capturados, la única especie encontrada en estadio adulto así como las ninfas analizadas genéticamente pertenecen a la especie *T. phyllosoma* (Burmeister, 1935). Esta especie ha sido reportada en los estados de Guanajuato, Oaxaca, Nayarit y Jalisco (Lent y Wygodzinsky, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Cortés-Jiménez *et al.*, 1996; Magallón-Gastélum *et al.*, 1998; Vidal-Acosta *et al.*, 2000; Ramsey *et al.*, 2000), sin embargo Zárate y Zárate (1985) consideran que esta especie *sensu stricto* sólo se encuentra en el estado de Oaxaca, datos que se ven correlacionados con la ausencia de reportes de la presencia de esta especie en otros estados de la República. *T. phyllosoma* fue encontrada a nivel del mar (San Mateo del Mar), a 100 metros (Tehuantepec) y a 700 (Tlacolulita), lo que concuerda con lo reportado acerca del intervalo de altitudes para esta especie que va de 0 metros hasta los 1200 m.s.n.m. (Jurberg *et al.*, 1996; Ramsey *et al.*, 2000).

Es interesante destacar que en este trabajo sólo se encontró a esta especie, la cual al parecer se encuentra distribuida de forma limitada aún en el estado de Oaxaca, y al parecer confinada a la región de la costa; datos similares fueron reportados por Ramsey y colaboradores (2000), empleando programas computacionales en los que se tomaron características ambientales para predecir la distribución potencial de la especie en el estado (precipitación, altitud y temperatura); sin embargo la probable distribución de *T. phyllosoma* en Oaxaca también abarca parte de la zona central del estado, las cuales comparten ciertas características ambiental de los lugares de colecta de la especie pero que no se tienen datos de su presencia. Dado que al parecer esta especie esta poco distribuida sería interesante seguir las colectas de campo a lo largo de la costa oaxaqueña y verificar hasta donde llega su distribución hacia el estado de Guerrero.

Los análisis genéticos nos permiten conocer la variación existente entre los individuos de una misma especie y entre especies, así como sus relaciones filogenéticas. Análisis de las variaciones intra-específicas en triatomíneos, empleando al ITS-2 y al CytB como marcadores moleculares son escasos, particularmente con especies mexicanas. Por ejemplo, con el CytB, se analizaron poblaciones de *T. recurva* y *T. rubida* de diferentes comunidades del norte de México y sur de Estados Unidos de Norteamérica, para *T. rubida* se lograron obtener clados que separaban a los individuos distribuidos en México de los del sur de EUA; datos similares fueron obtenidos con la especie *T. recurva* (Pfeiler *et al.*, 2006). Para el ITS-2, se ha analizado poblaciones de *T. dimidiata* del estado de Campeche, logrando diferenciar a los individuos provenientes de zonas selváticas de aquellos que se encuentran en áreas no selváticas (Tamay-Segovia *et al.*, aceptado).

En nuestro análisis, la variación intra-específica observada con el ITS-2, entre las dos poblaciones de triatomíneos (San Mateo del Mar y Tehuantepec) y los ejemplares de Tlacolulita y Salina Cruz no sobrepasan el 1%, lo que correlacionó con la variación esperada para individuos de la misma especie empleando este marcador (Villalobos, 2005; Martínez *et al.*, 2006). En el caso del CytB estas variaciones fueron menores al 4%, resultados que también han sido reportados para este marcador (Martínez *et al.*, 2006). Estos datos, nos indican la poca variación existente entre estas poblaciones, las cuales podrían deberse a la cercanía entre las comunidades, ya que Tehuantepec de San Mateo del Mar se encuentra a aproximadamente 30 km. de distancia, en tanto que de estas a Tlacolulita la distancia es de aproximadamente 80 km. Estos datos podrían correlacionarse con los resultados obtenidos entre individuos de la especie *Panstrongylus rufotuberculatus* de Ecuador y Colombia, en los cuales sólo se encontraron cuatro nucleótidos diferentes: dos mutaciones (una transición A/G y una transversión T/A) y en el tamaño de un microsatélite que corresponden a la inserción de dos bases, el de Ecuador tenía (AT)<sub>5</sub> y el de Colombia (AT)<sub>6</sub>; sin embargo, estas diferencias no son mayores del 1% y no logra separarlas, independientemente que las distancias geográficas sean aún mayores a los de las comunidades analizadas en este estudio (Marcilla *et al.*, 2002).

Cuando se realizó la construcción del filograma para las poblaciones analizadas se utilizaron dos modelos de evolución para poder correlacionar las topologías obtenidas. Los árboles generados con los dos marcadores presentaron la misma topología, es decir, la distribución de los diferentes grupos de especies fueron similares. Se encontró un clado que incluía a todos los individuos analizados genéticamente, los cuales se encontraron relacionados a la especie *T. phyllosoma* (clado *Phyllosoma*), lo cual concuerda con las identificaciones de las ninfas y los adultos, así como con las distancias tan cortas observadas.

En el árbol generado con las secuencias del CytB, el clado *Phyllosoma* se encuentra a su vez dividido en dos clados, uno de ellos se encuentra conformado por seis individuos que representan a todas las comunidades analizadas; el otro clado incluye al resto de ellos; no se encontró alguna relación biológica que pudiera estar separando a los individuos del subclado I del II, como por ejemplo, similitudes en el sitio de colecta, el estadio en el que se encontraron o el tipo de hábitat. El individuo TLAOAX1 es el que se encuentra más alejado del resto de los individuos dentro del clado *Phyllosoma*, éste individuo fue colectado en hábitat silvestre y en una comunidad alejada de las otras, por lo que su posición en el filograma puede reflejar estas diferencias. Sería necesario realizar análisis poblacionales, incluyendo a más individuos de las otras localidades, con el fin de determinar las tasas de migración y el establecimiento de alelos similares en diferentes poblaciones. Por otro lado, dentro de este mismo árbol observamos la presencia de clonas de dos individuos que no se agruparon dentro del clado de la especie *T. phyllosoma*, sino que se encontraron junto a la especie *T. picturata*. Estos resultados son interesantes ya que están reflejando la variabilidad que presenta este marcador; actualmente nuestro grupo de trabajo investiga las causas relacionadas a estas variaciones dentro del CytB.

En el caso del árbol generado con las secuencias del ITS-2 no se encontraron subdivisiones, observándose un solo clado para todos los individuos analizados, siendo este clado al que agrupa a la especie *T. phyllosoma*. Sólo el individuo TEHOAX86 se agrupa con el resto de las especies que integran al complejo *Phyllosoma*; es importante considerar que ya se han realizado análisis de las especies de este complejo empleando

los mismos marcadores utilizados en nuestro análisis, observando que el árbol generado con las secuencias del ITS-2 no logró separar a todas las especies del complejo. Por ejemplo, *T. bassolsae* no se diferencia genéticamente de *T. pallidipennis*, en tanto que *T. phyllosoma* no se separó de *T. mazzotti* (Martínez *et al.*, 2006). Por lo anterior, el individuo TEHOAX86 podría reflejar la cercanía filogenética que presenta este grupo, además de la presencia de la especie *T. mazzotti* dentro del clado donde se encuentran la mayoría de las secuencias analizadas. Se sabe que el tipo de evolución reflejado por el ITS-2 y el CytB es diferente. Se ha descrito que la tasa de mutación de los genes mitocondriales es más alta que la de los genes nucleares (en una proporción de 10 mutaciones por cada una en el núcleo; Brown *et al.*, 1982); siendo más claro el proceso de divergencia en aquellas especies muy relacionadas filogenéticamente. En este caso, sería adecuado analizar estos resultados con otros marcadores moleculares para tratar de tener más herramientas informativas de la evolución no sólo de *T. phyllosoma* sino también del resto de las especies del complejo *Phyllosoma*.

Un aporte importante de este trabajo fue el emplear marcadores moleculares en la identificación de especies en estadios ninfales; como ya se mencionó, no existen claves morfológicas que nos ayuden a diferenciarlas. La identificación de estos estadios es importante, ya que cuando hay especies en simpatría es difícil determinar cuál es la predominante, así como asignar el status de especie, hay que considerar que en muchos reportes de colectas de campo (Vidal-Acosta *et al.*, 2000; Flores, 2001) incluido este, más del 60% de los individuos colectados se encuentran en estos estadios, es por ello que la búsqueda de alternativas para su identificación se hace necesaria. La propuesta de realizar las identificaciones con marcadores moleculares resulta ser una buena alternativa, ya que como observamos en este trabajo, los marcadores empleados dieron una buena resolución en la identificación de especies.

Es importante mencionar que en México se cuentan con pocos estudios poblacionales, por lo que resulta difícil tratar de correlacionar nuestros resultados con otras especies mexicanas; por otro lado, *T. phyllosoma* pertenece al *C. Phyllosoma*, un grupo de especies endémicas del país, a los cuales se ha propuesto considerarlas como

una sola, lo que hace más interesante analizar más poblaciones de esta especie y poder determinar si existen diferencias poblacionales, lo que contribuiría al conocimiento de este importante grupo de especies.

Finalmente, nuestro país alberga una alta diversidad de triatominos, por lo que los estudios enfocados al conocimiento biológico de estos insectos de forma sistemática y localizada son de gran ayuda para poder conocer las distribuciones, el tipo de habitat al que se encuentran relacionados y la relación que establecen con el ambiente humano, con el fin de establecer buenas medidas de control biológico enfocados a cortar la transmisión de *T. cruzi*.

## CONCLUSIONES

---

---

- 1.- Se analizaron cinco comunidades de la región del Istmo de Tehuantepec en busca de triatomíneos, encontrándolos sólo en dos de ellas: San Mateo del Mar y Tehuantepec.
- 2.- La ausencia de triatomíneos en el resto de las comunidades podría deberse a ciertas barreras geográficas o conductuales del insecto que determinan su presencia sólo en zonas silvestres.
- 3.- Bajos porcentajes de colonización fueron encontrados en Tehuantepec y San Mateo del Mar.
- 4.- Altos porcentajes de infección fueron obtenidos en triatomíneos colectados en Tehuantepec, a diferencia de los bajos porcentajes encontrados en San Mateo del Mar.
- 5.- No se logró determinar factores de riesgo generales que pudieran determinar el establecimiento de los triatomíneos en las comunidades.
- 6.- La única especie encontrada en las comunidades analizadas fue *Triatoma phyllosoma*.
- 7.- Empleando marcadores moleculares se logró identificar por primera vez a triatomíneos en estadios ninfales.
- 8.- Existe una gran homogeneidad genética entre los individuos de las poblaciones analizadas.

## **PERSPECTIVAS**

---

---

1. Realizar colectas de campo en la región del Istmo, principalmente a lo largo de la costa oaxaqueña dirigiéndose hacia el estado de Guerrero, con el fin de tratar de delimitar la distribución de la especie *T. phyllosoma*.
2. Evaluar la presencia de triatomíneos en zonas silvestres cercanas a comunidades en donde no se encontraron a estos insectos, para determinar factores involucrados en la restricción de su entrada a las viviendas.
3. Determinar las fuentes de alimento de los triatomíneos para poder correlacionar los bajos porcentajes de infección encontrados en la comunidad de San Mateo del Mar.
4. Realizar estudios poblacionales con la especie *T. phyllosoma* para determinar si existe divergencia entre ellas.
5. Con los resultados de todas las evaluaciones anteriores, proponer medidas de control de estos insectos en las comunidades.

## BIBLIOGRAFÍA

---

---

- Bargues MD. & Mas-Coma S. (1997). Phylogenetic analysis of lymnaeid snails based on 18S rADN sequences. *Mol Biol Evol.* **14**: 569-577.
- Bargues MD., Vigo M., Horak P., Dvorak J., Patzner RA., Pointier JP., Jackiewicz M., Meier-Brook C. & Mas-Coma S. (2001). European Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda), intermediate hosts of trematodiasis, based on nuclear ribosomal ADN ITS-2 sequences. *Infect Genet Evol.* **16**:1-23.
- Bargues MD., Marcilla A., Dujardin JP. & Mas-Coma S. (2002). Triatomine vectors of *Trypanosoma cruzi*: a molecular perspectiva based on nuclear ribosomal ADN markers. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* **96**:159-164.
- Becerril-Flores MA. & Valle-De La Cruz. (2003). Description of chagas disease in the Valle de Iguala, Guerrero State, Mexico. *Gac Med Mex.* **139**: 539-544.
- Becerril-Flores MA., Rangel-Flores E., Imbert-Palafox JL., Gómez-Gómez JV. & Figueroa-Gutiérrez AH. (2007). Human infection and risk of transmission of Chagas disease in Hidalgo State, México. *Am J Trop Med Hyg.* **76**: 318-323.
- Breniere SF., Taveira B., Bosseno MF., Ordoñez R., Lozano-Kasten F., Magallón-Gastélum E., Ouaisi A. & Ramsey J. (2003). Preliminary results of random amplification of polymorphic ADN among Triatominae of the *Phyllosoma* Complex (Hemiptera, Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **98**: 1033-1038.
- Brenière SF., Pietrokovsky S., Gastélum EM., Bosseno MF., Soto MM., Ouaisi A., Kasten FL. & Wisnivesky-Colli C. (2004). Feeding patterns of *Triatoma longipennis* Usinger (Hemiptera, Reduviidae) in peridomestic habitats of a rural community in Jalisco State, Mexico. *J Med Entomol.* **41**: 1015-1020.
- Brenière SF., Bosseno MF., Magallón-Gastelúm E., Castillo-Ruvalcaba EG., Soto-Gutiérrez M., Montaña-Luna EC., Tejada-Basulto J., Mathieu-Daudè F., Walter A. & Lozano-Kasten F. (2007). Peridomestic colonization of *Triatoma longipennis* (Hemiptera, Reduviidae) and *Triatoma barberi* (Hemiptera, Reduviidae) in a rural community with active transmission of *Trypanosoma cruzi* in Jalisco state, Mexico. *Acta Trop.* **101**: 249-257.
- Brown WM., Prager EM., Wang A. & Wilson AC. (1982). Mitochondrial ADN sequences of primates: tempo and mode of evolution. *J Mol Evol.* **18**: 225–239.
- Bustamante DM., Monroy C., Menes M., Rodas A., Salazar-Schettino P.M., Rojas G., Pinto N., Guhl F. & Dujardin J.P. (2004). Metric variation among geografic populations of the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) and related species. *J Med Entomol.* **41**: 296-301.

- Calderón-Arguedas O., Chinchilla M., García F. & Vargas M. (2003). Variaciones biológicas de *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida:Trypanosomatidae) asociadas con la ingestión de diferentes tipos de sangre por el vector *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae). *Parasitol Latinoam.* **58**: 3– 10.
- Carcavallo RU., Jurberg J., Lent H., Noireau F. & Galvão C. (2000). Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). Proposals for taxonomic arrangements. *Entomol vectores.* **7**:1-99.
- Cecere MC., Gurtler RE., Canale DM., Chuit R. & Cohen JE. (2002). Effects of partial housing improvement and insecticida spraying on the reinfestation dynamics of *Triatoma infestans* in rural northwestern Argentina. *Acta Trop.* **84**: 101-116.
- Cohen JM., Wilson ML., Cruz-Celis A. & Ramsey JM. (2006). Infestation by *Triatoma pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) is associated with housing characteristics in rural Mexico. *J Med Entomol.* **43**: 1252-1260.
- Coleman AW. (2003). ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons. *Trends Genet.* **19**: 370-375.
- Cortés-Jiménez M., Noguera-Torres B., Alejandre-Aguilar R., Isita-Tornelli L. & Ramírez-Moreno E. (1996). Frecuency of Triatomines Infected with *Trypanosoma cruzi* Collected in Cuernavaca City, Morelos, Mexico. *Rev Latinoam Microbiol.* **38**: 115-199.
- Cruz-Reyes & Pickering-López (2007). CHAGAMEX: Base de datos. Instituto de Biología, UNAM. [www.ibiologia.unam.mx](http://www.ibiologia.unam.mx)
- DaMatta R., Seabra S., Manhães L. & de Souza W. (2000). Nitric oxide is not involved in the killing of *Trypanosoma cruzi* by chicken macrophages. *Parasitol Res.* **86**: 239-243.
- De La Merced SA. (1987). Chagas' disease vectors. Vol. I, II y III Anatomic and Physiological Aspects, CRC Press Inc. Boca Raton, Florida.
- Dotson EM., & Beard CB. (2001). Sequence and organization of the mitochondrial genome of the Chagas disease vector, *Triatoma dimidiata*. *Insect Mol. Biol.* **10**: 205-215.
- Dumontiel E., Gourbière S., Barrera-Peréz M., Rodríguez-Félix E., Ruiz-Piña H., Baños-Lopez O., Ramirez-Sierra J., Menu F. & Rabinovich JE. (2002). Geographic distribution of *Triatoma dimidiata* and transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* in the Yucatán peninsula of Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* **67**:176-183.
- Dumontiel E. & Gourbiere S. (2004). Predicting *Triatoma dimidiata* abundance and infection rate: a risk map for natural transmission of Chagas disease in the Yucatán peninsula of México. *Am J Trop Med Hyg.* **70**: 514-519.
- Dumontiel E., Tripet F., Ramírez-Sierra J., Payet V., Lanzaro G. & Menu F. (2007). Assessment of *Triatoma dimidiata* dispersal in the Yucatán peninsula of Mexico by morphometry and microsatellite markers. *Am J Trop Med Hyg.* **76**: 930-937.

- Enger K., Ordoñez R., Wilson M. & Ramsey J. (2004). Evaluation of risk factors for rural infestation by *Triatoma pallidipennis* (Hemiptera: Triatominae), a Mexican vector of Chagas disease. *J Med Entomol.* **41**: 760-767.
- Espinoza-Gómez F., Maldonado-Gutiérrez A., Coll-Cardenas R., Hernández-Suárez CM. & Fernández-Salas I. (2002). Presence of triatominae Hemiptera Reduviidae and risk of transmisión of Chagas disease in Colima Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **97**: 25-30.
- Flores, A. 2001. Tesis de maestría. Principales vectores de la Enfermedad de Chagas en el occidente mexicano: Estudios epidemiológicos y genéticos de poblaciones peridomésticas y domésticas. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Flores A., Magallón-Gastélum E., France-Bosseno MF., Ordoñez R., Lozano-Kasten F., Espinoza B., Ramsey J. & Brenière SF. (2001) Isoenzyme variability of five principal triatomine vector species of Chagas disease in Mexico. *Infect Genet Evol.* **1**:21-28.
- Galvão C., Carcavallo R., Da Silva Rocha D. & Jurberg J. (2003). A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution with nomenclatural and taxonomic note. *Zootaxa.* **202**: 1-36.
- García AL., Carrasco HJ., Schofield CJ., Valente SA., Frame IA., Stothard R. & Miles MA. (1998). Random Amplification of Polimorphic ADN as a tool for taxonomic studies of Triatomine bugs (Hemiptera: Reduviidae). *J Med Entomol.* **35**: 38-45.
- García BA., Moriyama EN. & Powell JR. (2001). Mitichondrial ADN sequence of Triatomines (Hemiptera: Reduviidae): phylogenetic Relationships. *J Med Entomol.* **38**:675-683.
- Guarneri AA., Pereira MH. & Diotaiuti L. (2000) Influence of the blood meal source on the development of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma sordida*, and *Triatoma pseudomaculata* (Heteroptera, Reduviidae). *J Med Entomol.* **37**: 373-379.
- Gurtler RE., Cohen JE., Cecere M.C., Lauricella MA., Chuit R., & Segura EL. (1998). Influence of humans and domestic animals on the household prevalence of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma infestans* populations in northwest Argentina. *Am J Trop Med Hyg.* **58**: 748-758.
- Guzmán-Marín E., Barrera-Pérez MA., Rodríguez-Félix ME., Escobedo-Ortegón FJ. & Zavala-Velázquez JE. (1990). Índices entomológicos de *Triatoma dimidiata* en el estado de Yucatán. *Rev Biomed.* **2**: 20-29.
- Guzmán-Bracho C., García-García L., Florián-Verdugo J., Guerrero-Martínez S., Torres-Cosme M., Ramírez-Melgar C. & Velasco-Castrejón O. (1998) Riesgo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre en México. *Rev Panam Salud Publica.* **4**: 94-99.
- Guzmán-Marín E. (1992) Hábitos biológicos de *Triatoma dimidiata* en el estado de Yucatán México. *Rev Biomed.* **3**:125-131.

- Hasegawa M., K. Kishino, T. Yano. (1985). Dating the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial ADN. *J Mol Evol.* **22**:160–174.
- Hypsa V., Tietz D., Zivavy J., Rigo RO., Galvao C. & Jurberg J. (2002) Phylogeny and Biogeography of Triatominae (Hemiptera:Reduviidae): molecular evidence of a New World origin of the Asiatic Clade. *Mol Phylogenet Evol.* **23**:447-457.
- Ingman M. & Gyllensten U. (2001). Analysis of the complete human mtADN genome: methodology and inferences for human evolution. *J Hered.* **92**: 454-461.
- Jiménez ML., Llinas J. & Palacios C. (2003). Infection rates in *Dipetalogaster maximus* (Reduviidae: Triatominae) by *Trypanosoma cruzi* in the Cape region, Baja California Sur, México. *J Med Entomol.* **40**: 18-21.
- Jurberg J., Galvão C., Galindez I., Carcavallo R., Segura C. & Curto de Casas S. (1996) Distribución geográfica y distribución altitudinal de las especies del género *Triatoma* Laporte, 1932 del Norte de América, Centro y Caribe. *Entomol Vector.* **3**: 87-117.
- Kaneda H., Hayashi J., Takahama S., Taya C., Lindahl, K. & Yonekawa H. (1995). Elimination of parental mitochondrial ADN in intraspecific crosses during early mouse embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **92**: 4542-4546.
- Lehmann P., Ordoñez R., Ojeda-Baranda R., Mendez de Lira J., Hidalgo-Sosa L., Monroy C. & Ramsey R.J. (2005). Morphometric analysis of *Triatoma dimidiata* populations (Reduviidae: Triatominae) from Mexico and Northern Guatemala. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **100**: 477-482.
- Lent H. & Wygodzinsky. (1979). Revision of de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) and their significance as vector of Chagas Disease. *Boll Am Museum Natural His.* **163**: 142-520.
- López-Cárdenas J., González-Bravo FE., Salazar-Shettino PM., Gallaga-Solorzano JC., Ramírez-Barba E., Martínez-Méndez J., Sánchez-Cordero V., Peterson AT. & Ramsey JM. (2005). Fine-scales predictions of distributions of Chagas disease vectors in the state of Guanajuato, Mexico. *J Med Entomol.* **42**: 1068-1081.
- Lyman DF., Monteiro FA., Escalante AA., Cordon-Rosales C., Wesson DM., Dujardin JP. & Beard CB. (1999). Mitochondrial ADN sequence variation among triatomine vectors of Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg.* **60**: 377-386.
- Magallón-Gastélum E., Magdaleno-Peñaloza NC., Katthain-Duchateau G., Trujillo-Contreras F., Lozano-Kasten FJ., & Hernández-Gutiérrez R. (1998). Distribución de los vectores de la enfermedad de Chagas (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), en el estado de Jalisco, México. *Rev Biomed.* **9**: 151-157.
- Magallón-Gastélum E., Lozano-Kasten F., Flores-Perez A., Bosseno A. & Brenière F. (2001). Sylvatic triatominae of the Phyllosoma complex Hemiptera: Reduviidae around the community of Carrillo Puerto Nayarit Mexico. *J Med Entomol.* **38**: 638-340.

- Magallón-Gastélum E., Lozano-Kasten F., Soto-Gutiérrez M., Flores-Pérez A., Sánchez B., Espinoza B., Bosseno MF. & Brenière SF. (2006). Epidemiological risk for *Trypanosoma cruzi* transmission by species of *Phyllosoma* complex in the occidental part of Mexico. *Acta Trop.* **97**: 331-338.
- Marcilla A., Bargues MD., Ramsey J., Magallon-Gastelum E., Salazar-Schettino PM., Abad-Franch F., Dujardin JP., Schofield CJ. & Mas-Coma S. (2001) The ITS-2 of the Nuclear rADN as a Molecular Marker for Populations, Specie, and Phylogenetic Relationships in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), Vectors of Chagas disease. *Mol Phylogenet Evol.* **18**: 136-142.
- Marcilla A., Bargues MD., Abad-Franch F., Panzera F., Carcavallo RU., Noireau F., Galvão C., Jurberg J., Miles MA., Dujardin JP. & Mas-Coma S. (2002). Nuclear rADN ITS-2 sequences reveal polyphyly of *Panstrongylus* species (Hemiptera:Reduviidae: Triatominae), vectors of *Trypanosoma cruzi*. *Infect Genet Evol.* **1**:225-235.
- Martínez A., Carcavallo RU. & Jurberg J. (1994). *Triatoma gomeznunezi* a new species of Triatomini from Mexico (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae). *Entomol Vector.* **1**: 15-19.
- Martínez HF. (2003). Tesis de Licenciatura. Caracterización de la Diversidad Genética de Insectos Transmisores de la Enfermedad de Chagas en México. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Martínez F., Villalobos G., Cevallos A.M., de la Torre P. Laclette J.P., Alejandre-Aguilar R. & Espinoza B. (2006). Taxonomic study of the *Phyllosoma* complex and other triatomine (Insecta: Hemiptera: Reduviidae) species of epidemiological importance in the transmission of Chagas disease: using ITS-2 and mtCytB sequences. *Mol Phylogenet Evol.* **41**:279-287.
- Martínez-Ibarra JA., Bárcenas-Ortega NM., Noguera-Torres B., Alejandre-Aguilar R., Lino Rodríguez M. Magallón-Gastélum E. López-Martínez V., Romero-Nápoles J. (2001). Role of two *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) species in the transmission of *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) to man in the west coast of Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **96**:141-144.
- Martínez-Ibarra JA., Novelo-López M., Hernández-Robles M. R. & Grant-Guillén Y. (2003a). Influence of the blood meal source on the biology of *Meccus picturatus* Usinger 1939 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **98**: 227-232.
- Martínez-Ibarra JA., Grant-Guillén Y. & Martínez-Grant DM. (2003b). Feeding, Defecation, and Development Times of *Meccus longipennis* Usinger, 1939 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under Laboratory Conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **98**: 899-903.
- Mazzotti L. (1940). Triatomideos de México y su infección natural por *Trypanosoma cruzi* Chagas. *Rev Med Mex.* **20**: 95-109.
- Mazzotti L. & Días E. (1940). Resumen de los datos publicados sobre la enfermedad de Chagas en Mexico. *Rev Soc Mex Hist Nat.* **10**: 103-111.

- Miles MA., Feliciangeli AD. & Rojas de Arias A. (2003). American tripanosomiasis (Chagas' disease) and the role of molecular epidemiology in guiding control strategies. *BMJ*. **326**: 1444-1448.
- Moffitt JE., Venarske D., Goddard J., Yates AB. & deShazo RD. 2003. Allergic reactions to *Triatoma* bites. *Ann Allergy Asthma Immunol*. **91**: 122-128.
- Monteiro FA., Escalante AA. & Beard CB. (2001). Molecular tools and triatomine systematics: a public health perspective. *Trends Parasitol*. **17**: 344-347.
- Monteiro FA., Donnelly M., Beard C. & Costa J. (2004). Nested clade and phylogeographic analyses of the Chagas disease vector *Triatoma brasiliensis* in Northeast Brazil. *Mol Phylogenet Evol*. **32**: 46-56.
- Moreno-López R., Sánchez P.L., Muñoz J. L., Monteón V. & Reyes L.P. (2001). Cardiología chagásica en Tehuantepec. Informe preliminar. *Arch Cardiol Mex*. **71**: 43-49.
- Oliveira, FAM. (1997). Uso de nuevas herramientas para el control de triatomines en diferentes situaciones entomológicas en el continente americano. *Rev Soc Bras Med Trop*. **30**: 41-46.
- Page, RDM. (1996). An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput Appl Biosci*. **12**. 357-358
- Paredes GEA., Valdez-Miranda J., Noguera-Torres B., Alexandre-Aguilar R. & Canett-Romero R. (2001). Vectorial importance of Triatominae bugs (Hemiptera: Reduviidae) in Guaymas, México. *Rev Latinoam Microbiol*. **43**: 119-122.
- Pfeiler E., Bitler BG., Ramsey JM., Palacios-Cardiel C. & Markow TA. (2006). Genetic variation population structure and phylogenetic relationships of *Triatoma rubida* and *Triatoma recurva* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from the Sonoran Desert, insect vectors of the Chagas' disease parasite *Trypanosoma cruzi*. *Mol Phyllo Evol*. **41**: 435-446.
- Pinzón Cantarell JR., Quintal Áviles R. & Zavala Velásquez. (1976). La Enfermedad de Chagas en el Estado de Yucatán, México. *Salud Publica Mex*. **18**: 999-1003.
- Posada D. & Crandall KA. 1998. Modeltest: testing the model of ADN substitution. *Bioinformatics*. **14**: 817-818.
- Ramsey JM., Ordoñez R., Cruz-Celis A., Alvear AL., Chávez V., López R., Pintor JR., Gama F. & Carrillo S. (2000). Distribution of domestic Triatominae and stratification of Chagas Disease transmisión in Oaxaca, Mexico. *Med Vet Entomol*. **14**: 19-30.
- Ramsey JM., Alvear AL., Ordoñez R., Muñoz G., García A., López R. & Leyva R. (2005). Risk factors associated with house infestation by the Chagas disease vector *Triatoma pallidipennis* in Cuernavaca metropolitan area, Mexico. *Med Vet Entomol*. **19**: 219-228.
- Rodríguez-Sánchez M., Alexandre-Aguilar R., Noguera-Torres B., Camacho A.D. & Martin-Frias E. (2003). Development of genital plates in nymphs of *Triatoma pallidipennis*, Stal 1872, (Hemiptera: Reduviidae) and its application as sexing method. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **98**: 777-782.

- Ronquis F. & Huelsenbeck JP. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. **19**: 1572-1574.
- Ryckman RE. (1984). The Triatominae of north an central America and west indies. A checklist with synonymy (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Bull Soc Vec Ecol*. **11**: 209-220.
- Sambrook J., Fritsch EF. & Maniatis T. (1989) Molecular Cloning: A laboratory manual. 2<sup>nd</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory press. Cold Spring Harbor, NY.
- Segura EL., Escobar-Mesa A. Grupo de estudios sobre la Enfermedad de Chagas. (2005). Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en el Estado de Veracruz. *Salud Publica Mex*. **47**: 201-208.
- Sanmartino M. & Crocco L. (2000). Conocimientos sobre la Enfermedad deChagas y factores de riesgo en comunidades epidemiológicamente diferentes en Argentina. *Rev Panam Salud Publica*.**7**: 173-178.
- Schofield CJ. (1984). House design and domestic vectors of disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg* . **78**:285-292.
- Schofield CJ. (1985). Control of Chagas´disease vectors. *Br Med Bull*. **41**: 187-194.
- Schofield CJ. (1994). Triatominae: Biología y control. Eurommunica Publications. Uruguay, Montevideo.
- Schofield CJ., Jannin J. & Salvatella R. (2006). The future of Chagas disease control. *Trends Parasitol*. **22**: 583-588.
- Stothard JR., Yamamoto Y., Cherchi A., García AL., Valente SAS., Schofield CJ. & Miles MA. (1998). A preliminary survey of mitochondrial sequence variation in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) using polymerase chain reaction-based single strand conformational polymorphism (SSCP) analysis and direct sequencing. *Bull Entomol Res*. **88**: 553-560.
- Sutovsky P., Moreno R., Ramalho-Santos J., Dominko T., Simerly C. & Schatten G. (1999). Ubiquitin tag for sperm Mitochondria. *Nature*. **402**: 371-372.
- Swofford L. (2001). PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony, version 4.0b10. Computer program distributed by the Smithsonian Institution, Sinauer, Sunderland, MA.
- Tamay-Segovia P., Alejandr -Aguilar R., Martínez F., Villalobos G., Zavala-Días de la Serna F., De la Torre P., Lacleste JP., Blum-Dominguez & Espinoza B. (2008). *Am J Trop Med Hyg* (aceptado).
- Tamura K. & Nei M. (1993). Estimation of the number of nucleotide subdtitutions. *Mol Biol Evol*. **10**:512-526.
- Tay J. (1969). Localidades nuevas de triatominos mexicanos y su infección natural con *Trypanosoma cruzi*. *Rev Med Mex*. **49**: 35-43.

- Teixeira A., Nascimento R. & Sturm N. (2006). Evolution and pathology in Chagas disease-A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **101**: 463-491.
- Tyler KM. & Engman DM. (2001). The cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. *Int J Parasitol.* **31**: 472-481.
- Vidal-Acosta V., Ibáñez-Bernal S. & Martínez-Campo C. (2000) Infección natural de chinches Triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud Pública de Mex.* **42**:496-503.
- Villalobos, G. (2005). Tesis de licenciatura. Análisis filogenético de especies de triatomos (Hemiptera: Reduviidae) presentes en México. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Walter A., Lozano-Kasten F., Bosseno MF., Ruvalcaba EG., Gutiérrez MS., Luna CE., Baunaure F., Phélinas P., Magallón-Gastélum & Brenière SF. (2007). Peridomiciliary habitat and risk factors for *Triatoma* infestation in a rural community of the Mexican occident. *Am J Trop Med Hyg.* **76**: 508-515.
- Wincker P., Britto C., Borges Pereira J., Cardoso MA., Oelemann W. & Morel MC. (1994). Use of simplified polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients in a rural endemic area. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **51**: 771-777.
- World Health Organization (2002). Control Of Chagas Disease. Second report of the WHO Expert Committee, Geneva.
- Zárate L. & Zárate RJ. (1985). A checklist of the triatominae (Hemiptera: Reduviidae) of Mexico. *Int J Entomol.* **27**: 102-127.

## ANEXOS

---

---

ANEXO 1. Cuestionario aplicado a los habitantes de las comunidades analizadas.

### CHAGAS CAP, ENCUESTA POBLACIONAL

Número Identificación: I\_ \_I I\_ \_I \_I \_I

\*\*\*\*\*

Entrevistador : .....

Traductor: .....

1. Localidad : \_\_\_\_\_

2. Fecha de la Entrevista : \_\_\_\_\_

3. Hora de comenzar : \_\_\_\_\_

4. Hora de terminar : \_\_\_\_\_

5. Resultado de entrevista :  Completa  Incompleta

\*\*\*\*\*

#### INFORMACIÓN GENERAL

6. Edad : I\_ \_I \_I \_I  N/C  N/S

7. Sexo :  Masculino  Femenino

8. Ha vivido aquí su familia durante los últimos 10 años?

No  Si  N/C  N/S

\*\*\*\*\*

#### NIVEL DE PREPARACIÓN Y EDUCACIÓN :

9. Idiomas que habla 9.Español  No  Si

9.Otro  No  Si

10. Capacidad para lectura  No lee  Si lee  N/C  N/S

10. Español  No  Si

10. Otro  No  Si

11. Educación  Ninguna

Primaria  Incompleta  Completa

Secundaria  Incompleta  Completa

Preparatoria/ carrera técnica  Incompleta  Completa

Universidad  Incompleta  Completa

\*\*\*\*\*

**CONDICIONES DE VIDA Y VIVIENDA :**

- 12. Personas viviendo en la casa  N/C  N/S
- 13. Menores de 13  N/C  N/S
- 14. Fuente de electricidad :  No  Si  N/C  N/S
- 15. Fuente de agua :  Río  Pozo  Recolección agua lluvia  
 Agua entubada  N/C  N/S

**16. En ocasiones, ¿alguien de la casa duerme en el monte?**

- No  Si  N/C  N/S

\*\*\*\*\*

**CONTACTO CON ANIMALES DOMÉSTICOS O SILVESTRES :**

**17. ¿Cuáles de los siguientes animales tienen ustedes? :**

Gatos	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S	Ovejas	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S
Perros	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S	Puercos	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S
Cabras	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S	Conejos	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S
Vacas	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S	Caballos	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S
Gallinas	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S					

Otros: \_\_\_\_\_

(\*\*Si no tiene animales domésticos pase a la 19)

**18. ¿Entran algunos de estos animales a la casa?**

- No  Si  N/C  N/S

**19. Ha visto usted los siguientes animales alrededor de la casa?**

Tlacuache	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S
Murciélagos	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S
Jabalí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S
Rata, ratón	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> N/C	<input type="checkbox"/> N/S

19 Otros: \_\_\_\_\_

\*\*\*\*\*

**TRIATOMINOS /CHINCHES:**

**20. ¿Hay chinches holiconas/besuconas en su casa ?**

(muestre la tarjeta con los insectos)

- No
- Si, pero identifica la chinche incorrecta
- Si, identifica la chinche correcta

**21. ¿Cuándo vio la chinche por última vez?**

- Nunca (*Pase a la 24*)
- En las últimas 24 horas
- No en las últimas 24 horas pero si en los últimos 7 días
- No en los últimos 7 días pero si en los últimos 30 días
- No en los últimos 30 días pero si en el último año
- Desde hace más de 1 año
- N/C (*Pase a la 24*)
- N/S (*Pase a la 24*)

**22. ¿En donde la vió? \_\_\_\_\_**

**23. ¿Ha tratado usted de eliminar las chinches?**

- No (*especificar abajo, en el cuadro correspondiente*)

**23. Anotar por qué no se ha tomado una acción para eliminar a la chinche**

.....  
.....  
.....  
.....

- Si (*especificar abajo, en el cuadro correspondiente*)

**23. Descripción de método utilizado para eliminar la chinche:**

.....  
.....  
.....  
.....

**24. ¿Ha sido usted picado por la chinche?**

- No, nunca
- Si, algunas veces
- Si, frecuentemente
- N/C
- N/S

**25. ¿Conoce usted alguna manera de evitar que la chinche le pique ?**

- No,
- Si, especifique: \_\_\_\_\_

**26. ¿Ha recibido usted información/mensajes acerca de la chinche ?**

- No (*Pase a la 29*)
- Si
- N/C
- N/S

**27. ¿Puede usted especificar de donde obtuvo usted esta información/mensajes?**

- Televisión
- Radio
- Comunidad, familiares
- Asistente de salud
- Clínica rural
- Personal de control de vectores

**28. ¿Qué recuerda de esa información/mensajes?**

**29. ¿Ha sido fumigada su casa?**

No, (*Pase a 30*)     Si,             N/C             N/S

**¿Hace cuánto?** .....

**¿Quién fumigó?**.....

\*\*\*\*\*

**SÍNTOMAS**

**30. ¿Ha presentado usted o un@ de l@s niñ@s esta lesión? (mostrar foto Chagoma)**

No     Si     N/C             N/S

**31. ¿Ha presentado usted o un@ de l@s niñ@s esta lesión? (mostrar foto signo Romana)**

No     Si     N/C             N/S

\*\*\*\*\*

**SECCIÓN SOBRE CHAGAS :**

**32. ¿Ha escuchado usted sobre la enfermedad de Chagas ?**

No     Si             N/C             N/S

**33. Actualmente ¿hay personas infectadas con Chagas:**

**En su comunidad?**  No,     Si     N/C             N/S

**En Oaxaca?**     No,     Si     N/C             N/S

**En México?**     No,     Si     N/C             N/S

**34. ¿Piensa usted que la enfermedad de Chagas es un problema serio?**

No muy serio     Muy serio     N/C             N/S

**35. Cree usted que la enfermedad de Chagas es curable ?**

No             Si             N/C             N/S

\*\*\*\*\*

**SECCIÓN DE OBSERVACIÓN :**

**(Entrevistador/a: Agradezca la atención y dé por terminada la entrevista. Continúe con la observación)**

**36. Condiciones generales de higiene/saneamiento:**

**37. Tipo de piso :**     Tierra         Concreto     Baldosa     Madera  
 Otro: \_\_\_\_\_

**38. Tipo de techo:**     Palma         Concreto     Baldosa     Madera  
 Metal         Otro: \_\_\_\_\_

**39. Tipo de pared :**     Cañas/palos trenzados                     Madera  
 Adobe resane **completo**     Adobe resane **incompleto**  
 Bloque/ladrillo resane **completo**     Bloque/ladrillo resane **incompleto**  
 Otro: \_\_\_\_\_

**40. Condición de marcos (ventanas y puertas):**     Buena, sin grietas  
 Mala, con grietas o roto

ANEXO 2. Lista de reactivos utilizados en la extracción de ADN y la clonación.

Reactivo	Proveedor	No. de Catalogo
100 bp ADN ladder	Gibco	15628-019
Acetato de sodio	Sigma	S-2889
Acido acético	J.T. Baker	9507-05
Agarosa	Life Technologies	0937
Alcohol etílico	Sigma	E702-3
Cloroformo	Sigma	C-2432
Cloruro de sodio	Sigma	S-9888
EDTA	Gibco	808270
Fenol	Sigma	P-4557
Fenol/clorofotmo/alcohol isoamílico	Sigma	P-2069
Proteinasa K	Sigma	P-8044
Ribonucleasa A	Sigma	R-6513
SDS	Gibco	15525-017
Agar	Sigma	A-6686
Desoxinucleotidos dNTPs	Boeheringer mannem	1277049
EcoRI	Invitrogen	15202-013
QIAprep Spin Miniprep Kit	QIAGEN	27104
TA cloning Kit	Invitrogen	K2040-40
Taq polimerasa y buffer 10X	Perkin Elmer	N808-0010
Triptona	Sigma	T-9410
X-Gal	Sigma	B-4252
Yeast Extract	Sigma	Y-1625