



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

Ecología

Dinámica temporal del parásito *Trypanosoma cruzi* en reservorios potenciales de  
la región de los Tuxtlas, Veracruz

# TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**DIANA KARINA VILLA MEZA**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Víctor Manuel Guillermo Sánchez Cordero Dávila**  
Instituto de Biología, UNAM

**COMITÉ TUTOR: Dra. Bertha Josefina Espinoza Gutiérrez**  
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

**Dr. Gerardo Suzán Azpiri**  
Facultad de Medicinas Veterinaria, UNAM

C.d. Mx

**ABRIL, 2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

Ecología

**Dinámica temporal del parásito *Trypanosoma cruzi* en reservorios potenciales de  
la región de los Tuxtlas, Veracruz**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**DIANA KARINA VILLA MEZA**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Víctor Manuel Guillermo Sánchez Cordero Dávila**  
Instituto de Biología, UNAM

**COMITÉ TUTOR: Dra. Bertha Josefina Espinoza Gutiérrez**  
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

**Dr. Gerardo Suzán Azpiri**  
Facultad de Medicinas Veterinaria, UNAM

**MÉXICO, C.d. Mx      ABRIL, 2017**



Lic. Ivonne Ramírez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 31 de octubre de 2016, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **VILLA MEZA DIANA KARINA** con número de cuenta **304868180** con la tesis titulada **“Dinámica temporal del parásito *Trypanosoma cruzi* en reservorios potenciales de la región de los Tuxtlas, Veracruz”**, realizada bajo la dirección del **DR. VÍCTOR MANUEL G. SÁNCHEZ CORDERO DÁVILA**:

Presidente: DRA. MARÍA DEL CARMEN GUZMÁN CORNEJO  
Vocal: DR. GABRIEL GUTIÉRREZ GRANADOS  
Secretario: DRA. BERTHA JOSEFINA ESPINOZA GUTIÉRREZ  
Suplente: DR. JOSÉ JUAN FLORES MARTÍNEZ  
Suplente: DR. GERARDO SÚZAN AZPIRI

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”  
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 8 de marzo de 2017.

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA  
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM por permitirme realizar mis estudios de maestría, es un honor pertenecer a uno de los posgrados con mayor renombre en el área de investigación. Al CONACYT por haberme otorgado la beca de estudios de posgrado para poder realizar la maestría en Ciencias Biológicas y el apoyo de beca mixta para realizar la estancia de investigación en el IRD Montpellier, Francia. A DGAPA-Papiit con el proyecto IN209314: "Análisis de la Dinámica y prevalencia de tres zoonosis emergentes en mamíferos pequeños silvestres en condiciones ambientales contrastantes", por el financiamiento para realizar los muestreos y los ensayos de laboratorio. A PAEP por otorgarme los apoyos para realizar la estancia de investigación en el IRD Montpellier, Francia y además el apoyo para asistir a la conferencia EEID en la Universidad de Cornell Ithaca, NY. A mi tutor el Dr. Víctor Manuel G. Sánchez Cordero Dávila y a los miembros de mi comité tutorial, la Dra. Bertha Josefina Espinoza Gutiérrez y el Dr. Gerardo Suzán Azpiri, por sus valiosas aportaciones y comentarios durante el proceso de esta investigación y el proceso académico.

## **AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL**

***Durante la maestría aprendí más cosas de las que pude imaginar y representa una de las mejores etapas de mi vida, tanto académica como personalmente. Todo comenzó con la idea de estudiar mamíferos, posteriormente quise conocer más sobre las interacciones ecológicas y terminé entendiendo que necesitaba un campo lo suficientemente amplio para cubrir todas mis inquietudes académicas. Es así como surgió esta tesis, mis primeros pasos en la Ecología de las enfermedades y ella no hubiera sido posible sin la ayuda de todos ustedes. De verdad, gracias.***

A mi familia por ese apoyo incondicional, por acompañarme en mi proceso de formación. Gracias por amar y apoyar a la niña rara que decidió estudiar Biología y por estar siempre a mi lado. Con ustedes siempre existirá la locura compartida.

A mi tutor, el Dr. Sánchez Cordero, gracias doc por siempre escucharme y darme todos los consejos académicos durante este proceso. Gracias por la oportunidad de formar parte de su equipo y por toda la confianza brindada.

A mi comité tutor: a la Dra. Bertha Espinoza, de verdad mil gracias por adoptarme en tu laboratorio y tenerme tanta paciencia para enseñarme las técnicas de laboratorio; al Dr. Gerardo Suzán, gracias por enseñarme el camino hacia la ecología de enfermedades y también por todo tu apoyo para realizar la estancia en el IRD.

A mi comité sinodal: Dra. María del Carmen Guzman Cornejo, Dr. Jose Juan Flores Martínez y Dr. Gabriel Gutiérrez Granados, por sus valiosos comentarios. Su aporte fue el sello necesario para esta investigación.

A mis tres profesores para poder realizar todos los métodos de esta tesis. Al Dr. Angel Rodríguez Moreno, gracias por todo el apoyo en campo, por regañarme, por enseñarme cómo capturar murciélagos pero sobretodo gracias por ser mi amigo. Al Dr. Gabriel Gutierrez Granados que además de mentor se convirtió en mi sinodal; gracias por todas las discusiones académicas, por tener esa increíble confianza en mí y pues por ser mi amigo y colega. Al M. en C. Ignacio Martínez, gracias infinitas por toda la asesoría en un área donde era totalmente inexperta y al igual que a la Dra. Bertha, te agradezco por adoptarme en su laboratorio.

I would like to thank to Dr. Benjamin Roche, he was a key piece for this master research. He taught me how to understand diseases in a different way, He taught me all the mathematical models and process I could use in this thesis. Benjamin, thank you for being such a great advisor, for being so kind to me and for receiving me at the IRD. This work wouldn't have been completed with out your help. I thank to the IRD at Montpellier, France for letting me stay during two months and for making possible the academic interchange. This research internship was one of the most amazing experiences I have ever lived.

Agradezco a Joselin Díaz, alumna del laboratorio de Inmunología. Por aportar datos importantes a esta tesis. Gracias a éste aporte pude robustecer los modelos, muchas gracias por el apoyo.

Well, I would like to thank Alexandra, Mäel, Mine, Camille, Susy and Tatiana. You were my best friends at France. You encouraged me to be brave and to keep dreaming. Je vous embrasse bien fort.

A tres personas que han sido mi apoyo incondicional en este ultimo proceso. Xan cada etapa que he pasado contigo es increíble y diferente, siempre estás ahí conmigo; mil gracias por ser mi Xanato, escucharme, reírte conmigo, por aconsejarme y por todas esas bromas locales; de aquí al por siempre contarás conmigo. Martín, mi chino divino no sé que haría sin un amigo como tú, me conoces perfecto y aún así te atreves a ser mi amigo; gracias por quereme y por darme el abrazo que siempre me levanta; te quiero con todo mi yo Chinito. April, te has vuelto en uno de mis apoyos principales y sabes perfecto lo que quiero estoy pensanso con sólo verme; nunca dejaré de agradecerte por escucharme y estar ahí en los S.O.S., es increíble conocer a alguien que te entiende tanto: sometimes you just need someone to Lean on.

A mis sensei de vida (ya de tiempo o recientemente adquiridos) y que han impulsado mis metas más allá de lo que yo podía imaginar. Irene Pisanty, no tengo palabras para expresar lo mucho que significa que seas mi amiga, gracias por todos esos cafés, por ser mi amiga, mi mamá académica y hasta el paño de lágrimas que uno require de vez en cuando, besitos de colores dirías tú. A la Dra. Rosa María Chairez, usted me enseñó todo lo fuerte que puede ser una mujer y todo lo que soy capaz de hacer; estoy eternamente agradecida con usted. Tatiana Sotres, llegaste a enseñarme tantas cosas y ha vivir cambios, no sabes qué feliz soy de compartirlos contigo y Charro (al cual le agradezco por desvelarse conmigo durante la tesis); ustedes dos han traído una inmensa felicidad, gracias por todos los consejos y regaños. Isaac Soria (ni modo te tocó un poco de cursilería), creo que no pude pedir tener un mejor primer jefe y

así como te digo siempre: eres el hermano mayor que nunca pedí; gracias por confiar en mi trabajo, por el apoyo inmenso, por los consejos de vida y sobre todo por volverte en tan poco tiempo un gran amigo.

A los amigos que tienen poco tiempo de estar o llevan toda una vida conmigo pero siempre están apoyandome: Tona, Elisa, Pato, Sokani, Hibra, Pablo, Pps, Víctor, Vuszi y Guaso. Ustedes son de esas personas dignas de admirarse y que agradezco estén conmigo en las buenas y malas.

A mi grupo de Chagologos favoritos: Paus, Gen, Cristi, Edgarín, Estebi, Andre y Karlita. Me volvieron parte de su grupo y de sus locuras. Me enseñaron desde cómo usar una pipeta hasta el valor de un amigo. Se volvieron parte de mi vida diaria y de mis locuras. Gracias por siempre hacerme sentir parte del equipo.

A mis nuevos amigos, mis queridos Imesianos: Monse, Mich, Alex, Gen, Eri, y Naha. Ya sé que es muy poco tiempo de conocernos pero debemos recordar que en Ims se viven años perro y el ambiente laboral es increíble gracias a ustedes. Se han vuelto mis confidentes, mis compañeros de parrandas, mis amigos. Trabajar con ustedes es lo mejor que le puede pasar a una neófito laboral como yo; es increíble trabajar con personas tan inteligentes, tan divertidas y sobre todo que saben apoyarte. Sí, lo dire: los quiero.

A los colegas y amigos del laboratorio de Sistemas de Información Geográfica: Ruben, Angie, Lázaro, Alex, Levinn y Maira. Fueron una parte muy importante durante la maestría, gracias por todo el apoyo.

## DEDICATORIA

*Durante esta etapa mi familia fue mis más grande apoyo, ellos vivieron esta tesis tanto como yo. A la familia más loca, divertida y linda (y agradezco que no sea de otra forma): Gracias Meza-Lamas.*

*A mi mamá, Yola. Gracias por ser la mejor amiga, confidente y cómplice y por haberme acompañado en mi locura de volverme investigadora. Me has enseñado a ser atrevida, persistente, preguntona y a nunca callarme pero sobre todas las cosas me has enseñado a ser fuerte. Tú eres el más grande ejemplo a seguir, eres la fortaleza e inteligencia personificada y aunado a ello siempre lo haces todo con esa gran sonrisa. Ma, has intentado darme la mejor vida posible y aquí te puedo decir que rebasaste cualquier expectativa que un hijo podría tener ¿Cuántas personas pueden decir que no cambiarían absolutamente nada de su vida? Mil gracias por darme todas las herramientas para llegar al día de hoy, te amo ma. Y te prometo que siempre, siempre haré las cosas como me has enseñado, con esa alegría por vivir y esas ganas de luchar por lo que quieres conseguir.*

*A mis abues Aurora y Daniel, los viejitos más padres. La admiración por ustedes sólo crece día con día; su cariño y sabiduría ha sido indispensable durante este proceso. Sus palabras siempre inyectan fuerza y valor. Ustedes me han enseñado que el ser persistente siempre rinde frutos y también que jamás debes darte por vencida. Cuando sea grande quiero ser como ustedes, quiero lograr tener al menos la mitad de sabiduría y tranquilidad que ustedes han logrado. Gracias por escucharme y apapacharme, los amo infinitamente.*

*A mis tías Lety y Tony, que son mis otras mamás. Me han visto crecer y de verdad gracias a ustedes he podido llegar a donde estoy. Su apoyo siempre ha sido uno de mis motivos para echarle ganas. Gracias por enseñarme a levantarme y caminar, por acompañarme en este viaje y estar ahí para cuando lo he necesitado, ya sea desde un consejo hasta una larga plática.*

*A mis primos Sam, Dani, Brenda y Pau. Nadie entiende lo que es tener primos hermanos como ustedes, son mis hermanitos y compañeros de risas. Gracias por pintar una sonrisa en mí cuando hacía falta y gracias por aguantar las rachas donde me pongo a hablar de ciencia. Todos los días aprendo cosas de ustedes y siempre los voy a admirar “enanos”.*

*A mis tíos Oscar y Laura, no tengo palabras para agradecer todo lo que hicieron por mí. Me ofrecieron un lugar en su casa y siempre han tenido un espacio para mí. Ustedes definitivamente hicieron que mi último año de maestría fuera maravilloso. Gracias por cuidarme, quererme tanto y por esa calidez y alegría que siempre está ahí.*

*A mis tíos Dani y Norma, gracias por todas las risas y por ofrecerme tanto cariño. Agradezco todas las palabras de aliento que me dieron cuando se necesitaban. Ustedes siempre logran que me sienta tranquila y segura; y sobretodo me hacen ver que el tiempo es increíble y la vida siempre pinta mejor de lo que uno cree.*



*“Nothing in life is to be feared, it is only to be understood. Now is the time to understand more, so that we may fear less”.*

*-Marie Curie-*

## INDICE

<b>1</b>	<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>7</b>
4.1	Tripanosomiasis americana y el <i>Trypanosoma cruzi</i> : historia y epidemiología .....	7
4.2	Biología de <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	9
4.3	Vectores .....	12
4.3.1	Reservorios.....	12
4.4	Relaciones ecológicas hospedero – parásito.....	14
4.5	Modelos SIR: Dinámica de infección.....	16
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS E HIPÓTESIS ECOLÓGICA</b> .....	<b>19</b>
5.1	Objetivo general .....	19
5.2	Objetivos particulares .....	19
5.3	Hipótesis ecológica .....	19
<b>6</b>	<b>MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
6.1	Sitio de estudio .....	20
6.2	Colecta de organismos .....	21
6.2.1	Roedores .....	21
6.2.2	Murciélagos.....	21
6.2.3	Obtención de tejidos.....	21
6.3	Identificación de la presencia de <i>T. cruzi</i> mediante la evaluación de sangre por serología y de tejidos por métodos moleculares (PCR) .....	22
6.3.1	Murciélagos control .....	22
6.3.2	Ensayos de ELISA .....	24
6.3.3	Ensayos de Western Blot (WB).....	24
6.3.4	Extracción de ADN y PCR.....	24
6.4	Análisis estadístico.....	27
6.4.1	Evaluación de colectas y prevalencias.....	27
6.4.2	Evaluación de la dinámica temporal .....	27

6.5	Modelos de dinámica de enfermedades.....	31
<b>7</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
7.1	Organismos capturados .....	35
7.2	Análisis serológico .....	37
7.2.1	Ensayos de ELISA .....	37
7.2.2	Ensayos de Western Blot.....	41
7.2.3	Prevalencias por serología .....	42
7.4	Análisis Molecular.....	45
7.4.1	Identificación de la presencia de <i>Trypanosoma cruzi</i> por medio de PCR.....	45
7.5	Dinámicas Temporales.....	48
7.5.1	Abundancia individuos contra prevalencia de <i>T. cruzi</i> .....	48
7.5.2	Abundancia relativa de triatominos Vs Prevalencia de <i>T. cruzi</i> en reservorios potenciales ..	51
7.5.3	Abundancia relativa de reservorios potenciales Vs Prevalencia de <i>T. cruzi</i> en triatominos.	53
7.5.4	Prevalencia de <i>T. cruzi</i> en triatominos Vs Prevalencia de <i>T. cruzi</i> en reservorios potenciales	55
7.6	Ajuste del modelo SI para la transmisión de <i>Trypanosoma cruzi</i> en reservorios potenciales....	57
<b>8</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>62</b>
8.1	Identificación de <i>T. cruzi</i> en reservorios potenciales.....	62
8.1.1	Abundancia y diversidad de roedores y quirópteros .....	62
8.1.2	Los métodos para la detección de <i>T. cruzi</i> y su prevalencia.....	62
8.2	Dinámica temporal de la prevalencia de <i>T. cruzi</i> , el vector <i>Triatoma dimidiata</i> y los reservorios potenciales Chiroptera y Rodentia.....	65
8.2.1	Patrones de variación temporal .....	65
8.2.2	Interacción temporal entre organismos infectados y no infectados del mismo orden .....	65
8.2.3	Interacción temporal entre organismos infectados y no infectados de diferente orden .....	66
8.3	Modelo teórico de la transmisión silvestre de <i>T. cruzi</i> .....	68
<b>9</b>	<b>CONCLUSIÓN .....</b>	<b>70</b>
<b>10</b>	<b>PERSPECTIVAS .....</b>	<b>70</b>
<b>11</b>	<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>71</b>

## 1 RESUMEN

La tripanosomiasis americana (también conocida como enfermedad de Chagas) es una enfermedad infecciosa transmitida por vector se considera endémica de América, pero durante los últimos años se han registrado casos donde antes no existían: en Europa, Japón y Australia. Si esta enfermedad no se detecta en etapa temprana, puede causar un severo daño a diversos órganos e incluso provocar la muerte. El agente etiológico de la enfermedad es un protozooario llamado *Trypanosoma cruzi*. El ciclo común de transmisión del parásito depende de dos entidades ecológicas: vectores y reservorios. El vector es una chinche hematófaga de hábitos alimenticios generalistas. Una gran cantidad de mamíferos pueden actuar como reservorios potenciales. Existen dos órdenes de mamíferos que podrían estar actuando como grupos clave dentro del ciclo de la transmisión: roedores y murciélagos. Ambos grupos pueden presentar un nexo entre el ciclo doméstico y silvestre de la enfermedad. La presencia de *T. cruzi* en vectores ha sido ampliamente estudiada pero el conocimiento de los reservorios potenciales aún es un terreno poco explorado. Los objetivos principales de este trabajo fueron: (1) Evaluar la relación entre la dinámica temporal de los reservorios potenciales y la dinámica temporal de *Trypanosoma cruzi* y (2) Determinar si la dinámica de la interacción reservorio potencial – *Trypanosoma cruzi* se ajusta a un modelo SI de dinámica de infección. El trabajo de colecta se realizó en la estación de Biología de Los Tuxtlas Veracruz México desde Abril del 2012 hasta mayo del 2014. Se evaluó la presencia del parásito en murciélagos y ratones de la región de Los Tuxtlas mediante tres métodos: ELISA, WB y PCR. Posteriormente para conocer la relación entre las diversas series de tiempo entre los diferentes hospederos y *T. cruzi* se usó un análisis de CCF en tres niveles diferentes (datos crudos, 12 interpolaciones y 53 interpolaciones). Posteriormente, se proyectó en un modelo temporal de Cosinor. La prevalencia de *T. cruzi* fue más alta en roedores en los ensayos serológicos pero no en los ensayos moleculares. Sólo tres dinámicas fueron significativas: a) La prevalencia en triatomíneos contra la abundancia en triatomíneos; b) la abundancia de triatomíneos contra la prevalencia en murciélagos; c) la abundancia en roedores contra la prevalencia en vectores. Las dinámicas temporales muestran un indicio de transmisión denso-dependiente de triatomíneos a murciélagos en la región de los Tuxtlas. Asimismo es probable que exista una relación de frecuente-dependencia de vectores a roedores. Los diferentes ambientes de los patógenos (doméstico, peri-doméstico y silvestre) no se encuentran totalmente aislados. Esto se ve potenciado en patógenos con ciclos de vida complejos, es decir, aquellos que requieren de más de un hospedero para completar su ciclo infeccioso.

## 2 ABSTRACT

The American trypanosomiasis (also known as Chaga's disease) is a vector-borne neglected disease. It is considered endemic of America but during the last past years few cases have been reported in Europe, Japan and Australia. If it isn't detected in early stages, it can damage important organs and even cause death. It is provoked by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. The common transmission cycle of the disease depends upon two ecological entities: vectors and reservoirs. The vector is an hematophagous generalist triatomine bug. A great diversity of mammals can act as potential reservoirs. Especially two orders of mammals could act as key groups in the transmission cycle: rodents and bats. Both groups might have be a link between wild and domestic cycles. The presence of *T. cruzi* in the vector has been widely studied. Nevertheless, the knowledge about potential reservoirs into the wild is a field scarcely explored. The objectives of this work were: (1) to identify the infected hosts, (2) to assess the temporal variation of surveyed individuals (infected and non-infected) and (3) to determine if there is an association among the different temporal dynamics. Blood samples from hearts of rodents and bats were analyzed through ELISA's essays. These samples were collected in the Los Tuxtlas Tropical Biology Station from April 2012 to May 2013. We evaluated the presence of *T. cruzi* by three different methods: the serological methods were ELISA essays and WB essays, and the molecular method was PCR. Then, to assess how the time series of the hosts were related, we used a CCF analysis at three different levels (raw samples, 12 interpolations and 53 interpolations). Second, to have a graphic representation of the dynamics, we produced a model by a Cosinor's analysis. The prevalence of *T. cruzi* was higher in rodents by almost all the analysis. The PCR method had differences with the serological surveys. The only dynamics that were significant were a) the prevalence in bugs Vs the bugs abundance; b) the abundance of bugs Vs the prevalence in bats; c) the abundance of rodents Vs the prevalence in bugs. This hint to think that there might be a density-dependent transmission between triatomines and bats; and there might be a frequent-dependency transmission between triatomines and rodents. Our results suggest that rodent's abundance in the wild might be determining the re-infestation of the parasite in the domestic cycle. Although the prevalence in bats was lower, the results hint that bat's prevalence might be shaped by bug's abundance. Chaga's disease is an infectious disease where different species and individuals play a role. It seems the different types of cycles (wild, peridomestic and domestic) are not totally closed and this pattern is enhanced when the parasites have complex life cycles. There are few attempts to evaluate the dynamics of potential wild reservoirs of *T. cruzi*. This work could offer hints for future researches in the transmission of the parasite between wild and domestic cycles.

### 3 INTRODUCCIÓN

La tripanosomiasis americana (o también conocida como enfermedad de Chagas) es provocada por el parásito protozoario flagelado *Trypanosoma cruzi* (Orden Kinetoplastida, Familia Trypanosomatidae) (Chagas 1909; Rassi et al. 2010; Schmunis 2007). La enfermedad de Chagas se considera endémica de América (Kirchhoff 2011), aunque en la actualidad se han detectado casos en algunos países de Europa, Japón y Australia (Rodrigues-Coura & Albajar-Viña 2010). Según la World Health Organization se estima que existen de 6 a 7 millones de personas infectadas a nivel mundial (WHO, 2016). La forma más común de transmisión es mediante la contaminación por las heces de un vector, el cuál es un insecto hematófago. Existen diversos géneros de chinches hematófagos que son potenciales transmisores: *Rhodnius*, *Triatoma* y *Panstrongilus* (WHO Expert Committee, 1991). En México, los insectos que pertenecen al género *Triatoma* (Orden Hemiptera, Familia Reduviidae) son los de mayor importancia médica como transmisores de *T. cruzi* (Carabarin-Lima et al. 2013). De este género, se han descrito alrededor de 30 especies distribuidas en México (Zarate & Zarate 1985; Salazar Schettino et al. 1988; Guzmán-Bracho 2001; Salazar Schettino et al. 2005; Cruz-Reyes et al. 2006), de las cuales, 28 son endémicas para México (Ibarra-Cerdeña et al. 2009). Tres especies son las que tienen una mayor actividad como vectores de transmisión: *Triatoma barberi*, *Triatoma dimidiata* y *Triatoma pallidipennis* (Guzmán-Bracho 2001; Salazar Schettino et al. 2005; Cruz-Reyes et al. 2006). *Triatoma pallidipennis* y *T. dimidiata* presentan una amplia distribución en el centro y sureste mexicano respectivamente (Martínez-Ibarra & Katthain-Duchateau 1999; Salazar Schettino et al. 2005; Cruz-Reyes et al. 2006). Las formas secundarias de transmisión son mediante transfusiones sanguíneas, trasplante de órganos, vía congénita y por consumo de alimentos contaminados con heces de triatominos (Moncayo & Silveira 2009).

Entre los tripanosomátidos, *Trypanosoma cruzi* presenta uno de los ciclos de vida más complejos debido a las múltiples morfologías que desarrolla, tanto en los vectores como en los reservorios (Tyler & Engman 2001; De Souza et al. 2010). El ciclo principal de la enfermedad de Chagas en humanos consiste en la transmisión del parásito de un reservorio mamífero al humano mediante un vector (Sarkar et al. 2010; Kirchhoff 2011). El ciclo más común de infección comienza cuando la chinche hematófaga se alimenta y defeca cerca de la picadura. El estadio infectivo del protozoario se localiza en la parte final del aparato digestivo del insecto, por lo cual, es transportado en las heces de la chinche. Cuando las heces del vector entran en contacto con la herida, provocada por la picadura, el protozoario se introduce en el sistema del hospedero mamífero. Posteriormente, el protozoario infecta a otras células o es adquirido por otra chinche hematófaga (mediante el consumo de sangre contaminada) (Tyler & Engman 2001; Kirchhoff 2011).

La infección inicia cuando las formas infecciosas del parásito penetran en leucocitos y en células del tejido subcutáneo. Después de ser transportados por el sistema linfático y torrente sanguíneo, la concentración de los parásitos ocurre principalmente en tejido muscular, especialmente en miocardio, y también células ganglionares (Rassi et al. 2012).

Como ya se mencionó, la primera unidad ecológica relevante es el vector de transmisión de *T. cruzi*: las chinches hematófagas del género *Triatoma*. Estas chinches llegan a tener hábitos alimenticios generalistas, esto quiere decir que se pueden alimentar de múltiples hospederos, sin importar la especie (Mota et al. 2007; Reyes-Novelo et al. 2011). En ambientes domésticos se ha observado que se alimenta de aves de corral, cerdos, perros, gatos y ganado vacuno (Reyes-Novelo et al. 2011; Villalobos et al. 2011; Jiménez-Coello et al. 2012). En ambientes silvestres se ha detectado que se alimenta de una amplia variedad de roedores, marsupiales, de armadillos y de algunas especies de murciélagos (Miles et al. 2009; Reyes-Novelo et al. 2011).

La otra unidad ecológica relevante en el ciclo de la transmisión de tripanosomiasis son los reservorios, en este caso los mamíferos. Los reservorios son un conjunto de especies (o bien, una sola especie) que permiten que un parásito permanezca espacial y temporalmente en una localidad. De esta manera el ciclo de transmisión se mantiene (Noireau et al. 2009). Cruz-Reyes y Camargo-Camargo lo definen a un reservorio como aquél hospedador que mantiene las formas infectivas de un parásito en la naturaleza y que además no presenta signos ni síntomas clínicos. En general, el término se utiliza para referirse a la población de animales silvestres infectados de manera natural y que no manifiestan la enfermedad tan severa como en otros hospedadores (Cruz-Reyes & Camargo-Camargo 2001). Una gran variedad de mamíferos funcionan como reservorios potenciales del protozooario *T. cruzi*, dichos reservorios facilitan la dispersión del parásito tanto en zonas silvestres, como en zonas domésticas (Solís-Franco et al. 1997; Rodríguez et al. 2009; Viana et al. 2014).

Los roedores juegan un papel importante como reservorios en la transmisión de diferentes zoonosis infecciosas (Davis et al. 2005). Rodentia es el orden más numeroso dentro del grupo de los mamíferos. Debido a que muestran una amplia variedad de hábitos alimenticios y de anidación, los roedores desempeñan un papel importante en diversos procesos ecológicos (ocupan múltiples nichos ecológicos) (Ceballos & Olivia 2005). El papel de los roedores como reservorios en el estudio de la tripanosomiasis americana es de suma importancia debido principalmente a que presentan una amplia distribución geográfica y una elevada tasa de natalidad (Mills & Childs 1998; Davis et al. 2005). Además, los roedores presentan tasas de infección elevadas en comparación con las de otros mamíferos (mapaches, ardillas, zorrillos) (Charles et al. 2013). Especies de roedores, como algunas del género

*Neotoma*, han sido confirmadas como reservorios altamente eficaces en la transmisión de *T. cruzi* (Sarkar et al. 2010). Incluso, se han encontrado madrigueras de diversas especies pertenecientes a este grupo infestadas por los vectores transmisores (Balczun et al. 2012).

Otro grupo que es considerado importante en la transmisión de enfermedades es el orden Chiroptera. Los murciélagos son el segundo orden de mamíferos con mayor riqueza y abundancia. Dentro del bosque tropical lluvioso (Selva alta perennifolia) representan un 40 o 50 % de la mastofauna (Estrada & Coates-Estrada 2001b). La ecología de estos mamíferos es de alta relevancia para el conocimiento de la transmisión de enfermedades, ya que debido a sus características (alta motilidad, comportamiento y amplia distribución) funcionan como un reservorio altamente patógeno en la transmisión de la tripanosomiasis (Hamilton et al. 2012). La presencia de *T. cruzi* en murciélagos ha sido poco evaluada en México (Zarate & Zarate 1985; Ramsey et al. 2012) a pesar de que en otros países se tienen registros de la importancia de este grupo como reservorio potencial del protozoario (Thomas et al. 2007; Lisboa et al. 2008; Herrera 2010).

Estudios previos realizados en reservorios mamíferos (mapaches y lémures) han determinado y comparado la sensibilidad de los análisis de cultivos sanguíneos como estimadores de la presencia de *T. cruzi*. Estos análisis presentan una baja sensibilidad (Yabsley et al. 2001; Hall et al. 2007). Es por ello que se ha sugerido el uso de distintos métodos para conocer la presencia del protozoario dentro de los reservorios. Se ha propuesto como un primer acercamiento a los métodos inmunológicos (pruebas de Elisa, Western Blot), seguido por una confirmación mediante métodos moleculares de PCR. De esta manera se puede evaluar la presencia-ausencia de *T. cruzi* con mayor certeza (Brown et al. 2010; Crawford & Kribs-Zaleta 2014; Tenório et al. 2014).

La interacción de *T. cruzi* con sus diferentes reservorios aún tiene muchas incógnitas. Dicha interacción es considerada de alta complejidad debido a que el protozoario parasita a una alta cantidad de especies (Noireau et al. 2009). Los cambios de un grupo pueden repercutir en la dinámica de otro (Pilosof et al. 2013). La abundancia y la dinámica de los reservorios pueden afectar a los patrones de infección y temporalidad de los parásitos (Levi et al. 2016; Donoso et al. 2016; Begon 2008, Ostfeld & Keesing 2000).

Diversos modelos se han empleado para explicar las interacciones y los patrones de infección de diferentes parásitos en una escala temporal. Los más usados y que han permitido generalizar patrones en los procesos de infección son el modelo denso-dependiente y el modelo frecuente-dependiente (Heesterbeek & Roberts 1995). En el primero, el número de nuevas infecciones por unidad de tiempo es proporcional al aumento de individuos (susceptibles e infectados). En el segundo, las nuevas infecciones

son proporcionales a la probabilidad de contacto entre el número de individuos infectados y la proporción de individuos susceptibles (Mccallum et al. 2001).

Actualmente existen estudios que evalúan la dinámica temporal de los vectores y reservorios (Reyes-Novelo et al. 2011; Ramsey et al. 2012) pero son pocos los acercamientos a la dinámica temporal de la infección y prevalencia de *T. cruzi* en los reservorios potenciales. Estudios como el presente, donde se analiza la dinámica temporal de infección, son muy importantes porque permiten un acercamiento a la interacción parásito-reservorio. La identificación de reservorios, así como la evaluación temporal del parásito permite una aproximación a la ecología de la enfermedad de Chagas y de esta manera conocer a mayor detalle la dinámica de transmisión de *T. cruzi* y las interacciones que este parásito mantiene con sus hospederos.

## 4 ANTECEDENTES

### 4.1 TRIPANOSOMIASIS AMERICANA Y EL *TRYPANOSOMA CRUZI*: HISTORIA Y EPIDEMIOLOGÍA

La tripanosomiasis americana también es conocida como enfermedad de Chagas, ya que fue descubierta por el médico brasileño Carlos Chagas en 1909. Carlos Chagas describió al agente etiológico, algunos de los hospederos no humanos y vectores de transmisión. Es considerada una zoonosis por que el parásito puede infectar a humanos y a otros animales y la transmisión puede ocurrir en ambos sentidos (Rodrigues-Coura & Albajar-Viña 2010; Lewinsohn 1981). Gracias a las iniciativas que se han implementado en países tropicales, el número estimado de personas que podrían estar infectadas ha disminuido considerablemente en los últimos 20 años (de 30 millones a 7 u 8 millones, según la WHO) (Kirchhoff 2011; Moncayo & Silveira 2009). Sin embargo es un enfermedad que representa uno de los más grandes problemas en la salud pública al causar incapacidad en individuos infectados y más de 10,000 muertes al años (WHO, 2010).

La enfermedad de Chagas ha existido como enfermedad del hombre desde hace miles de años. Según registros antropológicos se han encontrado restos de DNA de *T. cruzi* en momias chilenas que datan de hace más de 9, 000 años (Rodrigues-Coura & Albajar-Viña 2010). Debido al amplio registro que se tiene, la enfermedad de Chagas se considera autóctona de Latinoamérica, esto incluye a 22 países (Schmunis & Yadon 2010). Entre estos, Brasil y México presentan prevalencias bajas (1%) pero debido a que son dos de los países latinoamericanos con mayor número de población, representan a un tercio del total de personas infectadas a nivel mundial (Kirchhoff 2011). Históricamente, esta enfermedad ha sido principalmente un problema de comunidades rurales tropicales pero el incremento en la migración de poblaciones humanas ha ocasionado un aumento en países no endémicos (Figura 1) (Araujo-jorge et al. 2010). Se estima que el número de casos en países endémicos ha disminuido, sin embargo, el número de casos en países no autóctonos podría estar aumentando debido a una falta de monitoreo (Schmunis 2007; Schmunis & Yadon 2010; Moncayo & Silveira 2009; Rodrigues-Coura & Albajar-Viña 2010), por lo que, el número de casos totales podría ser cifra subestimada.

De igual forma, la enfermedad de Chagas representa una de las causas principales de lesiones cardiacas en adultos económicamente activos. Por lo que el impacto en este sentido es significativo. El daño ocasionado por el parásito es irreversible, y muy a menudo, las personas afectadas no pueden realizar sus jornadas diarias de manera típica, de esta forma mucha gente en edad aún productiva (19-65

años) muere prematuramente (Carabarin-Lima et al. 2013; Moncayo & Silveira 2009; Segura & Escobar-Mesa 2005).

□

Global distribution of cases of Chagas disease, based on official estimates, 2006–2010

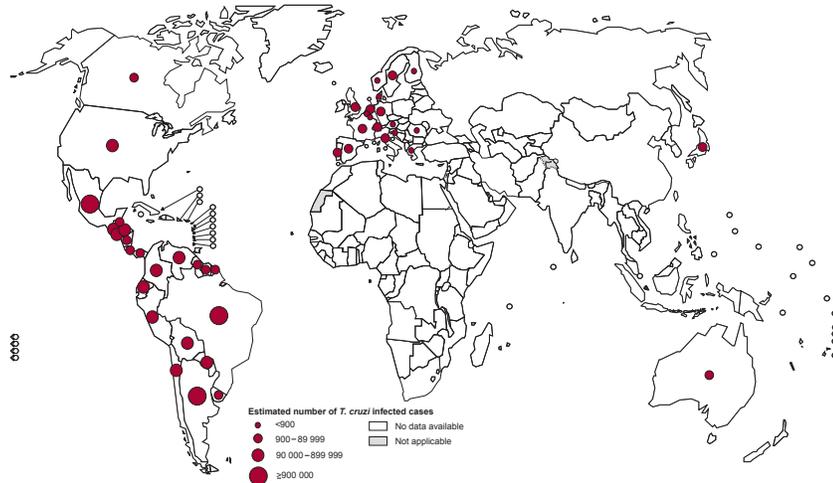


Figura 1 Número de casos estimados a nivel mundial de tripanosomiasis americana. Los círculos representan el número de casos estimados de infección por *T. cruzi*, los tamaños más grandes indican mayor número de infecciones. En las áreas sin color no existen datos disponibles y para las áreas coloreadas de gris no aplican la infección (mapa tomado de <http://www.who.int/chagas/>)

México cuenta con las características ecológicas, climáticas y socioculturales que facilitan la transmisión activa del microorganismo causante de la enfermedad de Chagas (Carabarin-Lima et al. 2013). Anteriormente, se tenía la percepción errónea de que la enfermedad de Chagas era rara y prácticamente inexistente (Salazar Schettino et al. 1988), pero en los últimos 30 años, gracias a diferentes grupos de investigación, la información con relación a *T. cruzi* ha aumentado considerablemente (Cruz-Reyes et al. 2006). Guzmán-Bracho (2001) (con datos del censo poblacional del año 2000) realizó un estimado de personas que podrían estar infectadas, a aproximación mostró que de los 97.4 millones de habitantes, 1.6 millones podrían estar infectadas con *T. cruzi*. La transmisión del parásito puede verse facilitada gracias a la gran cantidad de vectores y posibles reservorios, además de una alta tasa de migración dentro del país (Guzmán-Bracho 2001).

## 4.2 BIOLOGÍA DE TRYPANOSOMA CRUZI

*Trypanosoma cruzi* es un protozoario que pertenece al phylum Sarcomastigophora, al subphylum Mastigophora, al orden Kinetoplastida y a la familia Trypanosomatidae. Este orden incluye a organismos flagelados que dentro de la mitocondria tienen un cinetoplasto (DNA extranuclear). El nombre completo de esta especie es *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. El subgénero *Schizotrypanum* se asigna a aquellos tripanosomatidos que se multiplican en vertebrados mediante estadios intracelulares (*T. dionisii*, *T. vespertiolinis*, *T. myoti* entre otros) (WHO Expert Committee 1991; Kirchhoff 2014; Rassi et al. 2012; De Souza 2002; Souza 2008). Otro subgénero dentro del genero *Trypanosoma* es *Trypanozoon* al cual pertenece *T. brucei* que a diferencia de *T. cruzi*, vive y se replica en el torrente sanguíneo (Gibson 2003).

Como ya se mencionó, *T. cruzi* es parte de un grupo de protozoarios llamados kinetoplastidos. Todos ellos contienen un complejo extranuclear de ADN circular. Cada complejo consiste en maxicírculos de 36 kb y en minicírculos de 1.42 kb (Sturm et al. 1989). Los maxicírculos son análogos al ADN mitocondrial en eucariontes y se encuentran en un número bajo de copias (Junqueira et al. 2005). Los minicírculos son pequeñas moléculas pero que se encuentran en un gran número de copias (aprox. 20 mil copias) (Junqueira et al. 2005; Martínez et al. 2013). El complejo denominado minicírculo se encuentra organizado en cuatro regiones conservadas de 120 pb, las cuales están separadas por cuatro regiones variables de aproximadamente 250 pb (Avila & Simpson 1995). Los minicírculos y maxicírculos se encargan de codificar ARN ribosomal y ciertas proteínas que toman parte en la generación de ATP (Martínez et al. 2013).

*Trypanosoma cruzi* es uno de los trypanosomatidos que presenta uno de los ciclos de vida más complejos. Su ciclo se alterna entre un hospedero invertebrado y un hospedero vertebrado. Estos organismos son capaces de cambiar su forma general durante todo su ciclo de vida (Romano et al. 2012; Andrews & Burleigh 1995) (Figura 2). En los hospederos vertebrados se comporta como un parásito intracelular obligatorio, donde se presentan diferentes mecanismos para realizar la invasión celular (Romano et al. 2012).

El ciclo de vida que se describe normalmente y el más común empieza con la picadura de la chinche cuando se alimenta de la sangre de un vertebrado infectado (K. M. Tyler & Engman 2001; De Souza et al. 2010; De Souza 2002). En el torrente sanguíneo va el estadio infectivo de *T. cruzi* conocido como tripomastigote sanguíneo. Dentro del insecto la mayoría de los tripomastigotes son lisados y los sobrevivientes se transforman en esferomastigotes o epimastigotes (los cuales no son un estadio infectivo) (Romano et al. 2012). Los epimastigotes migran al intestino medio del insecto, donde una

intensa serie de divisiones celulares ocurre y finalmente se adhieren a la membrana perimicroviliar (K. M. Tyler & Engman 2001). Esta adhesión desencadena la transformación de la forma de epimástigote a tripomastigote metacíclico. Esta última, es la forma infectiva que va en las heces y orina de la chinche (De Souza et al. 2010; De Souza 2002). Cuando los tripomastigotes invaden las células del hospedero comienza el ciclo intracelular y temporalmente son contenidos en una vacuola. Cuando la vacuola se rompe y el tripomastigote metacíclico llega a citoplasma se diferencian en amastigotes. Este morfo es el estadio replicativo intracelular, se replica mediante fisión binaria dentro de un pseudoquiste (Andrews & Burleigh 1995; K M Tyler & Engman 2001; Romano et al. 2012). Posteriormente, esos amastigotes se diferencian en tripomastigotes sanguíneos los cuales se encuentran en torrente sanguíneo.

Cuando el vector consume la sangre donde viene la mezcla de tripomastigotes sanguíneos y amastigotes se completa el ciclo de vida del parásito (K. M. Tyler & Engman 2001). Si la transmisión se da por una vía diferente a la del vector, la infección se da normalmente por la inoculación directa de los amastigotes o del tripomastigote metacíclico.

A pesar de que la transmisión más común es mediante el vector, se conocen otras formas de transmisión que también permiten mantener el ciclo de vida de *T. cruzi* (WHO Expert Committee 1991). La transmisión por transfusiones sanguíneas (transfusiones donde no se hicieron previos análisis para la infección de *T. cruzi* y el donador porta el parásito) se considera la segunda forma más frecuente de transmisión. Su riesgo radica en la extensión que puede alcanzar gracias a la migración humana (interna o externa) si no existe el monitoreo adecuado de donadores de sangre. La transmisión congénita es la tercera causa más común de infección y su incidencia en Latinoamérica es de más de 15,000 casos al año. La transmisión por vía oral (al comer alimentos infectados por las heces del vector, o en vida silvestre cuando los mamíferos se alimentan del insecto) es una forma que ha empezado a recibir especial atención debido a que la infección se comporta de manera más agresiva en comparación con las otras formas de transmisión (Rueda et al. 2014; Schmunis & Yadon 2010).

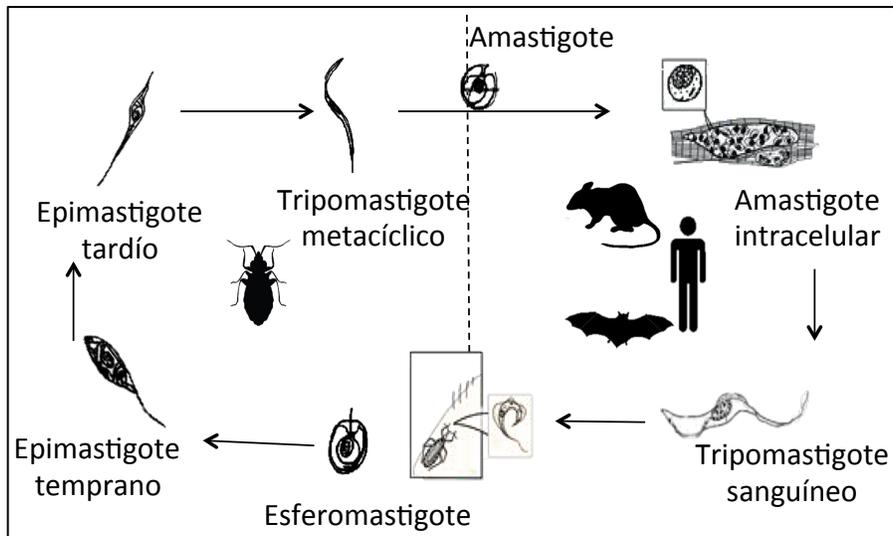


Figura 2 Ciclo de vida típico de *Trypanosoma cruzi*. El ciclo comienza cuando el triatomino se alimenta de sangre que contiene tripomastigotes sanguíneos, dentro del insecto pasan al estadio de esferomastigotes y posteriormente a epimastigotes (conforme avanzan en el tracto intestinal del vector); son liberados en las heces y orina del triatomino como tripomastigotes metacíclicos (estadio infeccioso). Cuando estos últimos entran en contacto con las células del hospedero comienza el ciclo de replicación intracelular (estadio amastigote) donde el parásito finalmente se diferencia en tripomastigote sanguíneo lo que completa el ciclo de vida.

### 4.3 VECTORES

El término vector se usa para definir a aquellos animales que funcionan como vehículos de transmisión de un hospedero a otro (Taliaferro 2009). Los vectores de *T. cruzi* son las chinches hematófagas de la familia Reduviidae. Dentro de esta familia todas las especies pertenecientes a la subfamilia Triatominae son consideradas vectores potenciales del agente etiológico de la enfermedad de Chagas (Guzmán-Bracho 2001; Ibarra-Cerdeña et al. 2009). El ciclo de vida de estos insectos requiere de 5 estadios ninfales antes de que alcancen la madurez sexual (Noireau et al. 2009), para Norteamérica se ha reportado una alta densidad de especies de triatominos. Dentro del género *Triatoma* existen tres complejos que contienen especies consideradas como vector de importancia médica: *protracta*, *phyllosoma* y *dimidiata*. Del complejo *Protracta* únicamente la especie *Triatoma barberi* ha sido identificada como vector de importancia médica; el complejo *Phyllosoma* incluye a *Triatoma pallidipennis* como vector de importancia médica de transmisión en México; y el complejo *Dimidiata* incluye a *T. dimidiata* y sus genotipos (Ibarra-Cerdeña et al. 2009), esta última presenta una amplia distribución en el sureste mexicano (Cruz-Reyes et al. 2006; Salazar Schettino et al. 2005).

A pesar de los hábitos generalistas que presentan los triatominos, algunas especies se encuentran altamente adaptadas a los hábitos de un solo hospedero y sobreviven en el microambiente ocupado por éste. Mientras que otras especies logran adaptarse con mayor facilidad a hábitats de distintos hospederos (Noireau et al. 2009). Cambios ambientales desfavorables en el hábitat de los hospederos silvestres puede provocar cambios en los hábitos de los triatominos, lo que resulta en la migración de estos artrópodos de ambientes silvestres a domésticos, y con ello la continuación del ciclo de vida del parásito (WHO Expert Committee 1991).

#### 4.3.1 RESERVORIOS

Se conoce como reservorio a cualquier animal que alberga un parásito que puede ser transmitido a otro animal (Swift 2009). Esa especie o conjunto de especies son capaces de mantener el ciclo de vida del parásito en un determinado tiempo y lugar (Noireau et al. 2009). Aproximadamente 180 especies de mamíferos se han encontrado infectados de manera natural con *T. cruzi*, las cuales son de diversos órdenes: Didelphimorphida, Lagomorpha, Chiroptera, Rodentia, Pilosa, Cingulata, Carnivora, Primates y Perisodactyla. Los reservorios que se han localizado incluyen especies silvestres, domésticas y sinantrópicas (Herrera 2010).

De acuerdo con Cruz-Reyes y Pickering-López (2006) los reservorios más importantes son los didélfidos y los cánidos pero existe un sesgo de muestreo en los estudios, ya que previamente se creía que los reservorios por excelencia de *T. cruzi* eran los didélfidos sin embargo, recientemente han surgido otras hipótesis que apoyan la idea de que los murciélagos fueron un orden imprescindible para que la enfermedad se volviera enzoótica (Hamilton et al. 2012).

En el clado *T. cruzi sensu lato* existe la subespecie *T. cruzi cruzi* (el agente etiológico de la enfermedad de Chagas) y la subespecie *T. cruzi marejinkellei*. Esta última sólo se ha encontrado en murciélagos sudamericanos. Lo que nos puede hablar de una estrecha relación filogenética entre los murciélagos y el parásito (Lisboa et al. 2008). La función de los murciélagos como reservorios de *T. cruzi* ha sido poco explorada en territorio mexicano (Cruz-Reyes et al. 2006).

Existen órdenes de mamíferos que no presentan prevalencias elevadas ( $\approx 30\%$ ) en comparación con los marsupiales americanos pero esto no merma su papel como reservorios potenciales del parásito (Nouvellet et al. 2013; Jansen & Roque 2010). Este es el caso para los roedores como reservorios potenciales de la tripanosomiasis americana, los cuales al habitar tanto en ambientes silvestres como en sinantrópicos pueden ampliar la distribución del parásito y su mantenimiento en dos tipos de habitat (Noireau et al. 2009).

En los ambientes silvestres no sólo ocurre la transmisión vectorial esto ocurre por que los reservorios son de diversos órdenes y presentan un amplio intervalo de hábitos. Por ejemplo, diferentes mamíferos que se han identificado como reservorios potenciales son insectívoros y si estos se alimentarán de un triatomino infectado facilitaría la transmisión del parásito y la continuación de su ciclo de vida. Asimismo, en mamíferos carnívoros se ha observado que pueden infectarse al consumir otro mamífero parasitado por *T. cruzi* (Kirchhoff 2011). Además de la transmisión oral, la transmisión congénita también juega un papel importante dentro de la transmisión de reservorios silvestres. Añez y colaboradores evaluaron fetos de murciélagos de la especie *M. molossus* y el 100% de los especímenes mostró infección por *T. cruzi*, mostrando que la transmisión congénita parecía ser un fenómeno común en ambientes silvestres (Añez et al. 2009).

#### 4.4 RELACIONES ECOLÓGICAS HOSPEDERO – PARÁSITO

La dinámica poblacional de todos los organismos se encuentra influenciada por las interacciones que se mantiene entre las especies y el ambiente (Begon 2008). En el caso del parasitismo se trata de una relación en donde una especie (el parásito) vive dentro o sobre la otra especie (hospedero). Esta relación ecológica se clasifica como asimétrica, ya que una de las dos especies se beneficia (el parásito) a costa de la otra especie (Swift 2009). Esta relación es estrecha y bidireccional, el parásito puede afectar a la dinámica del hospedero o de los reservorios. Además, los cambios en la dinámica poblacional o de comunidades de los hospederos puede afectar la dinámica de infección del parásito (Pilosof et al. 2013).

Los reservorios son sistemas complejos, capaces de sufrir y ejercer presión selectiva en los parásitos que alojan. Y al mismo tiempo estos sistemas mantienen interacciones con otros hospederos y reservorios (Noireau et al. 2009; Roche et al. 2013). Definir a un sistema como los reservorios actualmente implica diferentes aproximaciones, tanto ecológicas como epidemiológicas (Ashford 2003; Haydon et al. 2002).

En especial el grupo de enfermedades conocidas como zoonosis (enfermedades que se mantienen en comunidades animales pero ocasionalmente transmitidas a humanos, (Ostfeld & Keesing 2000)) resultan en redes intrínsecas complejas, porque normalmente la red de interacciones no se compone de una sola especie de reservorio (Pilosof et al. 2013; Davis et al. 2005). Se conocen alrededor de 1,415 patógenos humanos. De ellos, el 61 % se encuentran dentro de la clasificación de zoonosis (Cleaveland et al. 2001). A menudo, una sola especie de parásito puede infectar muchas especies de hospederos y afectar de diferentes maneras a estos (Holt et al. 2003).

Los cambios que puedan ocurrir en las interacciones tróficas no son únicamente mecanismos intrínsecos, también se puede ver afectada la manera de cómo estas interacciones se llevan a cabo y afectar a otras cadenas o ciclos (Hudson et al. 1998). Esta complejidad se puede observar incluso en los niveles más basales de las interacciones, por ejemplo, la persistencia de algún parásito algunas veces requiere de un nivel mínimo (un umbral) de diversidad o abundancia del hospedero para poder transmitirse de manera continua. De otra manera, la infección podría no ocurrir (Johnson et al. 2015). Algunas de las propiedades de las poblaciones y comunidades de hospederos que afectan a la dinámica de la infección de los parásitos son: la riqueza de especies, la densidad de las especies hospederas y los cambios temporales y espaciales que éstas presentan (Begon et al. 1999; Roche et al. 2013).

Respecto a la riqueza de especies Ostfeld y Keesing (2009) observaron que la uniformidad en comunidades de vertebrados terrestres podía reducir el riesgo de exposición a Lyme. De acuerdo a un análisis realizado en los estados de la costa este de Estados Unidos, encontraron correlaciones negativas

estadísticamente significativas entre la riqueza de mamíferos pequeños (Rodentia, Insectívora y Lagomorfa) y la incidencia de casos para Lyme (Ostfeld & Keesing 2000). A esto se le llama efecto dilución (Johnson et al. 2015). Por otro lado, existe otro fenómeno llamado efecto amplificación (Keesing et al. 2006). Power y Mitchell (2004) encontraron algunas poblaciones de pastos con el virus “Barley yellow dwarf” y los sistemas más diversos eran aquellos con altas tasas de infección (Power & Mitchell 2004). Asimismo, los cambios en las densidades de los hospederos, especialmente animales silvestres, puede afectar directamente a los cambios que ocurren en las prevalencias de los agentes etiológicos. Un ejemplo de ello, es el brote de hantavirus en el suroeste de Estados Unidos en mayo de 1993. El cual parece estar directamente relacionado con un aumento anormal en las densidades del ratón *Peromyscus maniculatus* (Schrag & Wiener 1995). Estos cambios en la densidad poblacional se presumen asociados a dos temporadas de primavera especialmente húmedas. Lo cual indica, que además de estudiar los cambios en las densidades poblacionales, también se debe tomar en cuenta los cambios espaciales y temporales (Ostfeld & Keesing 2000; Schrag & Wiener 1995; Skerratt et al. 1998; Mills & Childs 1998; Suzán et al. 2009).

Los cambios temporales pueden afectar directamente a las fluctuaciones poblacionales de los hospederos, de los parásitos y de los vectores, y estos a su vez alteran la tasa en la que se incrementa el número de hospederos infectados. Estos cambios pueden ocasionar brotes epidemiológicos (Altizer et al. 2006).

Este tipo de relaciones pueden parecer un poco más difusas en las enfermedades infecciosas transmitidas por vector. Pero aun así se ha observado que la presencia de los hospederos vertebrados influye fuertemente en la permanencia del parásito en el ambiente. Un ejemplo de ello son las interacciones que sostiene *Borrelia burgorferi* (enfermedad de Lyme) con la garrapata *Ixodes scapularis* y sus hospederos roedores. Donde aunque algunos no sean parte del ciclo vital del patógeno, son críticos para la supervivencia de la garrapata (Steere et al. 2004).

La dinámica de los patógenos en poblaciones silvestres se ha convertido en un tema de relevancia médica y ecológica. Como se ha mencionado, los patógenos son entes altamente influenciados por el medio que los rodea. Donde pequeños cambios afectan su prevalencia en los hospederos y su capacidad de transmisión, una forma de evaluar esa dinámica es a través de la modelación de las interacciones que puedan estar ocurriendo.

#### 4.5 MODELOS SIR: DINÁMICA DE INFECCIÓN

La transmisión de enfermedades entre el ser humano y la fauna (silvestre o doméstica) es un tema de suma importancia para la salud pública, para la economía e incluso para la conservación de especies (Cleaveland et al. 2001). Dentro de las zoonosis emergentes existen múltiples factores asociados a la transmisión de la enfermedad. Dentro de estos las interacciones entre los organismos y sus dinámicas temporales y espaciales no quedan ausentes (Altizer et al. 2006). El uso de los modelos en el conocimiento de la dinámica de enfermedades ha crecido ampliamente. Los modelos son herramientas conceptuales que permiten explicar cómo se comporta un objeto o un sistema de objetos (un fenómeno) (Ma & Xia 2009; Keeling & Rohani 2007). Los modelos se presentan generalmente en forma de un conjunto de ecuaciones o comandos de programación computacional. Cada set de ecuaciones o comandos requiere de las modificaciones adecuadas según el sistema biológico que se quiera representar (Nouvellet et al. 2015). El uso de estos en la epidemiología permite conocer la dinámica de diversas enfermedades y generar conocimientos para el desarrollo de políticas públicas. Los modelos pueden resultar útiles en la prevención y control de las enfermedades (Heesterbeek & Roberts 1995; Ma & Xia 2009; Keeling & Rohani 2007).

Los enfoques de los modelos matemáticos generalmente son: identificar las condiciones naturales que permitan reproducir las tendencias observadas en el campo, predicción de las variaciones o cambios en el sistema que se estudie y observar el efecto que tiene una variable (como la actividad humana) en el sistema biológico (Nouvellet et al. 2015). Es decir pueden en esencia tener tres usos diferentes: descripción y entendimiento de un fenómeno, la predicción de una o más variables dentro de un fenómeno y/o la toma de decisiones de acuerdo a lo que prediga el modelo. Dentro de la epidemiología se han desarrollado diversos modelos teóricos que ayudan a entender la transmisión y el comportamiento de diversas enfermedades. Así como también permiten traducir el comportamiento de las enfermedades (de los patógenos) a distintas escalas, o incluso, hacer inferencias partiendo de ciertas condiciones. Dentro de los modelos matemáticos se encuentran los modelos SIR (susceptible, infectado y recuperado). Los modelos SIR son considerados modelos de compartimentos, debido a que categorizan a los individuos de acuerdo a su estatus de infección. Es decir, cada categoría de individuos es un compartimento (Ma & Xia 2009).

Una de las categorizaciones más típicas dentro de estos modelos es la siguiente clasificación básica de individuos: individuos susceptibles, los cuales no presentan ningún patógeno y son sensibles a la infección; expuesto, en etapas tempranas el hospedero no muestra síntomas claros de infección;

infectado, el individuo está infectado con el parásito; recuperado, el individuo se encuentra sano de nuevo o es removido de la población (deceso) (Keeling & Rohani 2007).

El modelo más clásico se llama SIR (susceptible, infectado, recuperado), el cuál indica una fase donde los hospederos ya no portan la enfermedad o al patógeno, pero realmente la clasificación de los hospederos depende de las características inherentes de la enfermedad y la forma en que se desarrolla (Diseases et al. 2002; Heesterbeek & Roberts 1995; Ma & Xia 2009). Si la enfermedad conlleva un ciclo diferente, esa clasificación se modifica, por ejemplo si en la enfermedad existiera una fase donde el hospedero no muestra síntomas pero sigue estando infectado, se le puede denominar latente (L). En el caso de enfermedades como la tripanosomiasis americana no existe fase de recuperación (los hospederos portan el parásito por toda su vida), por lo que el proceso de infección en vida silvestre podría modelarse en un sistema SI (susceptible e infectado) (Keeling & Rohani 2007).

A su vez, cada categoría de individuos (susceptibles, infectados o recuperados) contiene los componentes que provocan un cambio dentro de su población o grupo. Los susceptibles experimentan aumentos gracias al número de nacimientos pero bajas debidas a las muertes y una disminución también ocasionada por la transmisión de la enfermedad (Fenton et al. 2015; Altizer et al. 2006; Keeling & Rohani 2007). Los infectados sufren bajas en su número ocasionadas por las muertes pero un aumento en el número de individuos ocasionado por las nuevas infecciones. Si existe un número de organismos recuperados la tasa de recuperación disminuye el número de infectados pero aumenta el de recuperados. El número de muertes también provoca bajas en el porcentaje de individuos recuperados (Heesterbeek & Roberts 1995; Keeling & Rohani 2007; Ma & Xia 2009).

El primer modelo (denso-dependiente) se define como:

$$\frac{d_i}{d_t} = \beta SI$$

en donde  $\frac{d_i}{d_t}$  es el aumento de individuos infectados con respecto al tiempo,  $\beta$  es la tasa de transmisión (es una constante),  $S$  es el número de individuos susceptibles (individuos sanos) e  $I$  es el número de individuos infectados. El segundo modelo (frecuente-dependiente) se define como:

$$\frac{d_i}{d_t} = \beta S \frac{I}{N}$$

en donde  $\frac{d_i}{d_t}$  es el aumento de individuos infectados con respecto al tiempo,  $\beta$  es la tasa de transmisión (es una constante),  $S$  es el número de individuos susceptibles (individuos sanos),  $I$  es el número de individuos infectados y  $N$  es el total de individuos en la población.

La forma en que se modela la transmisión dependerá del sistema biológico:

- SI. Para los patógenos que se transmiten directamente. Como influenza o VIH.
- SV. Para los patógenos transmitidos mediante un vector. Como es el caso de la malaria o la tripanosomiasis americana.
- SF. Para los patógenos transmitidos por un factor ambiental. Como es el caso del cólera o amibiasis.

Para la enfermedad de Chagas los modelos han sido estudiados principalmente en vectores y humanos (Velasco-Hernández 1991). En especial, se han enfocado en entender la dinámica poblacional del vector y la epidemiología de la infección (Nouvellet et al. 2015). Pero este parásito logra mantenerse en los tres ciclos epidemiológicos (silvestre, doméstico y sinantrópico) y esto puede ser gracias a la presencia de los reservorios. Es por ello que se ha prestado mayor atención a los modelos silvestres. En ellos se han usado los modelos determinísticos con la forma SI (sólo individuos infectados y susceptibles) (Crawford & Kribs-Zaleta 2014). Cada modelo va a presentar las condiciones específicas del hospedero y del parásito, así como también se consideran las diferentes formas de transmisión de éste. Gracias a este tipo de análisis Kribs-Zaleta (2010) comprobó que en reservorios silvestres la transmisión vertical de *Tr. cruzi* por sí sola no es capaz de mantener el ciclo del parásito. Es por ello que este tipo de modelos pueden ser útiles para la descripción del parásito en ambientes determinados, y al mismo tiempo nos permite proyectar la función de diferentes escenarios (Kribs-Zaleta 2010).

Explorar la dinámica de los patógenos requiere conocer el sistema de la enfermedad, como se ha observado este sistema es multifactorial. Este sistema funciona como un sistema abierto, donde se requiere de la intervención de factores de los diversos ambientes (doméstico, peridoméstico y silvestre). Desafortunadamente nuestro conocimiento de las enfermedades zoonóticas en los ambientes silvestres es escaso, especialmente en enfermedades que implican parásitos con ciclos de vida complejos y a vectores generalistas, como es el caso de la enfermedad de Chagas. Al conocer más información sobre el sistema de infección en vida silvestre se podrá conocer más sobre la enfermedad y la posibilidad de control y su potencial zoonótico.

## 5 OBJETIVOS E HIPÓTESIS ECOLÓGICA

### 5.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la relación entre la dinámica temporal de los reservorios potenciales y la dinámica temporal de *Trypanosoma cruzi*. Así como determinar si la dinámica de la interacción reservorio potencial – *Trypanosoma cruzi* se ajusta a un modelo SI de dinámica de infección.

### 5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Identificar a los reservorios potenciales infectados con *Trypanosoma cruzi*.
2. Determinar la variación temporal de las especies de reservorios potenciales (Chiroptera y Rodentia).
3. Determinar la dinámica temporal de *Trypanosoma cruzi* mediante la frecuencia de individuos infectados.
4. Evaluar la relación entre la dinámica temporal de los reservorios potenciales y la dinámica de *Trypanosoma cruzi*.
5. Evaluar si existe un patrón de denso-dependencia o frecuente-dependencia entre los reservorios potenciales y la incidencia de *Trypanosoma cruzi*.

### 5.3 HIPÓTESIS ECOLÓGICA

La variación temporal de los reservorios o vectores puede provocar cambios en la dinámica de infección que los patógenos ejercen en otros organismos, como en la prevalencia de los parásitos. Por lo anterior es posible que los cambios en la dinámica temporal de los reservorios potenciales de *Trypanosoma cruzi* puedan influir en los valores de la prevalencia de este parásito en ciclos silvestres.

## 6 MÉTODOS

### 6.1 SITIO DE ESTUDIO

Las colectas de los reservorios potenciales se realizaron en la Estación de Biología Tropical de los Tuxtlas (EBLT) en Veracruz. Esta estación se localiza en la parte sureste de la región de Los Tuxtlas, entre los 95° 00' y 95° 13' longitud oeste y los 18°25' y los 18°45' latitud norte (Figura 3) (Flores et al. 2014). En la zona predomina la selva alta perennifolia pero los alrededores están convertidos en potreros o acahuales, excepto por el flanco oeste que está cubierto de selva. En la zona se encuentra variantes del grupo de climas cálidos húmedos con una temperatura anual promedio de 25 °C (Dirzo, et al., 1997; Soto y Gama, 1997). Respecto a la presencia de la enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz, la región presenta características favorables (factores de riesgo) para la colonización del vector, tanto en ambientes domésticos como silvestres. Incluso en algunas jurisdicciones, una de ellas Los Tuxtlas, se ha observado que la infección está ocurriendo de forma activa y que presenta altos porcentajes de seroprevalencia (Segura & Escobar-Mesa 2005; Salazar et al. 2007).

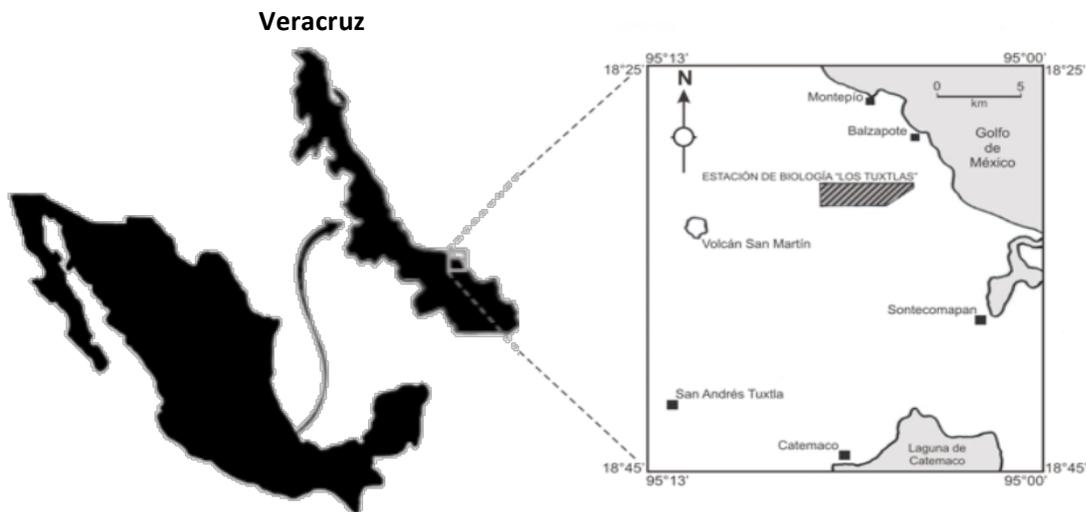


Figura 3 Localización de la Estación de Biología Tropical de los Tuxtlas en el estado de Veracruz. Figura modificada de (Flores et al. 2014)

## 6.2 COLECTA DE ORGANISMOS

Durante el periodo de octubre del 2011 a junio del 2015 se colectaron diversos ejemplares de posibles reservorios mamíferos. Los muestreos no fueron equidistantes durante todo ese periodo, sin embargo, se obtuvieron muestreos representativos (secas y lluvias) de la variación temporal de los reservorios durante los cinco años de muestreo. Así como también se analizó si existían patrones en la dinámica temporal de *T. cruzi*, a través de su prevalencia en reservorios y posteriormente en vectores.

### 6.2.1 ROEDORES

Para coleccionar a los reservorios pertenecientes al orden Rodentia se realizó un muestreo sistemático. En un cuadrante de 1 ha se colocaban 100 trampas tipo Sherman, dichas trampas eran colocadas a lo largo de 10 líneas (10 trampas por cada línea), con una separación de 10 metros entre cada trampa. Para atraer a los organismos, se colocaba un cebo de avena y vainilla y las jaulas se revisaban al día siguiente a las 7:00 hrs, de ser necesario se recibaba entre las 18:00 y 19:00 hrs (se consideraron estos tiempos por que es el periodo de mayor actividad de los roedores). La colocación y revisión de trampas Sherman se llevaba a cabo durante tres días consecutivos.

### 6.2.2 MURCIÉLAGOS

Para capturar a los posibles reservorios de *T. cruzi* pertenecientes al orden Chiroptera, se colocaban dos redes de niebla de 6 × 3 m y 12 × 3 m, respectivamente. Dichas redes eran colocadas entre la vegetación, a lo largo del camino y en el curso del arroyo, debido a que fueron considerados como puntos estratégicos, es decir, sitios donde los murciélagos tienden a agregarse y pueden presentar una actividad elevada (como en las fuentes de agua, de alimento o en corredores de vuelo). Las redes eran abiertas a las 19 hrs y eran revisadas cada media hora. Este tipo de muestreo se llevó a cabo durante 4 horas, por tres noches consecutivas.

### 6.2.3 OBTENCIÓN DE TEJIDOS

Los ejemplares obtenidos en cada colecta eran pesados y examinados para ectoparásitos. Se tomaron parámetros demográficos tales como: sexo, edad (joven o adulto) y estado reproductivo. Posteriormente, eran sacrificados y disecados para extraer una muestra de tejido de diferentes órganos. Debido a que se ha observado que el parásito *T. cruzi* se aloja preferentemente en el tejido miocárdico

(Yabsley et al. 2001; Legey et al. 2003; Mubiru et al. 2014), la presencia del protozoario se evaluó en sangre mediante análisis de anticuerpos contra el parásito (serología descrita más adelante) y la presencia de DNA del parásito se evaluó en con análisis moleculares (descritos más adelante) del tejido del corazón. Estas muestras (sangre y tejido miocárdico) se obtuvieron de todas las especies de los reservorios potenciales. Para obtener la muestra de sangre, mediante papel filtro se absorbió la sangre periférica del corazón de cada organismo disecado, de las muestras que ya se tenían en congelación se obtuvo la sangre directamente de las muestras. La eutanización de los especímenes se realizó de acuerdo con las directrices de la Sociedad Americana de Mastozoología para el Uso de Mamíferos Salvajes en la Investigación (Sikes & Gannon 2011).

### **6.3 IDENTIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE *T. CRUZI* MEDIANTE LA EVALUACIÓN DE SANGRE POR SEROLOGÍA Y DE TEJIDOS POR MÉTODOS MOLECULARES (PCR)**

#### **6.3.1 MURCIÉLAGOS CONTROL**

Como parte del método, se buscó tener un control considerado como verdadero positivo para las muestras inmunológicas y moleculares. Por eso mismo, se capturaron dos ejemplares (un macho y una hembra) de murciélagos *Artibeus jamaicensis* en la Estación de Biología Tropical de Los Tuxtlas, Veracruz. El periodo de aclimatación duró 7 días. Durante todo el proceso fueron alimentados *ad libitum* con una mezcla de frutas variadas (Figura 4).

Se obtuvo un poco de sangre para una primera evaluación por microscopia, para buscar el morfo infectivo, y por ensayo de ELISA, para descartar que los organismos presentaran anticuerpos contra *T. cruzi*. Ninguno de los dos organismos presentó el morfo infectivo ni infección por el protozoario. Se procedió a inocularlos con la cepa menos agresiva de *T. cruzi* (cepa Ninoa) (inóculo: 300, 000 parásitos/200 µl de PBS con sangre de ratón infectado). Los ejemplares se mantuvieron en observación durante 21 días post-inoculación. Posteriormente, se obtuvo sangre mediante punción cardiaca (sin sacrificar a los organismos) para evaluar la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi*. Debido a que los organismos no resultaron positivos en las pruebas de ELISA, se prosiguió a mantenerlos en observación y evaluación por 15 días más. En el día 31 post-inoculación, la hembra se mostraba débil y presentó una hemorragia. En la disección post-mortum se observó que la hembra se encontraba grávida. Se tomaron muestras del líquido amniótico y sangre. El macho fue sacrificado 33 días post-infección. Se realizaron los ensayos de ELISA y Western Blot para ambas muestras. Los ensayos de ELISA para la hembra no

mostraban un claro positivo pero sí para el macho, ambos especímenes resultaron positivos en el ensayo de Western Blot.



Figura 4 Murciélagos silvestres (un macho y una hembra) que se mantuvieron en cautiverio para obtener los controles positivos para los ensayos de ELISA y Western Blot. Los murciélagos pertenecían a la especie *Artibeus jamaicensis*.

### 6.3.2 ENSAYOS DE ELISA

Primero, para detectar si los organismos presentaban antígenos para *T. cruzi* se realizaron ensayos por inmuno absorción ligado a enzimas (ELISA) de acuerdo al método de Sánchez et. al., 2001 con algunas modificaciones. Para la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* en ratones se usó como control positivo suero de la cepa de ratones BALB/C infectados con cepa Ninoa *T. cruzi*, 28 días post-infección. Como anticuerpo secundario se usó conjugado peroxidasa anti-ratón IgG (A9044, Sigma-Aldrich®). Como control positivo de los murciélagos se usó suero del macho silvestre infectado con cepa Ninoa *T. cruzi*, 33 días post-infección. Como anticuerpo secundario se usó el conjugado peroxidasa anti-murciélago IgG (H+L)-HRP (30816-A, Alpha Diagnostic International®). Los valores de absorbancia se determinaron con un lector para ELISA (Bio-Rad Modelo 3550®) a 490 nm. Todas las pruebas se realizaron por duplicado y en cada placa se colocaban tres controles negativos y uno positivo.

### 6.3.3 ENSAYOS DE WESTERN BLOT (WB)

Posteriormente, para confirmar la infección por *T. cruzi* se realizó la prueba de Western Blot (WB detecta mediante el peso molecular la presencia de las proteínas específicas que reaccionan al protozoario). Se analizaron sólo los organismos positivos y una proporción similar de negativos.

Los ensayos de Western Blot se realizaron según el método descrito en Sánchez et. al. 2001, con pequeñas modificaciones. Debido a la poca cantidad de eluido, las muestras de suero no fueron diluidas en leche y se colocaron directamente 200 µl de eluido por cada pozo. Para la evaluación en ratones, como anticuerpo secundario se usó el conjugado peroxidasa anti-ratón IgG (A9044, Sigma-Aldrich®), diluido 1:2000. La incubación con el anticuerpo secundario se realizó por 3 h. Como control positivo se usó a la cepa de ratones BALB/C infectados con cepa Ninoa *T. cruzi*, 28 días post-infección. Para la evaluación en murciélagos, como anticuerpo secundario se usó el conjugado peroxidasa anti-murciélago IgG (H+L)-HRP (30816-A, Alpha Diagnostic International®), diluido 1:1000. La incubación con el anticuerpo secundario se realizó por 2 h. Como control positivo se usó al macho silvestre infectado con cepa Ninoa *T. cruzi*, 33 días post-infección.

### 6.3.4 EXTRACCIÓN DE ADN Y PCR

Finalmente, aquellas muestras que resultaron positivas se confirmaron mediante el método de reacción en cadena de polimerasa (PCR) (Sturm et al. 1989; Schijman et al. 2011). Cabe destacar que sólo se consideraron como muestras positivas aquellas muestras que hubieran resultado como doble positivo de

las pruebas serológicas (tanto por ELISA como por Western Blot). Dentro de las muestras analizadas se incluyeron aquellas muestras que resultaron dudosas (negativas para una prueba serológica pero positivas para la otra prueba serológica) y también se incluyeron el doble o mismo número de muestras negativas. Este análisis permitió comprobar los métodos serológicos y, de la misma manera, tener un marco de comparación entre las tres pruebas.

Para evaluar la presencia de ADN de *Trypanosoma cruzi*, sólo se utilizó la mitad de corazón de cada organismo. A todos los corazones analizados se les hizo un corte frontal y para la extracción de ADN se utilizó la parte posterior. La extracción de ADN se realizó con dos diferentes kits comerciales: el kit DNeasy blood and tissue (QIAGEN, Qiagen, México®) y el kit Animal and Fungi preparation Kit (Jena Bioscience GmbH®).

Para el PCR de identificación de ADN de *T. cruzi* se utilizaron los oligos S121 (5'-AAATAATGTACGGG[T/G]GAGATGCATGA-3') y S122 (5'-GGTTCGATTGGGGTTGGTGAATATA-3') (Schijman et al. 2011). Estos oligos son específicos para amplificar la región altamente variable de minicírculo (300 pb, o en múltiplos de 300). Como controles negativos se utilizaron: dos blancos (agua) y ADN de corazón de ratón no infectado. Como controles positivos se utilizó ADN genómico de *T. cruzi* y ADN de corazón de un roedor previamente inoculado y sacrificado. Los murciélagos infectados y sacrificados en este proyecto también fueron evaluados mediante el mismo método.

La mezcla de reacción consistió en 2.5 µ de Buffer (10x) para PCR, 2.25 µl de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 2.4 µl de dNTPs (10 mM c/u), 66 ng de templado de cada oligonucleótido, 0.166 µl de Taq polimerasa (5 u/µl), 5 µl de ADN (250 ng) de cada una de las muestras (o agua si eran los tubos blanco) y agua estéril para aforar a un volumen de 25 µl. La mezcla para cada muestra se colocó en tubos para PCR. Posteriormente los tubos se colocaron en un termociclador MJ Research PTC-100®. La amplificación de la región del minicírculo se realizó mediante 30 ciclos. Cada ciclo consistió en 1 min a 94 °C, 1 min a 64 °C y 1 min 12 seg a 72 °C.

Los productos de PCR fueron evaluados mediante el proceso de electroforesis en geles de agarosa al 1 %. Como buffer de electroforesis se usó TAE 0.5 x. A cada carril se le agregó 8 µl de producto de PCR más 2 µl de buffer de carga. Las muestras se corrieron a 100 v. Posteriormente los geles eran teñidos con bromuro de etidio durante 10 min. Los geles eran revelados por medio de un transiluminador, se les tomaba foto y se comparaban las muestras respecto a los controles.

Debido a que el ADN del parásito se encuentra en menor cantidad respecto al ADN del mamífero, para conocer un poco más de la sensibilidad del ensayo molecular y saber si la amplificación del parásito cambiaba en algunas de las concentraciones. se decidió realizar un PCR con el control

positivo (ADN de corazón de ratón infectado) a diferentes concentraciones de ADN. Las concentraciones utilizadas para la curva fueron: 250 ng, 125 ng, 75 ng, 30 ng, 15 ng, 7 ng, 3ng.

Para corroborar la validez del ensayo y reafirmar la amplificación de la secuencia de minicírculo del parásito, todas aquellas muestras que resultaron positivas mediante PCR (más ese mismo número de muestras negativas) se repitieron en un segundo PCR de confirmación. Los PCR de confirmación se realizaron bajo las mismas condiciones de los PCR iniciales.

## 6.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### 6.4.1 EVALUACIÓN DE COLECTAS Y PREVALENCIAS

Las colectas de los organismos y sus prevalencias forman parte de series de tiempo. Se obtuvieron las prevalencias por orden de mamífero, por especie y por número de muestreo (número de organismos positivos de cada muestreo/número de organismos capturados en ese muestreo). Para conocer los intervalos de confianza de cada prevalencia se recurrió al método de Newcombe (Newcombe 1998; Correa & Sierra 2003).

Se obtuvieron las abundancias relativas (número de organismos capturados en cada muestreo/número total de organismos capturados por todo el periodo de colecta) de cada orden de mamífero por cada muestreo para poder comparar con las prevalencias correspondientes para cada muestreo.

### 6.4.2 EVALUACIÓN DE LA DINÁMICA TEMPORAL

Para evitar que las correlaciones se vieran guiadas o sesgadas por una relación intrínseca en el aumento del número de individuos se decidió observar la correlación entre las prevalencias de organismos infectados por mes contra las abundancias relativas del total de organismos capturados. De esta manera ambas cantidades son una proporción respectiva de su valor y no del mismo número. Debido a la falta de datos en algunos meses, para la modelación de temporalidad sólo se tomaron en cuenta los datos de los primeros 5 muestreos. Debido a que el parásito *T. cruzi* requiere tanto de un hospedero como de un vector para mantener su ciclo de vida, se tomaron datos previos obtenidos en el laboratorio de la chinche *Triatoma dimidiata*. Los organismos de esta especie se colectaron en una zona cercana a la zona de muestreo de los reservorios potenciales. En un trabajo previo estos organismos fueron evaluados para la presencia de *T. cruzi* mediante el método de PCR (Días Valdez, tesis en espera de correcciones). Las fechas de colecta de dichos organismos coinciden con las fechas de colecta de los reservorios potenciales. Cabe destacar respecto a los reservorios potenciales que sólo se tomaron en cuenta las prevalencias obtenidas por el ensayo de ELISA. Se realizó de esta manera para poder tener una *n* adecuada en la modelación.

Se consideraron 6 series de tiempo diferentes: abundancia relativa de roedores, abundancia relativa de quirópteros, abundancia relativa de triatominos, prevalencia de *T. cruzi* en roedores, prevalencia de *T. cruzi* en quirópteros y prevalencia de *T. cruzi* en triatominos. Y se analizaron las interacciones que pudieran tener alguna relación temporal. Las interacciones que se exploraron fueron las siguientes:

- Abundancia relativa de todos los hospederos Vs Prevalencia de *T. cruzi*:
  - Abundancia relativa de roedores Vs Prevalencia de *T. cruzi* en roedores.
  - Abundancia relativa de quirópteros Vs Prevalencia de *T. cruzi* en quirópteros.
  - Abundancia relativa de triatominos Vs Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos.
- Abundancia relativa de vectores Vs Prevalencia de *T. cruzi* en reservorios potenciales:
  - Abundancia relativa de vectores Vs Prevalencia de *T. cruzi* en roedores.
  - Abundancia relativa de vectores Vs Prevalencia de *T. cruzi* en quirópteros.
- Abundancia relativa de reservorios potenciales Vs Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos:
  - Abundancia relativa de roedores Vs Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos.
  - Abundancia relativa de quirópteros Vs Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos.
- Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos Vs Prevalencia de *T. cruzi* en reservorios potenciales:
  - Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos Vs Prevalencia de *T. cruzi* en roedores.
  - Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos Vs Prevalencia de *T. cruzi* en quirópteros.

Para tener un modelo visual de la interacción entre las series de tiempo, se modelaron las abundancias relativas y los porcentajes de prevalencia sobre el tiempo mediante un análisis de Cosinor. Este análisis captura ciclos temporales en una función sinusoidal en un modelo de regresión lineal generalizado (GLM) (Mabud et al. 2014). Esto nos permitió visualizar los patrones de temporalidad que ocurrieran durante el periodo del muestreo (1 año). Posteriormente, para tener un valor numérico de esa correlación se realizaron análisis de CCF (función de correlación cruzada). Los cuales ayudaron a entender las asociaciones entre diversas series de tiempo. El análisis de CCF se utilizó para conocer: 1) Si la correlación entre dos series de tiempo era estadísticamente significativa (ya sea una correlación positiva o una correlación negativa) y 2) cuál de los dos factores es el que antecede en el tiempo (lags, es decir, cual de los dos factores está retrasado). Si la correlación era significativa se debían analizar los lags (retrasos). Si la correlación ocurrió en lags negativos se dice que el factor “x” ocurrió antes que el factor “y”. Por el otro lado, si la correlación ocurrió en lags positivos, se dice que el factor “x” se encontró retrasado con respecto a “y” (“y” ocurrió antes que “x”) (Figura 5). Cabe mencionar que si dos puntos de naturalezas inversas (correlación negativa y correlación positiva) tocaban los intervalos de confianza (es decir ambos mostraban ser estadísticamente significativos) la relación se consideraba una relación causal no resuelta.

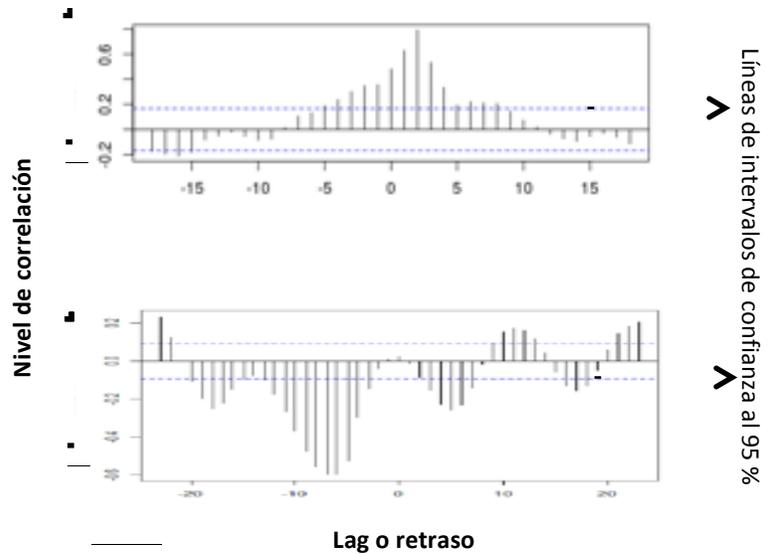
Se hicieron tres correlaciones cruzadas (CCF) de las series de tiempo, es decir, se generaron tres modelos de CCF: Datos crudos, spline 12 y splin 58. El primer modelo consistía en correlacionar los datos

(prevalencias y abundancias relativas) crudos pero la poca cantidad de puntos en el tiempo (5) podía afectar a las correlaciones y al mismo tiempo no encontrar ninguna señal entre las series de tiempo. Por lo que se recurrió a una herramienta matemática llamada spline, se basa en una interpolación matemática; la interpolación es un procedimiento matemático que permite estimar los posibles valores que toma una función dentro de un intervalo establecido. Las funciones spline son ecuaciones cúbicas que permiten modelar el comportamiento las curvas dentro de una serie de datos o de tiempo, es decir, permite unir de forma continua y suave una serie de puntos (Sheid 1991). Con ayuda del método de spline se obtuvieron los otros dos modelos de correlación cruzada (CCF), el segundo modelo con 12 interpolaciones y el tercero, con 53 interpolaciones. Para considerar que existiera una relación real entre los patrones los tres modelos debían presentar el mismo tipo de correlación y un patrón similar en los lags.

Los cuatro modelos (Cosinor, spline en crudo, spline con 12 interpolaciones y spline con 53 interpolaciones) se compararon entre sí. Esto permitió evaluar si existía alguna relación temporal o alguna señal de esa relación entre las diferentes series de tiempo. Los modelos de Cosinor se realizaron con el paquete "Cosinor" en la plataforma Rstudio. Los modelos CCF se realizaron en la plataforma de Rstudio con la función "CCF".

- Correlación positiva:  
El factor "x" es directamente proporcional al factor "y".

- Correlación negativa:  
El factor "x" es indirectamente proporcional al factor "y".



- Lag negativo:  
El factor "x" ocurre antes que el factor "y".

- Lag positivo:  
El factor "x" está retrasado respecto al factor "y" ("y" ocurre antes).

Figura 5 Explicación y ejemplo de los modelos de correlación cruzada (CCF) que se utilizaron para modelar diferentes interacciones de series de tiempo. Se utilizaron tres diferentes modelos de CCF: 1) Con los datos en crudo, 2) Una interpolación de 12 datos 3) Una interpolación de 53 datos.

## 6.5 MODELOS DE DINÁMICA DE ENFERMEDADES

Para conocer más sobre la dinámica de la enfermedad de Chagas en poblaciones silvestres se construyeron modelos de compartimentos. Se partió del modelo básico SI (Individuos Susceptibles – Individuos Infectados). Se desarrolló un modelo “nulo” SI para tres hospederos. De estos, dos son reservorios silvestres (murciélagos y ratones) y un vector de procedencia doméstica y peridoméstica (chinche triatamina). Los datos de triatominos se obtuvieron de bases de datos de campo del laboratorio de Sistemas de Información Geográfica, Instituto de Biología y de análisis realizados por el Instituto de Investigaciones Biomedicas, ambas instituciones pertenecen a la UNAM. Los modelos de dinámica de enfermedades se desarrollaron bajo la asesoría del Dr. Benjamin Roche, en el Instituto de Investigación para el Desarrollo (IRD, por sus siglas en francés) en Montpellier, Francia. El primer modelo (“nulo”) se desarrolló con los siguientes supuestos El primer modelo se desarrolló bajos los siguientes supuestos (Figura 6):

1. Todos los individuos tienen la misma probabilidad de sobrevivir y morir (no hay diferencias entre géneros y edades).
2. No hay individuos recuperados ni muertos a causa de la enfermedad.
3. La tasas de natalidad y mortalidad se mantienen constantes a través del tiempo (igual número de nacimientos y muertes).
4. Debido a los hábitos de vida de los murciélagos y a la baja tasa efectiva de transmisión del parásito mediante la picadura del vector ( $2 \times 10^{-4}$  en cobayos) (Nouvellet et al. 2015), se asume que los murciélagos no son altamente capaces de infectar a las chinches triatominas pero los murciélagos pueden infectarse a través del consumo del vector.
5. Se asumen diferentes tasas de infección para roedores y murciélagos:
  - a. En el caso de los roedores suponemos una transmisión simétrica frecuento-dependiente, donde roedores pueden infectar a los vectores y viceversa, con la misma tasa de contacto.
  - b. En el caso de los murciélagos (como ya se mencionó) suponemos una transmisión asimétrica denso-dependiente, donde sólo los murciélagos se pueden infectar al consumir el vector. Este supuesto resulta un sesgo pero debido a la baja evidencia que se tiene de la transmisión de Chagas en murciélagos, asumir una transmisión simétrica haría más complejo el modelo, además de no tener una clara evidencia de que los murciélagos estén en un contacto constante con las chinches.

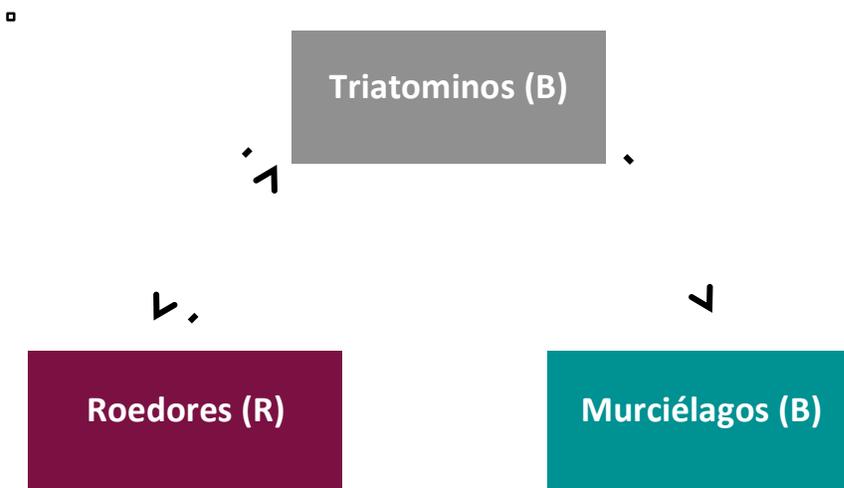


Figura 6 Representación gráfica del modelo SI para tres hospederos: un vector y dos reservorios.

La tasa de transmisión se construyó a partir de la siguiente fórmula.

$$\begin{aligned} \text{Roedores: } \lambda_{R-V} &= aS_V \frac{I_R}{(N_R)^{q_1}} & \lambda_{V-R} &= aS_R \frac{I_V}{(N_V)^{q_1}} \\ \text{Quirópteros: } \lambda_{B-V} &= bS_V \frac{I_B}{(N_B)^{q_2}} = 0 & \lambda_{V-B} &= bS_B \frac{I_V}{(N_V)^{q_2}} \end{aligned}$$

donde,  $a$  es la tasa de transmisión entre roedores y vectores; y  $b$  es la tasa de transmisión entre murciélagos y vectores;  $S$  es el número individuos susceptibles (vectores  $V$ , roedores  $R$  y murciélagos  $B$ );  $I$  es el número de individuos infectados en cada categoría de hospedero;  $N$  es el número total de individuos de cada categoría de hospedero. Como asumimos que la transmisión entre roedores y vectores es frecuencia-dependiente, para la constante  $q_1$  se le asigna el valor de 1. Debido a que asumimos que la transmisión era denso-dependiente entre vectores y murciélagos, la constante  $q_2$  tiene el valor de cero. Además, como asumimos que la transmisión entre estos últimos era asimétrica, el valor de  $\lambda_{B-V}$  es cero. Para observar el cambio de individuos susceptibles e infectados a través del tiempo en cada categoría de hospedero, se generó el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\text{Vectores: } \frac{dS_V}{dt} = \mu(N_V, t) * N_V - (\lambda_{B-V} - \lambda_{R-V}) - \mu_V S_V \quad \frac{dI_V}{dt} = (\lambda_{B-V} - \lambda_{R-V}) - \mu_V I_V$$

$$\text{Roedores: } \frac{dS_R}{dt} = \mu(N_R, t) * N_R - (\lambda_{V-R}) - \mu_R S_R \quad \frac{dI_R}{dt} = (\lambda_{V-R}) - \mu_R I_R$$

$$\text{Quirópteros: } \frac{dS_B}{dt} = \mu(N_B, t) * N_B - (\lambda_{V-B}) - \mu_B S_B \quad \frac{dI_B}{dt} = (\lambda_{V-B}) - \mu_B I_B$$

donde,  $\mu(N_i, t)$  representa la entrada de individuos en la población de cada tipo de hospedero (nacimientos);  $\mu_i$  representa las salidas de individuos de la población de cada tipo de hospedero (muertes);  $S$  es el número de individuos susceptibles;  $I$  es el número de individuos infectados y  $N$  representa al número total de individuos de la población ( $S + I$ ).

Posteriormente, agregamos el supuesto de la temporalidad. Es decir, agregamos el supuesto de que el número de individuos podía fluctuar en el tiempo. La ecuación de temporalidad fue la siguiente:

$$y = \beta_0(1 + \beta_1(\text{Cos}2\pi t))$$

donde,  $\beta_{0_i} = \mu(N_i, t)$  representa la tasa de natalidad para cada tipo de hospedero;  $\beta_{1_i} = \text{amp}_i$ , es la amplitud de la temporalidad (el punto más alto que pueden alcanzar los valores de natalidad); y finalmente,  $\beta_{2_i} = \text{Freq}_i$  es la periodicidad con la que ocurre cada ciclo.

Se consideró replantear el modelo y debido a que los datos empíricos son pocos se buscó ajustar los patrones temporales de los datos empíricos con los patrones temporales de los datos que resultaran del modelo. Esto se realizó por medio de análisis de series temporales. Para obtener un patrón de los datos empíricos se formó una serie de tiempo extrapolando a 58 datos. Para conocer los patrones de temporalidad y la correlación temporal entre factores se realizaron análisis de correlación cruzada mediante la función CCF en R. Los factores que se correlacionaron fueron:

1. Abundancia triatominos Vs Prevalencia en triatominos.
2. Abundancia roedores Vs Prevalencia en triatominos.
3. Abundancia triatominos Vs Prevalencia en roedores.

Posteriormente se recurrió a generar modelos teóricos donde se suponían diferentes escenarios. En el desarrollo de los modelos teóricos más complejos sólo se tomaron en cuenta los datos reales de uno de los dos reservorios potenciales. Sólo se consideró para el ajuste de los modelos teóricos más complejos al roedor, por ser considerado un reservorio potencial competente capaz de transmitir al parásito.

## 7 RESULTADOS

### 7.1 ORGANISMOS CAPTURADOS

En total se hicieron 9 muestreos (Cuadro 1) equivalentes a un esfuerzo de muestreo de 27 noches (murciélagos: 135 horas/red, roedores: 351 horas/trampa), en esos muestreos se capturaron un total 233 mamíferos. De los cuales, 44 pertenecen al orden Rodentia. Se reconocieron tres especies de roedores. La especie más abundante fue *Heteromys desmarestianus* ( $n = 21$ ) (Cuadro 2). Del orden Chiroptera se colectaron un total de 189 ejemplares pertenecientes a 17 especies. La especie más abundante fue *Artibeus jamaicensis* ( $N = 116$ ) (Cuadro 2). El muestreo con mayor número de organismos fue el número 9, que equivale al mes de mayo del 2015; este seguido por el muestreo número 4, que corresponde al mes de noviembre del 2012. El muestreo con menor número de capturas es el muestreo 7, correspondiente al mes de marzo del 2014 Cuadro 1. Cabe destacar que en este muestreo sólo se capturaron 5 ejemplares de murciélagos (Figura 7). En proporción para todos los muestreos se capturó un mayor número de murciélagos que de roedores (Figura 7).

Cuadro 1 Lista de muestreos realizados durante todo el periodo del estudio.

Número de muestreo	Mes de muestreo	Año de muestreo	Número de mamíferos colectados
1	abril	2012	13
2	junio	2012	17
3	agosto	2012	28
4	noviembre	2012	38
5	abril	2013	12
6	mayo	2013	18
7	marzo	2014	5
8	agosto	2014	25
9	mayo	2015	77

Se indica el número de muestreo, el mes y año en el que se realice y el número total de mamíferos colectados.

Cuadro 2 Lista de organismos capturados del orden Rodentia y Chiroptera

Orden	Especie	N
Rodentia	<i>Peromyscus mexicanus</i>	19
	<i>Heteromys desmarestianus</i>	21
	<i>Dasyprocta mexicana</i>	1
	NI	3
		<b>44</b>
Chiroptera	<i>Artibeus jamaicensis</i>	116
	<i>Carollia sowelli</i>	30
	<i>Sturnira lilium</i>	10
	<i>Carollia perspicillata</i>	6
	<i>Desmodus rotundus</i>	5
	<i>Artibeus toltecus</i>	5
	<i>Platyrrhinus helleri</i>	4
	<i>Artibeus phaeotis</i>	3
	<i>Glossophaga commissarisi</i>	2
	<i>Pteronotus parnelli</i>	1
	<i>Mormoops megalophylla</i>	1
	<i>Hylonycteris underwoody</i>	1
	<i>Glyphonycteris sylvestris</i>	1
	<i>Choeromiscus godmani</i>	1
	<i>Chiroderma salvini</i>	1
	<i>Artibeus watsoni</i>	1
	<i>Artibeus literatus</i>	1
		<b>189</b>
	<b>233</b>	

Del orden Rodentia se capturaron 41 ejemplares pertenecientes a tres especies. Del orden Chiroptera se capturaron 189 individuos pertenecientes a 18 especies. NI: No identificado

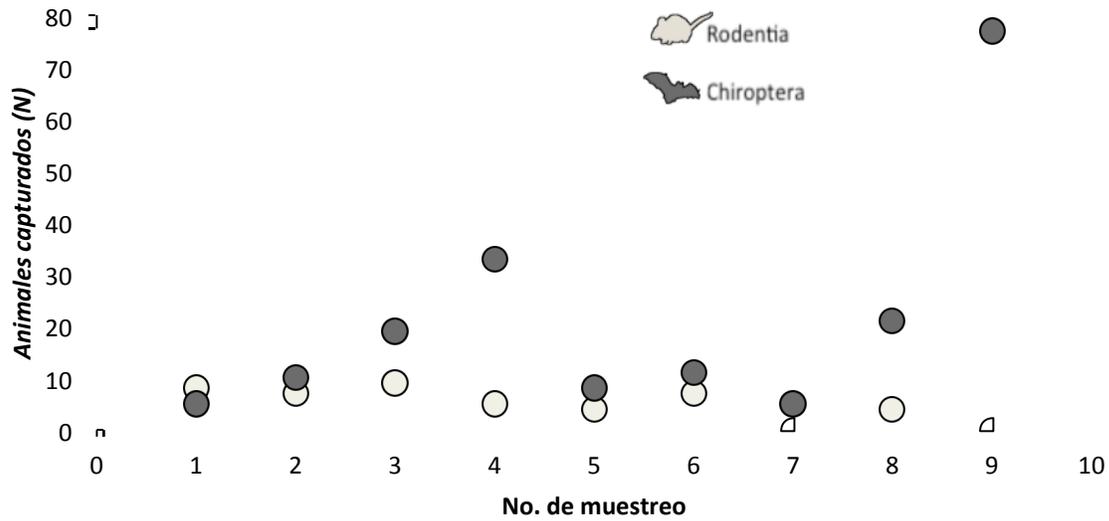


Figura 7 Número de organismos capturados por muestreo y de acuerdo al orden de mamíferos al que pertenecen. El muestreo 7 y 9 no se capturó ningún roedor.

## 7.2 ANÁLISIS SEROLÓGICO

### 7.2.1 ENSAYOS DE ELISA

Se analizaron 223 muestras de eluidos de sangre por el método serológico de ELISA, algunos organismos no fueron analizados mediante ELISA ni WB debido a que no existía una muestra abundante de eluido. Se detectaron un total de 49 organismos positivos (Rodentia = 12; Chiroptera = 37) (Figura 8, Cuadro 3, Cuadro 4). La prevalencia en roedores (27.91 %, IC 95 %: 15.33, 43.67) por todo el muestreo y por una sola prueba serológica (ELISA) resultó más elevada que en murciélagos (20.56 %, IC 95 %: 14.91, 27.20) (Figura 8), aunque esa diferencia no fue estadísticamente significativa (Cuadro 3, Cuadro 4).

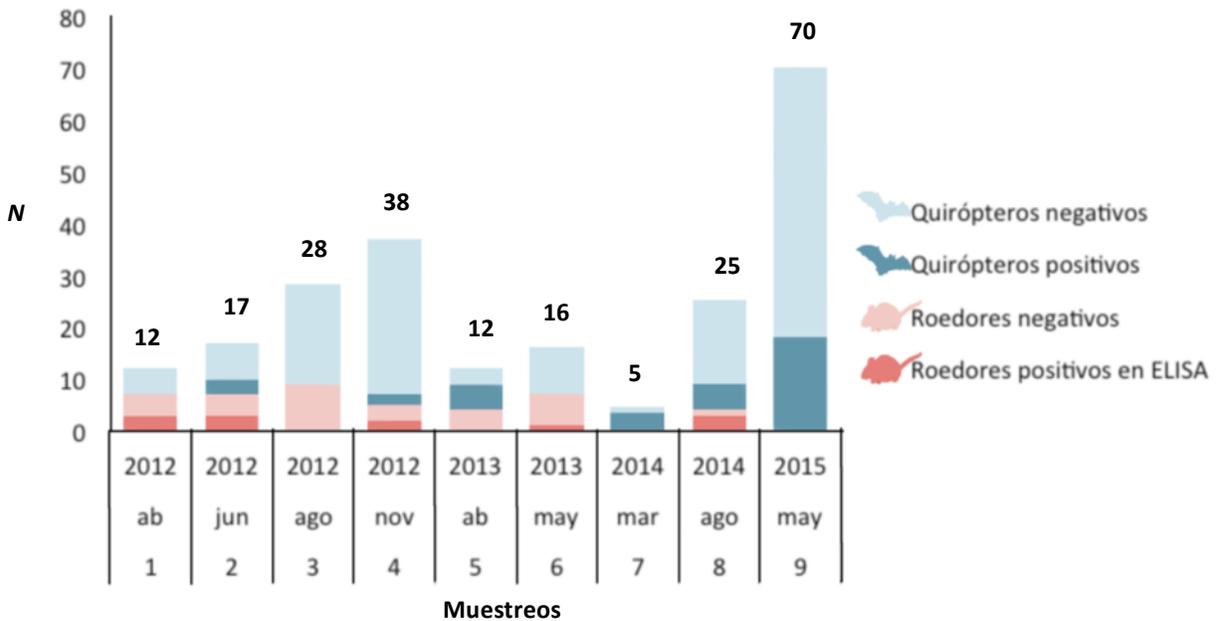


Figura 8 Número de muestras de organismos que resultaron positivos o negativos para la presencia de anticuerpos anti *T. cruzi* por el ensayo de ELISA. Los valores se observan por cada muestreo. La prevalencia en roedores (27.91 %, IC 95 %: 15.33, 43.67) fue más elevada que en murciélagos (20.56 %, IC 95 %: 14.91, 27.20).

Respecto a los análisis del orden Rodentia, el único ejemplar capturado de *Dasyprocta mexicana* resultó negativo para anticuerpos anti *T. cruzi*. La especie *Peromyscus mexicanus* ( $N = 19$ ) presentó una mayor prevalencia (31.58 %, IC 95 %: 12.58, 56.55) que la especie *Heteromys desmarestianus* (30 %, IC: 11.89-54.27) (Cuadro 3). El muestreo con mayor porcentaje de organismos positivos para la prueba de ELISA fue el octavo (agosto 2014, prev = 75 %, IC 95 %: 19.41, 99.37), aunque esa diferencia no fue estadísticamente significativa con respecto a los otros muestreos (Figura 9).

Cuadro 3 Especies de roedores capturadas de una región de los Tuxtlas y los resultados del ensayo de ELISA contra antígenos de *T. cruzi*.

Especie	+	-	Total	Positivos por ELISA (%)
<i>Peromyscus mexicanus</i>	6	13	19	31.58 (13.58 – 56.55)
<i>Heteromys desmarestianus</i>	6	14	20	30.0(11.89 – 54.27)
<i>Dasyprocta mexicana</i>	0	1	1	0
NI	0	3	3	0
	<b>12</b>	<b>31</b>	<b>43</b>	<b>27.91(15.33 – 43.67)</b>

Individuos positivos y negativos contra antígenos de *T. cruzi*. Se muestran las prevalencias con sus respectivos intervalos de confianza al 95 %.

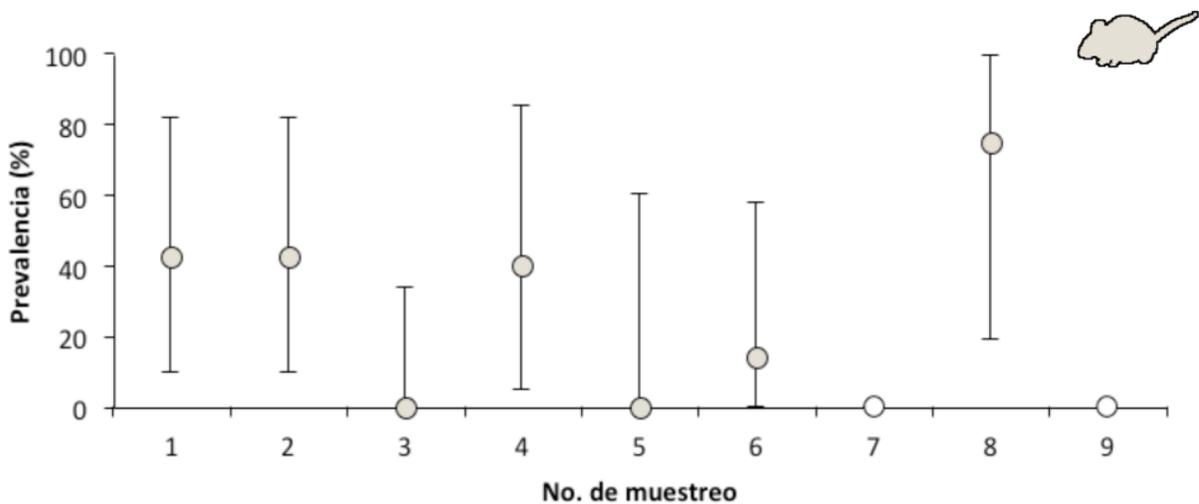


Figura 9 Prevalencias de acuerdo a la prueba de ELISA en el orden Rodentia por cada muestreo. La mayor prevalencia ocurrió en el octavo muestreo 75 % (IC 95 %: 21.9, 99). Los marcadores sin rellenar representan cero capturas.

Los análisis del orden Chiróptera, sólo cinco especies presentaron al menos un individuo positivo para la prueba de ELISA para *T. cruzi* (*Artibeus jamaicensis*, *Carollia perspicillata*, *Carollia sowelli*, *Desmodus rotundus* y *Sturnira lilium*). La especie que presentó mayor número de organismos positivos para la prueba de ELISA fue *Desmodus rotundus* (100 %, IC 95 %: 39.76, 100). El muestreo que presentó un mayor número de incidencia de individuos positivos para *T. cruzi* mediante la prueba de ELISA fue el séptimo (marzo 2014, prev = 80 %, IC 95 %: 28.36, 99.49) (Cuadro 4). De acuerdo a los intervalos de confianza (al 95 %) esa diferencia fue estadísticamente significativa respecto a los muestreos 3 (agosto 2012, prev = 0 %, IC 95 %: 0, 17.65) y 4 (noviembre 2012, prev = 9.09, IC 95 %: 1.91, 24.33). Aunque con el resto de los muestreos en las prevalencias no se observaron diferencias estadísticamente detectables (Figura 10).

**Cuadro 4** Especies de murciélagos capturadas en una región de los Tuxtlas y los resultados del ensayo de ELISA contra antígenos de *T. cruzi*.

<b>Especie</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Total</b>	<b>Positivos por ELISA (%)</b>
<i>Desmodus rotundus</i>	5	0	5	100.00 (47.82 – 100)
<i>Carollia perspicillata</i>	2	4	6	33.33 (4.33 – 77.7)
<i>Artibeus jamaicensis</i>	24	85	109	22.02 (14.65 – 30.97)
<i>Carollia sowelli</i>	5	24	29	17.24 (5.85 – 35.77)
<i>Sturnira lilium</i>	1	9	10	10.00 (0.25 – 44.50)
<i>Artibeus lituratus</i>	0	1	1	0
<i>Artibeus phaeotis</i>	0	3	3	0
<i>Artibeus toltecus</i>	0	5	5	0
<i>Artibeus watsoni</i>	0	1	1	0
<i>Choeromiscus godmani</i>	0	1	1	0
<i>Glossophaga commissarisi</i>	0	2	2	0
<i>Glyphonycteris sylvestris</i>	0	1	1	0
<i>Hylonycteris underwoody</i>	0	1	1	0
<i>Mormoops megalophylla</i>	0	1	1	0
<i>Platyrrhinus helleri</i>	0	4	4	0
<i>Pteronotus parnelli</i>	0	1	1	0
	<b>37</b>	<b>143</b>	<b>180</b>	<b>20.56 (14.91 - 27.20)</b>

Individuos positivos y negativos contra antígenos de *T. cruzi*. Se muestran las prevalencias con sus respectivos intervalos de confianza al 95 %.

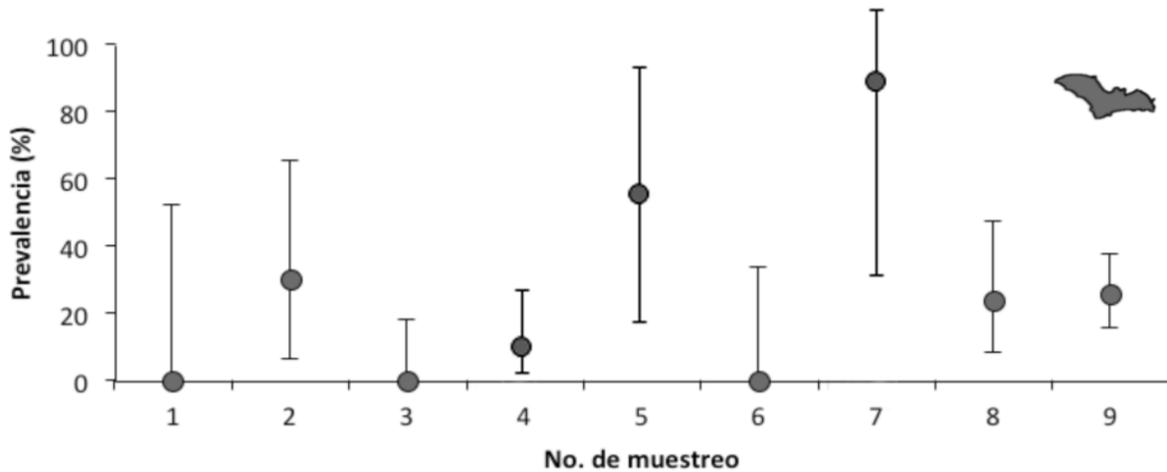


Figura 10 Prevalencias de acuerdo a la prueba de ELISA en el orden Chiroptera por cada muestreo. La mayor prevalencia ocurrió en el séptimo muestreo 80 % (IC 95 %: 28.36, 99.49).

### 7.2.2 ENSAYOS DE WESTERN BLOT

En ensayos inmunológicos en humanos para *T. cruzi* se considera que un organismo es verdadero positivo cuando en los dos ensayos serológicos (ELISA y Western Blot) se obtiene un resultado positivo. Los resultados de los ensayos serológicos de Western Blot mostraron que el número de organismos positivos se redujo considerablemente. Respecto a los roedores se detectaron un total de 5 organismos positivos de 19 analizados por WB pero uno de esos resultados positivos fue negativo para el análisis serológico de ELISA, se descartaron como positivos a 8 organismos que habían sido detectados por el método de ELISA. Respecto a los murciélagos durante el ensayo de Western Blot, de 51 organismos analizados, se detectaron solamente 4 organismos positivos, se descartaron como positivos a 29 sueros que habían sido detectados por el método de ELISA (Cuadro 5).

Cuadro 5 Organismos analizados para Western Blot de los dos órdenes y la prevalencia obtenida para el análisis de Western Blot.

Orden	+	-	Total	Prevalencia para WB
Rodentia	5*	14	19	26.32 (9.15- 51.20)
Chiroptera	4	61	65	6.15 (1.7-15.01)

La prevalencia se muestra con los intervalos de confianza al 95 %. La prevalencia se muestra por todo el periodo de muestreo (9 muestreos durante dos años y medio).\*Uno de los organismos positivos para WB fue un resultado negativo para el ensayo de ELISA.

**Cuadro 6 Especies de roedores analizadas para Western Blot y la prevalencia obtenida para el análisis de Western Blot.**

Especie	+	-	Total	Prevalencia para WB
<i>Peromyscus mexicanus</i>	4	4	8	50 %
<i>Heteromys desmarestianus</i>	1	9	10	10%
NI	0	1	1	0

La prevalencia se muestra por todo el periodo de muestreo (9 muestreos durante dos años y medio). \*Uno de los organismos positivos para WB fue un resultado negativo para el ensayo de ELISA.

**Cuadro 7 Especies de murciélagos analizadas para Western Blot y la prevalencia obtenida para el análisis de Western Blot.**

Especie	+	-	Total	Prevalencia para WB
<i>Artibeus jamaicensis</i>	3	31	34	8.82 %
<i>Carollia sowelli</i>	1	11	12	8.33 %
<i>Artibeus phaeotis</i>	0	2	2	0
<i>Artibeus toltecus</i>	0	1	1	0
<i>Carollia perspicillata</i>	0	2	2	0
<i>Desmodus rotundus</i>	0	4	4	0
<i>Glossophaga commissarisi</i>	0	2	2	0
<i>Glyphonycteris sylvestris</i>	0	1	1	0
<i>Platyrrhinus helleri</i>	0	1	1	0
<i>Sturnira lilium</i>	0	5	5	0

La prevalencia se muestra por todo el periodo de muestreo (9 muestreos durante dos años y medio). \*Uno de los organismos positivos para WB fue un resultado negativo para el ensayo de ELISA.

### 7.2.3 PREVALENCIAS POR SEROLOGÍA

De acuerdo a que sólo se consideraron como verdaderos positivos a los sueros que resultaron positivos en ambos ensayos (7.2.2), la prevalencia de organismos confirmados para los roedores resultó de 9.3 % (IC 95 %: 2.59, 22.14). Esta, fue mayor que la prevalencia para quirópteros confirmados, que resultó de 2.29 % (IC 95 %: 0.63, 5.75) (Cuadro 8, Figura 11).

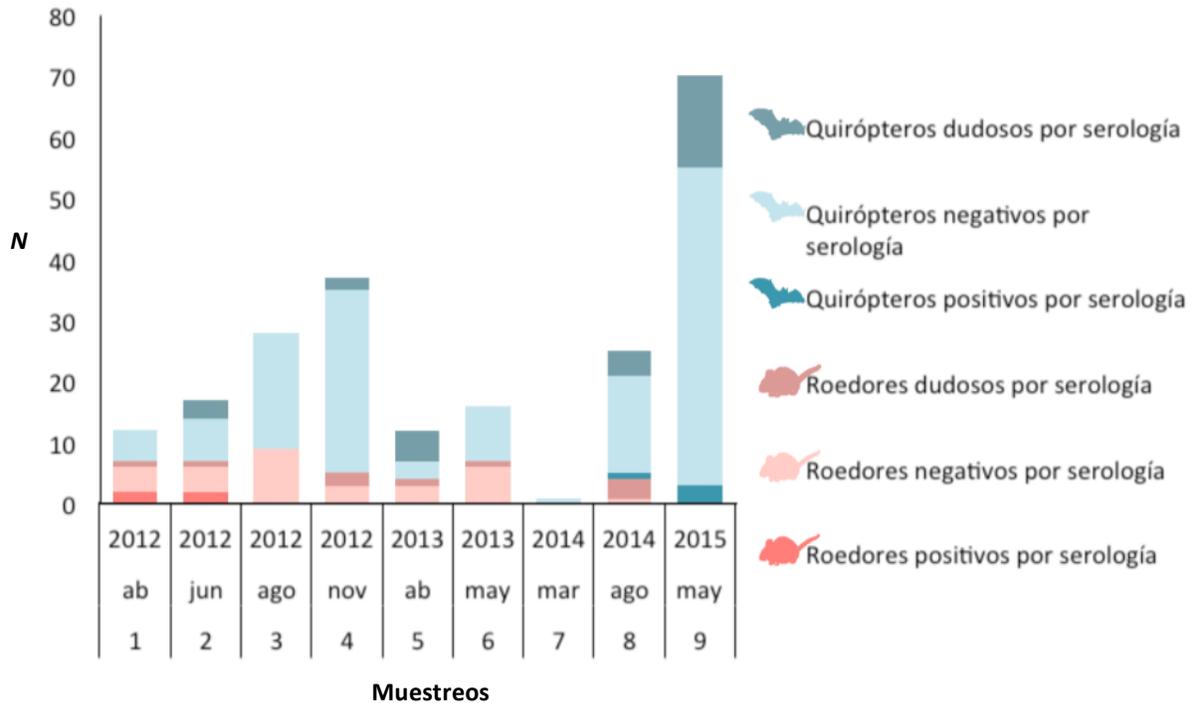
Algunos de los organismos que fueron evaluados mediante serología se clasificaron como organismos dudosos. Es decir, estos organismos resultaron como positivos mediante una prueba (ya sea ELISA o Western Blot) pero negativos mediante la otra prueba. Se observaron quirópteros positivos dudosos para anticuerpos contra *T. cruzi* en los muestreos 2, 4, 5, 8 y 9. Roedores positivos dudosos contra *T. cruzi* se observaron solamente en los muestreos 1 y 2. De los cuatro roedores confirmados como positivos, tres pertenecieron a la especie *Peromyscus mexicanus* y uno a la especie *Heteromys demarestianus*. De los cuatro quirópteros considerados como positivos confirmados, tres pertenecen a la especie *Artibeus jamaicensis* y uno pertenece a la especie *Carollia sowelli* (Figura 11).

Los únicos muestreos que presentaron roedores confirmados positivos fueron el 1 y el 2 la prevalencia de ambos muestreos fue de 28.57 % (IC 95 %: 3.67, 70.96) (Figura 12). Respecto a los quirópteros sólo en el muestro 8 y el muestreo 9 se observaron organismos confirmados como positivos por serología. En el 8 se obtuvo una prevalencia de 4.76 % (IC 95 %: 0.12, 23.82) y en el 9 de 4.29 %, IC 95 %: 0.89, 12.02). Las prevalencias en quirópteros por muestreo resultaron más bajas que las prevalencias en roedores. Aunque los intervalos de confianza muestran que esa diferencia no fue estadísticamente significativa (Figura 12).

**Cuadro 8 Organismos considerados verdaderos positivos (respecto a todos los organismos examinados mediante serología).**

Orden	+	-	Total	Prevalencia (%)
Rodentia	4	39	43	9.3 (2.59, 22.14)
Chiroptera	4	171	175	2.29 (0.63,5.75)

La prevalencia se muestra con los intervalos de confianza al 95 %. La prevalencia se muestra por todo el periodo de muestreo (9 muestreos durante dos años y medio).



**Figura 11** Número de muestras de organismos que resultaron positivos, negativos o dudosos mediante métodos serológicos (ELISA y Western Blot) durante los nueve muestreos. Los valores se observan por cada muestreo. La prevalencia en roedores (9.3 %, IC 95 %: 2.59, 22.14) fue más elevada que en murciélagos (2.29 %, IC 95 %: 0.63, 5.75). Aunque al observar los intervalos de confianza esa diferencia no es estadísticamente significativa.

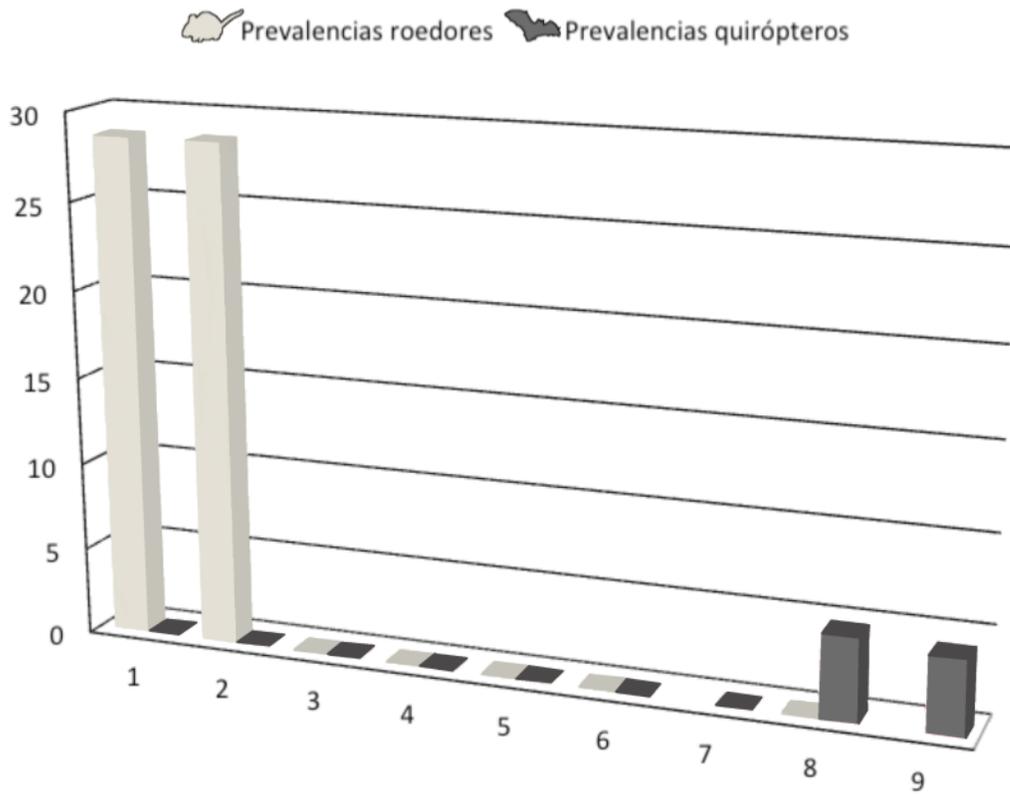


Figura 12 Prevalencias de ambos órdenes (Rodentia y Chiróptera) por cada muestreo y por ambos métodos serológicos. Para los roedores, el muestreo 1 (abril 2012, 28.57 %, IC 95 %: 3.67, 70.96) y 2 (junio 2012, 28.57 %, IC 95 %: 3.67, 70.96) fueron los únicos que presentaron organismos positivos confirmados. En el muestreo 7 y 9 no se capturó ningún roedor. Los quirópteros sólo presentaron organismos positivos confirmados por serología en los muestreos 8 (agosto 2014, 4.76 %, IC 95 %: 0.12, 23.82) y 9 (mayo 2015, 4.29 %, IC 95 %: 0.89, 12.02).

## 7.4 ANÁLISIS MOLECULAR

### 7.4.1 IDENTIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE *TRYPANOSOMA CRUZI* POR MEDIO DE PCR

Las diferentes diluciones de DNA realizadas con el control positivo (ratón infectado) no mostraron diferencias en el producto amplificado entre cada dilución. Sólo en las concentraciones más bajas (7 y 3 ng) no se observó un amplificado del parásito (Figura 13). Lo que significa que la sensibilidad del PCR podía detectar hasta 15 ng/μL, esto es una medida indirecta ya que los ratones control fueron infectados con un inóculo de 300,000 parásitos/20 μL.

Por el método de PCR se detectaron 10 organismos positivos para la presencia de *T. cruzi*; todos. Todos estos organismos pertenecían al orden Chiroptera (Figura 14). Ninguno de los roedores evaluados mediante PCR apareció como positivo. Dos de las muestras evaluadas mediante este método mostraron un resultado discordante, es decir, fueron positivas en los primeros PCR pero negativas en el PCR de confirmación (Cuadro 9). La prevalencia obtenida por este método para los roedores fue de 0 % (IC 95 %: 0, 22.14). A diferencia de los métodos serológicos en el caso de los quirópteros la prevalencia fue mayor 13.70 % (IC 95 %: 6.77 - 23.75). Tres especies resultaron positivas mediante este análisis: *Artibeus jamaicensis* (N = 6), *Carollia sowelli* (N = 3) y *Carollia perspicillata* (N = 1). Los resultados de organismos positivos por PCR no coinciden con aquellos organismos detectados como positivos por métodos serológicos. Sólo coincidieron dos organismos de la especie *Artibeus jamaicensis* y uno de la especie *Carollia sowelli*. La mayoría de los organismos que resultaron negativos por serología coincidieron con el resultado obtenido por PCR. A pesar de ello los porcentajes de organismos positivos y negativos se mantuvieron constantes en cada método (Figura 15).

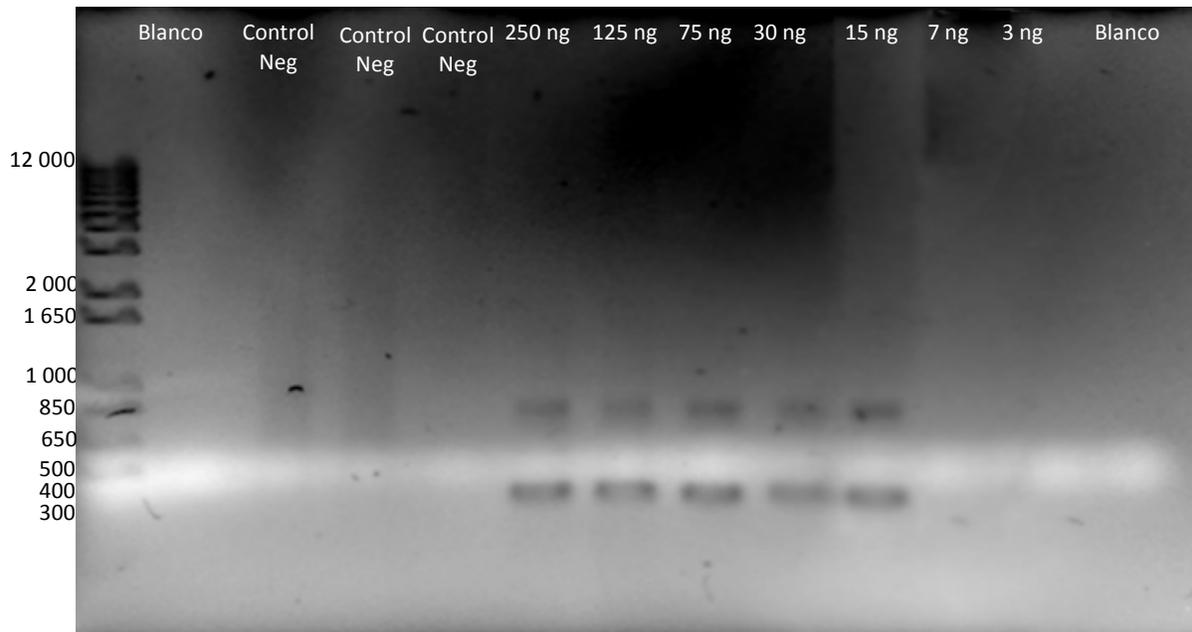


Figura 13 PCR de gradientes realizado con diferentes diluciones de DNA de la muestra control (ratón infectado). Las concentraciones fueron las siguientes: 250 ng, 125 ng, 75 ng, 30 ng, 15 ng, 7 ng y 3 ng. Se incluyeron tres controles negativos y dos blancos.

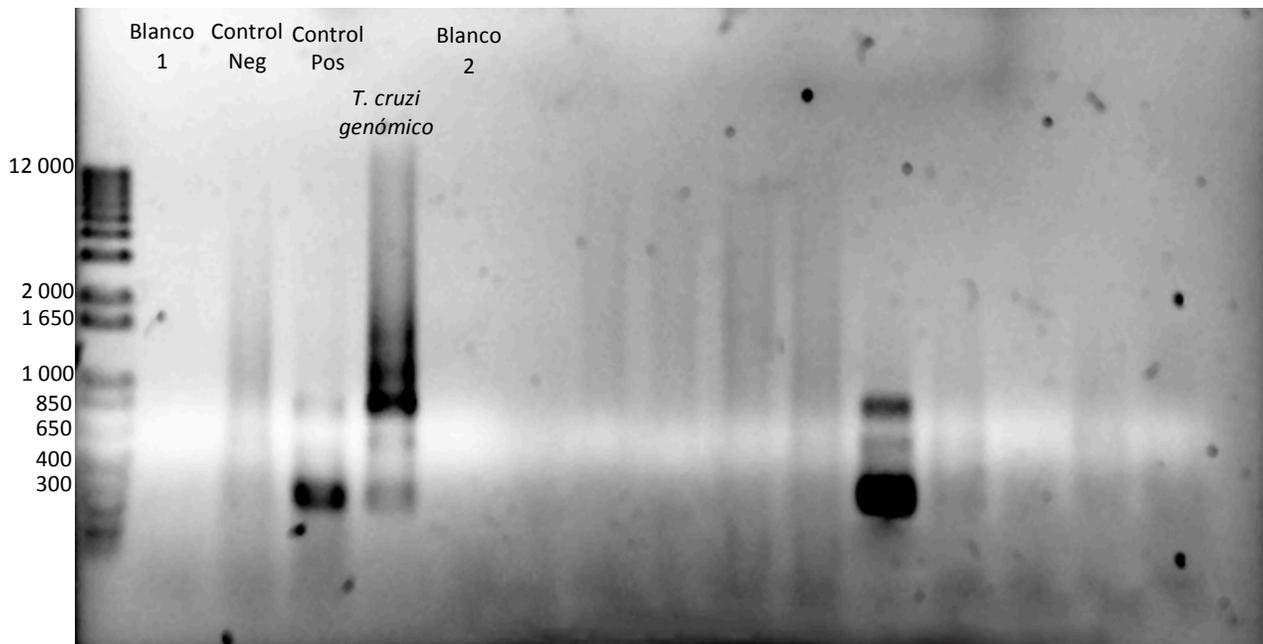
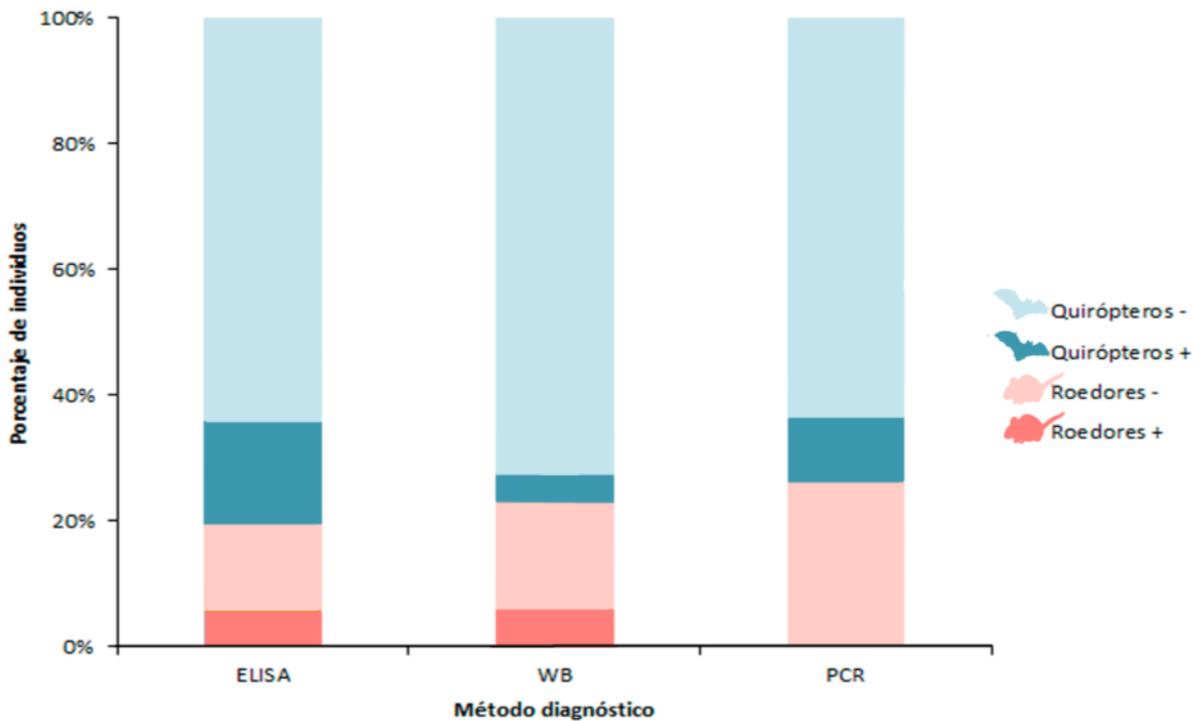


Figura 14 PCR ejemplo de los PCR realizados en este estudio para detectar la presencia de ADN del parásito *Trypanosoma cruzi* mediante la amplificación de la región de minicírculo del cinetoplasto del protozoario.

**Cuadro 9 Organismos analizados de los dos órdenes de mamíferos por PCR para la presencia de ADN de *T. cruzi*.**

Orden	+	-	Total	Prevalencia (%)
Rodentia	0	25	25	0 (0-22.14)
Chiroptera	10	61	73	13.70 (6.77 -23.75)

La prevalencia se muestra con los intervalos de confianza al 95 %. La prevalencia se muestra por todo el periodo de muestreo (9 muestreos durante dos años y medio).



**Figura 15** Porcentaje de organismos detectados como positivos o negativos por cada método diagnóstico realizado en este trabajo (ELISA, Western Blot y PCR).

## 7.5 DINÁMICAS TEMPORALES

Para evaluar las posibles interacciones entre las distintas dinámicas temporales se recurrió a los análisis de Cosinor (ajuste a función de Coseno) y CCF (o funciones de correlación cruzada que evalúan las correlaciones temporales con respecto a los retrasos o lags de los eventos) (7.5 Dinámicas Temporales). Para estos análisis se utilizaron los datos de serología de los ensayos de ELISA (7.2.1 Ensayos de ELISA)

### 7.5.1 ABUNDANCIA INDIVIDUOS CONTRA PREVALENCIA DE *T. CRUZI*

Primero se evaluó la dinámica temporal entre la abundancia de los individuos: roedores, quirópteros y triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* en cada uno de esos individuos con (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, Figura 16, Figura 17).

**En el análisis de la interacción entre la abundancia de roedores y la prevalencia de *T. cruzi* en roedores**, la abundancia de roedores pareció ser inversamente proporcional a la prevalencia de *T. cruzi*, ambas series de tiempo parecieron ser opuestas al ser modeladas en una regresión ajustada a la función de coseno. Esto quiere decir que en el punto más alto de abundancia relativa para los roedores se encontraba el punto más bajo de prevalencia de *T. cruzi* en ratones (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.B**). En el análisis con la función de correlación cruzada (CCF) se observó que para la *N* de datos en crudo (5 puntos en el tiempo) no existió una correlación estadísticamente detectable. Al realizar un segundo CCF, con una interpolación de 12 puntos en el tiempo, no se observó ninguna relación estadísticamente detectable. La única correlación estadísticamente detectable se observó hasta que se tuvieron 53 puntos en el tiempo (interpolación 53) (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.AIII**). La mayor correlación ocurrió en el lag + 2, con una correlación negativa (- 0.472), esto significa que si en  $t_0$  existiera un número alto de roedores infectados, aproximadamente después de 2 lapsos en el tiempo, existiría una disminución en la abundancia de los roedores. Cabe resaltar que el nivel de correlación no fue elevado (0.472) y debido a que se observó que dos puntos de naturaleza inversa (uno correlación negativa y otro correlación positiva) alcanzaron los intervalos de confianza se consideró una relación de causalidad no resuelta (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.AIII**).

**Los análisis de la abundancia de quirópteros contra la prevalencia de *T. cruzi* en estos**, la relación mostró un comportamiento similar al de los roedores, en los puntos donde hubo menores abundancias relativas se observó también una mayor prevalencia de *T. cruzi* en quirópteros. Los CCFs de esta interacción no mostraron una correlación estadísticamente significativa para la *N* de datos crudos pero sí se observó una correlación significativa para las interpolaciones 12 y 53 (Figura 16A). Ambos

modelos de CCF mostraron un lag negativo y una correlación positiva (interpolación 12: lag -4, correlación 0.804; interpolación 53: lag -14, correlación 0.792). Sin embargo, para la interpolación 53 se observó una correlación no resuelta debido a que dos puntos del nivel de correlación de signos opuestos tocaron la línea de valores de significancia (Figura 16AIII). Además, cabe destacar que los resultados del modelo de Cosinor (Figura 16B) y CCF no coinciden, por lo cual si esas dinámicas temporales estuviera relacionadas, probablemente sería una relación difusa. Debido al pobre sustento estadístico, esta interacción no se consideró como una asociación posible (Figura 16).

**Respecto a la correlación entre la temporalidad de abundancia de los triatomos y la prevalencia de *T. cruzi* en estos** se observó una relación mayormente sincrónica. El modelo ajustado a la curva de coseno muestra una relación aparentemente positiva. En los puntos más altos de la curva de las abundancias relativas, se observa también un incremento en la prevalencia de *T. cruzi* en los triatomos (Figura 17). El primer modelo de CCF resultó estadísticamente no significativo. Las correlaciones de los modelos con interpolación 12 y 53 fueron estadísticamente significativas y similares entre sí (Figura 17A). Ambas interpolaciones arrojaron un lag positivo y una correlación positiva (interpolación 12: lag +1, correlación 0.814; interpolación 53: lag +3, correlación 0.872). Además, ambos modelos fueron estadísticamente significativos en sólo una dirección de correlación (positiva), indicando una relación de causalidad resuelta (Figura 17 AII y AIII). Esta dinámica muestra que si en el tiempo  $t_0$  existiera un aumento de triatomos infectados, aproximadamente después de 1 o 3 lapsos en el tiempo (según sea el tiempo en que se analizara la asociación), existiría un aumento en la abundancia de triatomos. Los modelos de CCF y Cosinor coincidieron en su patrón general para la relación, por lo que esta interacción se consideró como una dinámica temporal probable (Figura 17).

## Abundancia relativa quirópteros Vs Prevalencia (por ELISA) de *T. cruzi* en quirópteros

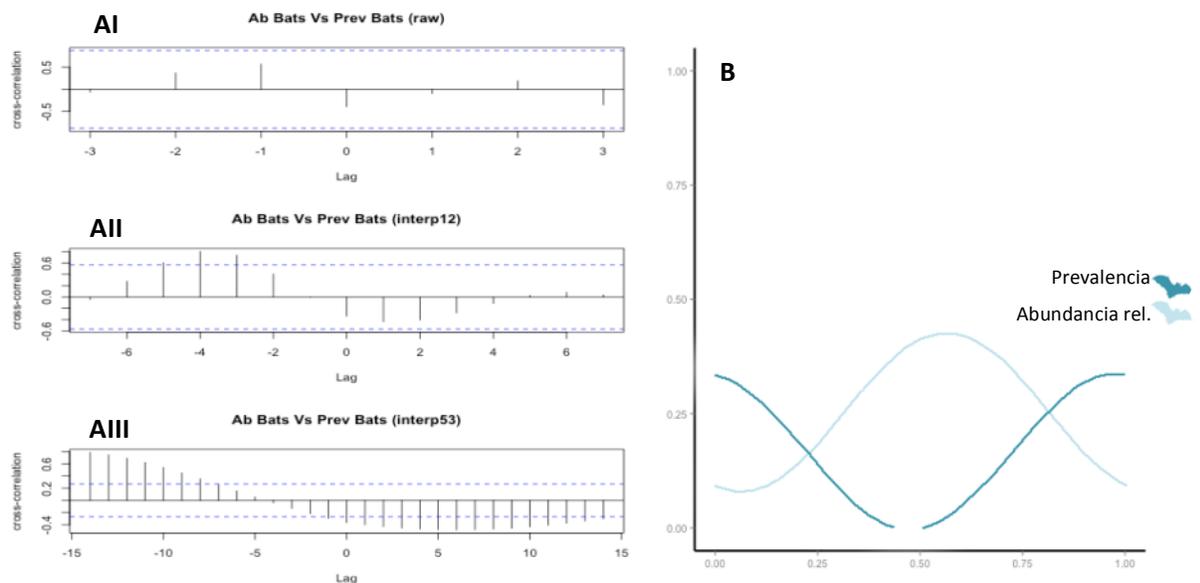


Figura 16 A) Los modelos de correlación cruzada con tres  $N$  diferentes (AI, sin interpolación; AII, interpolación a 12 puntos, AIII, interpolación a 53 puntos) para la interacción de las series de tiempo entre la abundancia relativa de quirópteros y la prevalencia de *T. cruzi* evaluada por ELISA en quirópteros. Las líneas azules son los intervalos de confianza al 95 %. B) El modelo de Cosinor para la interacción entre las series de tiempo de la abundancia relativa de quirópteros y la prevalencia de *T. cruzi* evaluada por ELISA en quirópteros. El tiempo se considero durante solamente un año.

## Abundancia relativa triatominos Vs Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos

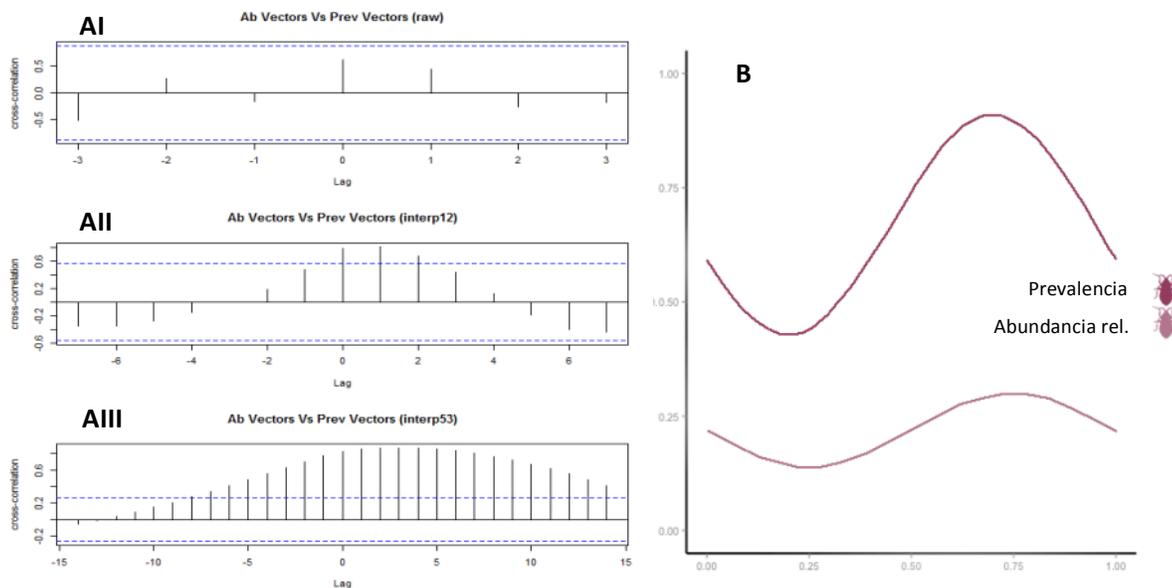


Figura 17 A) Los modelos de correlación cruzada con tres  $N$  diferentes (AI, sin interpolación; AII, interpolación a 12 puntos, AIII, interpolación a 53 puntos) para la interacción de las series de tiempo entre la abundancia relativa de triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* evaluada por PCR en otro estudio en triatominos. Las líneas azules son los intervalos de confianza al 95 %. B) El modelo de Cosinor para la interacción entre las series de tiempo de la abundancia relativa de triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* evaluada por PCR en otro estudio en triatominos. El tiempo se considero durante sólo un año.

#### 7.5.2 ABUNDANCIA RELATIVA DE TRIATOMINOS VS PREVALENCIA DE *T. CRUZI* EN RESERVORIOS POTENCIALES

En estos análisis se evaluó la interacción temporal entre la abundancia de los triatominos y la prevalencia de ambos órdenes de reservorios potenciales (Figura 18, Figura 20).

**En esta sección la primera interacción en evaluarse fue la relación entre la abundancia relativa de triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* en los roedores.** Los modelos CCF de los datos en crudo y con interpolación 12 no resultaron estadísticamente significativos. El único modelo que resultó significativo fue el de la interpolación 53 (lag +4, correlación 0.378) (Figura 18AIII). La correlación de mayor cantidad ocurrió en el lag +4 (0.378) y se observó un desfase de la interacción temporal, si en el tiempo  $t_0$  existiera un aumento en la prevalencia del parásito en roedores, 4 lapsos después, aparentemente se observaría un aumento en la abundancia de triatominos (Figura 18 AIII). Sin embargo, el resultado de esa interpolación no coincidió con el modelo de Cosinor, donde se reflejó una sincronía entre el aumento de la abundancia de triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* en roedores (Figura 18B). Estos resultados no se consideraron como contundentes porque sólo un modelo de CCF fue estadísticamente significativo, además de que no coincidió con el patrón del modelo de Cosinor.

**La segunda interacción que se evaluó en esta sección fue la abundancia relativa de *Triatoma dimidiata* y la prevalencia de *T. cruzi* en los quirópteros.** En este caso los tres modelos de CCF prácticamente fueron estadísticamente significativos (Figura 20A), la mayor correlación ocurrió en el lag 0, con una correlación positiva  $> 0.7$ . Este tipo de asociación es indicativo de que las dos series coincidieron temporalmente y aparentemente una mayor abundancia de triatominos conduciría a una mayor prevalencia del parásito en quirópteros. En el modelo de Cosinor, las dos series de tiempo no parecieron ser tan sincrónicas como en los modelos de CCF, sin embargo el comportamiento de las dos series en Cosinor no fue opuesto a la dinámica reflejada en los CCF (Figura 20B). En el modelo de Cosinor se observó que la dinámica temporal de las abundancias de triatominos parecía tener un comportamiento parecido a la curva de prevalencias del parásito en los quirópteros. Tanto en el modelo de CCF, como en el de Cosinor se observó una asociación de la siguiente manera: si existiera un aumento en las abundancias de triatominos este conduciría a un aumento en las prevalencias de quirópteros (Figura 20).

## Abundancia relativa triatominos Vs Prevalencia (por ELISA) de *T. cruzi* en roedores

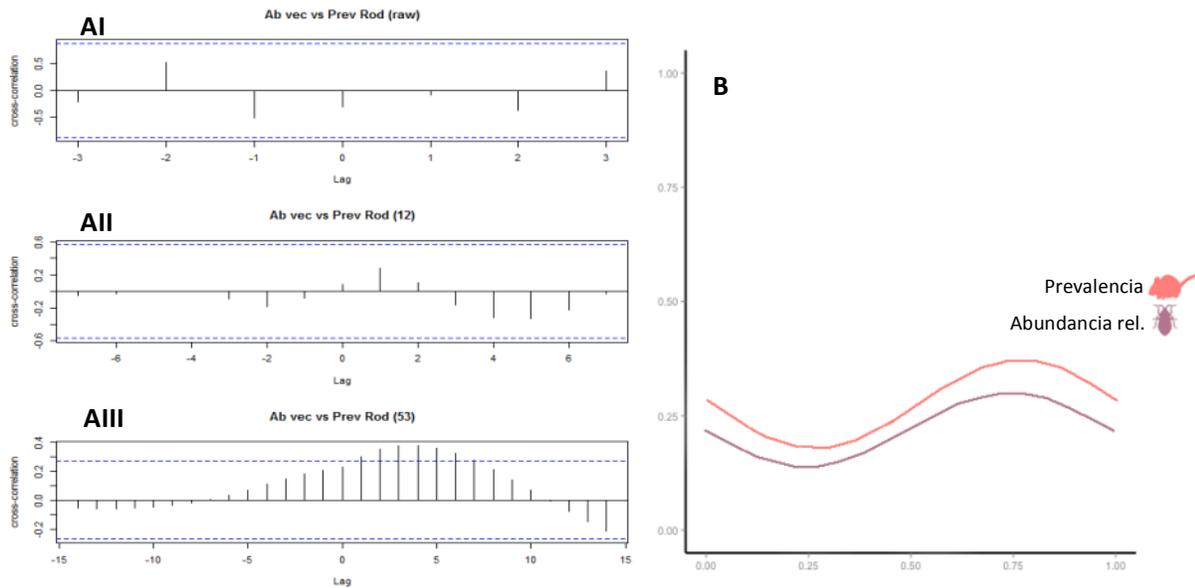


Figura 18 A) Los modelos de correlación cruzada con tres  $N$  diferentes (AI, sin interpolación; AII, interpolación a 12 puntos; AIII, interpolación a 53 puntos) para la interacción de las series de tiempo entre la abundancia relativa de los triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* en roedores. Las líneas azules son los intervalos de confianza al 95 %. B) El modelo de Cosinor para la interacción de las series de tiempo entre la abundancia relativa de los triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* en roedores. El tiempo se consideró solamente durante un año.

## Abundancia relativa triatominos Vs Prevalencia (por ELISA) de *T. cruzi* en quirópteros

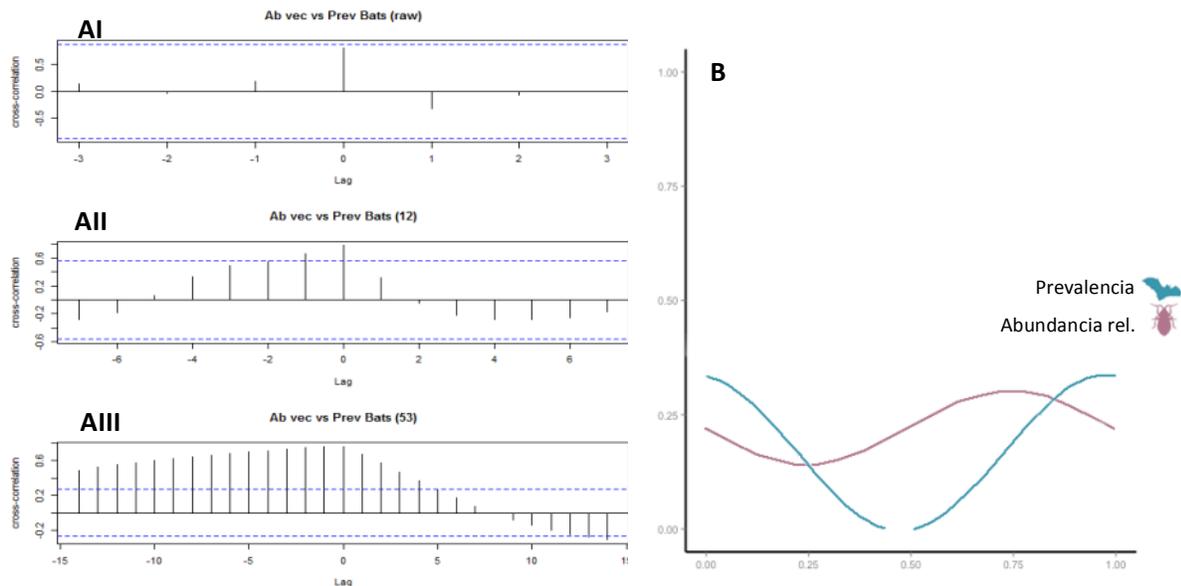


Figura 20 A) Los modelos de correlación cruzada con tres  $N$  diferentes (AI, sin interpolación; AII, interpolación a 12 puntos; AIII, interpolación a 53 puntos) para la interacción de las series de tiempo entre la prevalencia de *T. cruzi* en triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* en roedores. Las líneas azules son los intervalos de confianza al 95 %. B) El modelo de cosinor para la interacción de las series de tiempo entre la prevalencia de *T. cruzi* en triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* en roedores. El tiempo se consideró solamente durante un año.

### 7.5.3 ABUNDANCIA RELATIVA DE RESERVORIOS POTENCIALES VS PREVALENCIA DE *T. CRUZI* EN TRIATOMINOS

La siguiente relación que se analizó fue entre la abundancia relativa de los reservorios potenciales y la prevalencia de *T. cruzi* en triatominos (Figura 21 y Figura 22)

**En el análisis entre la abundancia relativa de los roedores y la prevalencia de *T. cruzi* en triatominos** se observó que los modelos CCF coincidieron y prácticamente los 3 modelos fueron significativos (el de datos crudos, mostró una correlación casi significativa negativa de -0.724) y se observaron las mismas tendencias temporales. En el mayor nivel de correlación, todos los modelos de CCF mostraron un lag positivo (datos crudos: +0, interpolación 12: +1, interpolación 53: +3) y las correlaciones de ambas interpolaciones fueron significativas y negativas (interpolación 12: -0.933, interpolación 53: -0.955) (Figura 21 A). Esta relación se interpreta de la siguiente forma: si en el tiempo  $t_0$  existiera un aumento en las prevalencias de los triatominos (más triatominos infectados), aproximadamente después de 1 o 3 lapsos en el tiempo (según sea el tiempo que se analice la relación) existiría una disminución en la abundancia de los roedores. Las dinámicas temporales modeladas por CCF y Cosinor mostraron en general un patrón similar, ya que se observó un aumento en las abundancias relativas de los roedores y una disminución en la prevalencia de *T. cruzi* en el triatominos (Figura 21 A y B). Tanto los modelos de CCF como de Cosinor mostraron un mismo patrón en la dinámica temporal, por lo es posible que esta interacción pueda ocurrir en un la zona de estudio.

**Abundancia relativa de quirópteros Vs Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos.** En el caso de los quirópteros sólo las correlaciones con interpolaciones fueron significativas (interpolación 12: lag -1, correlación 0.824; interpolación 53: lag -6, correlación 0.857). Aunque cabe destacar que en ambos modelos se observaron valores significativos para correlaciones negativas y positivas, indicando una relación de causalidad no resuelta (Figura 22 A). En el modelo de Cosinor se observó una sincronía similar (Figura 22 B), sin embargo la causalidad no resuelta en el modelo de CCF no permitió que esta interacción fuera considerada como un evento real (Figura 22 A y B).

## Abundancia relativa de roedores Vs Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos

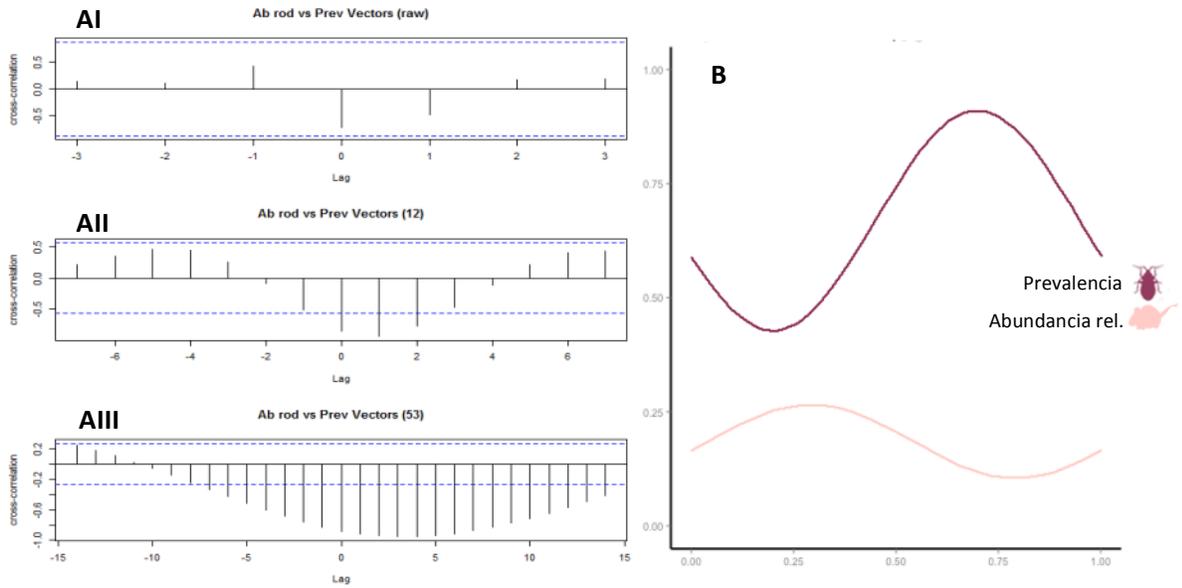


Figura 21 A) Los modelos de correlación cruzada con tres  $N$  diferentes (AII, sin interpolación; AIII, interpolación a 12 puntos; AIII, interpolación a 53 puntos) para la interacción de las series de tiempo entre la abundancia relativa de los roedores y la prevalencia de *T. cruzi* en triatominos. Las líneas azules son los intervalos de confianza al 95 %. B) El modelo de Cosinor para la interacción de las series de tiempo entre la abundancia relativa de los roedores y la prevalencia de *T. cruzi* en triatominos. El tiempo se consideró solamente durante un año.

## Abundancia relativa de quirópteros Vs Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos

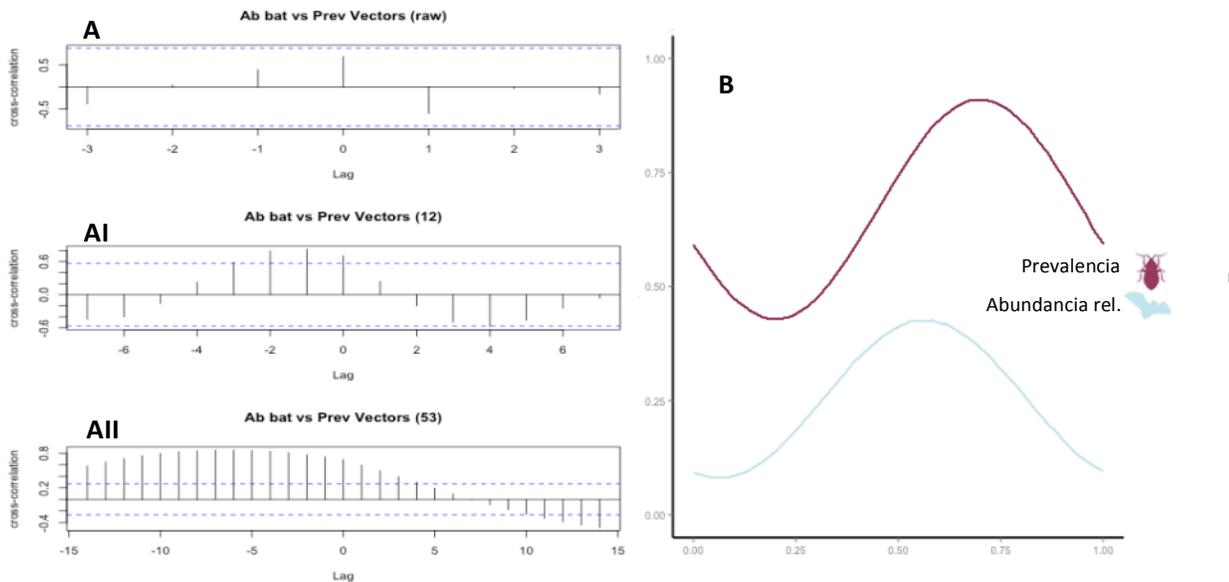


Figura 19

#### 7.5.4 PREVALENCIA DE *T. CRUZI* EN TRIATOMINOS VS PREVALENCIA DE *T. CRUZI* EN RESERVORIOS POTENCIALES

La última interacción que se analizó fue entre la prevalencia de *T. cruzi* en *Triatoma dimidiata* y la prevalencia de *T. cruzi* en los reservorios potenciales (Figura 23 y Figura 24).

**En el caso de la interacción de la dinámica entre la prevalencia de *T. cruzi* en triatomos y la prevalencia de *T. cruzi* en roedores** se observó sólo una correlación estadísticamente detectable en la interpolación 53 (lag +14, correlación -0.569). Aunque esta correlación fue significativa tanto en correlaciones negativas como positivas, indicando una relación causal no resuelta. El modelo de Cosinor no coincidió en absoluto con los modelos generados para CCF, por lo que los resultados estadísticos no apoyaron a la hipótesis de esta interacción (Figura 23 A y B).

**Para el última análisis de dinámicas se evaluó la interacción temporal entre la prevalencia de *T. cruzi* en triatomos y la prevalencia de *T. cruzi* en quirópteros.** Se observó que los tres modelos generados para correlación cruzada fueron prácticamente significativos, sin embargo, los modelos de las dos interpolaciones mostraron una causalidad no resuelta (significancia tanto en correlaciones negativas y como positivas) (Figura 24 A). El patrón de la relación que se observó en los modelos de CCF no se mostró tan fuertemente identificado en el modelo de Cosinor, ya que se observa un mayor desfase en el tiempo (Figura 24B). Debido a que los modelos no coincidieron y a que se observó una causalidad no resuelta, no se consideró como una interacción probable.

## Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos Vs Prevalencia (por ELISA) de *T. cruzi* en roedores

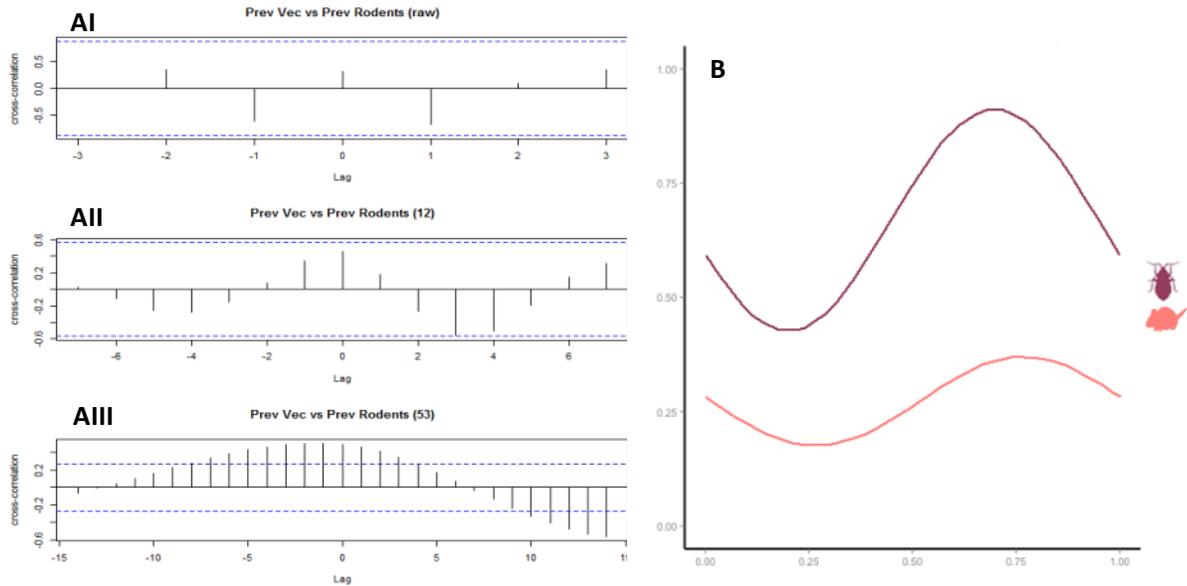


Figura 23 A) Los modelos de correlación cruzada con tres  $N$  diferentes (A1, sin interpolación; A2, interpolación a 12 puntos; A3, interpolación a 53 puntos) para la interacción de las series de tiempo entre la prevalencia de *T. cruzi* en triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* en roedores. Las líneas azules son los intervalos de confianza al 95 %. B) El modelo de Cosinor para la interacción de las series de tiempo entre la prevalencia de *T. cruzi* en triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* en roedores. El tiempo se consideró solamente durante un año

## Prevalencia de *T. cruzi* en triatominos Vs Prevalencia (por ELISA) de *T. cruzi* en quirópteros

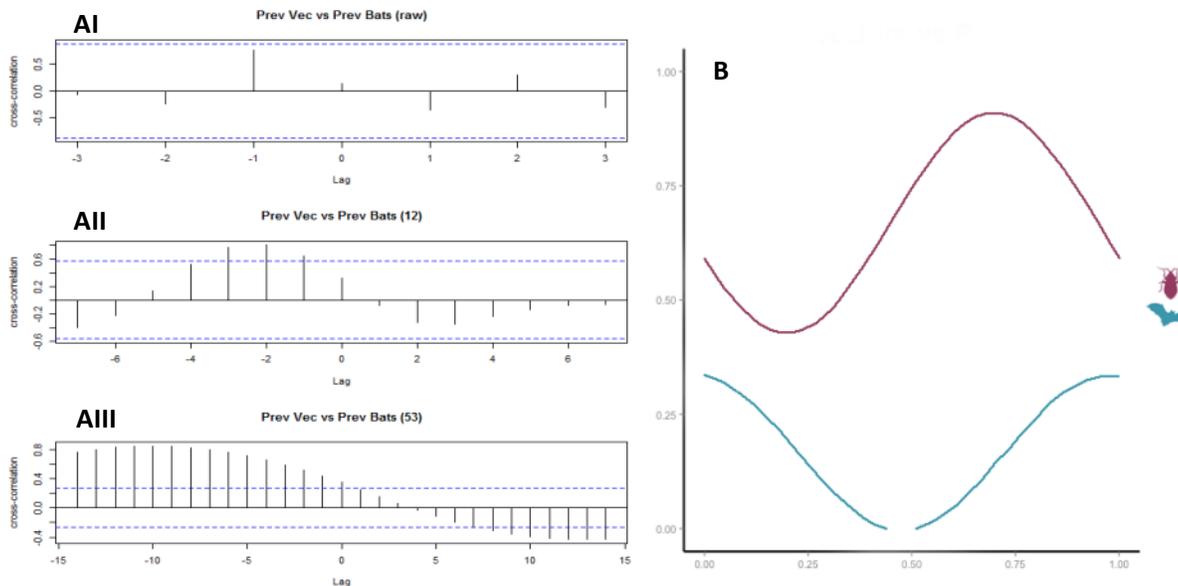


Figura 24 A) Los modelos de correlación cruzada con tres  $N$  diferentes (A1, sin interpolación; A2, interpolación a 12 puntos; A3, interpolación a 53 puntos) para la interacción de las series de tiempo entre la prevalencia de *T. cruzi* en triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* en quirópteros. Las líneas azules son los intervalos de confianza al 95 %. B) El modelo de Cosinor para la interacción de las series de tiempo entre la prevalencia de *T. cruzi* en triatominos y la prevalencia de *T. cruzi* en quirópteros. El tiempo se consideró solamente durante un año.

## 7.6 AJUSTE DEL MODELO SI PARA LA TRANSMISIÓN DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EN RESERVORIOS POTENCIALES

Se obtuvieron valores de individuos susceptibles e infectados de modelos teóricos. Esto se hizo para conocer si el modelo se ajustaba al patrón de la dinámica temporal de los datos empíricos. El modelo pareció ajustarse a la distribución de puntos del vector pero no a la de los reservorios potenciales (Figura 25).

Posteriormente, debido a que no se encontró un ajuste cercano a los datos, se compararon patrones de comportamiento temporal de los datos reales ajustados a 58 interpolaciones contra los patrones de comportamiento temporal de datos generados de diversos modelos teóricos. Los modelos teóricos desarrollados fueron los siguientes:

1. El primer modelo asumía la misma temporalidad para la tasa de contacto entre ratones y triatominos. No se logró un ajuste cercano, ni en valores ni en comportamiento temporal (Figura 26).
2. Debido a ello se decidió modificar el primer modelo y realizar un segundo, dónde se incluyó la presencia de un segundo reservorio (un reservorio hipotético). Este reservorio propuesto se utilizó en el modelo bajo el supuesto (que al igual que los roedores en el primer modelo) de presentar una transmisión simétrica. Ambas transmisiones se supusieron frecuento-dependientes. Se logró ajustar sólo dos de las tres correlaciones (Abundancia triatominos Vs Prevalencia triatominos y Abundancia triatominos Vs Prevalencia en roedores) (Figura 27).
3. Desarrollamos un tercer modelo donde únicamente se tomó en cuenta a un reservorio (ratón) y se asumió una transmisión asimétrica entre este y triatominos, por lo que la temporalidad en la tasa de contacto era diferente para ambas tasas. Se sugirió esta aproximación debido a que se observó que altas tasas de contacto junto con una gran amplitud en la temporalidad de individuos infectados se ajustaba para los triatominos pero no para los roedores. Por ello, se supuso una transmisión asimétrica. Donde, la transmisión de vectores a ratones era frecuento dependiente pero de ratones a vectores era denso-dependiente. El tercer modelo se acercó a los patrones de temporalidad de los datos empíricos pero no los reproducía adecuadamente (Figura 28).
4. En un cuarto modelo se usaron los mismos supuestos del 3° modelo pero en este caso la transmisión de roedores a vectores se supuso frecuento-dependiente y de vectores a roedores denso-dependiente. El ajuste fue menor en este modelo que en el tercero (Figura 29).

5. Debido a que el tercer modelo pareció ajustarse más a la dinámica temporal, se decidió hacer un quinto modelo donde se agregó al segundo reservorio hipotético en condiciones similares al tercer modelo. Esto es una tasa de contacto asimétrica entre roedores y vectores (frecuente dependiente de vectores a roedores y denso-dependiente de roedores a vectores). Para el segundo reservorio se supuso con una tasa de contacto simétrica frecuente dependiente. En este caso. El modelo se ajustó a los patrones de temporalidad de la interacción entre la prevalencia del parásito en roedores y la prevalencia del parásito en roedores pero las otras dos interacciones no fueron similares en los patrones entre el modelo y los datos empíricos (Figura 30).
6. Finalmente, se intentaron ajustar los patrones de temporalidad en un sexto modelo. Donde se asumían los mismos supuestos que en el quinto modelo. La diferencia en este modelo era el tipo de transmisión entre el reservorio hipotético y el triatomo, se supuso una transmisión simétrica denso-dependiente. El resultado fue que se ajustó el patrón de dinámica temporal para la interacción entre la prevalencia del parásito en los roedores y la abundancia de vectores y para la interacción entre la prevalencia del parásito en los vectores y la abundancia de vectores. Pero, a diferencia del quinto modelo, no se ajustó para el patrón de la interacción entre la prevalencia del parásito entre triatomos y la prevalencia del parásito en roedores (Figura 31).

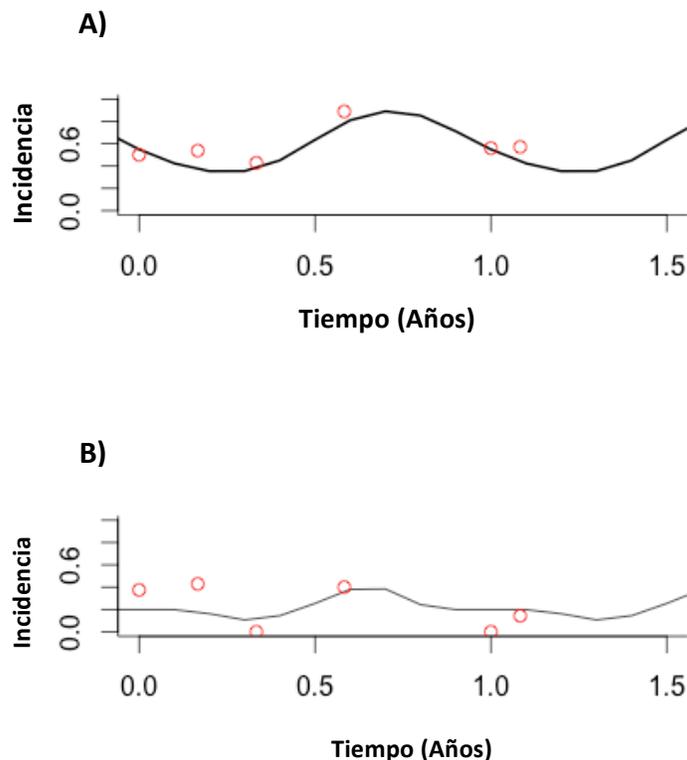


Figura 20

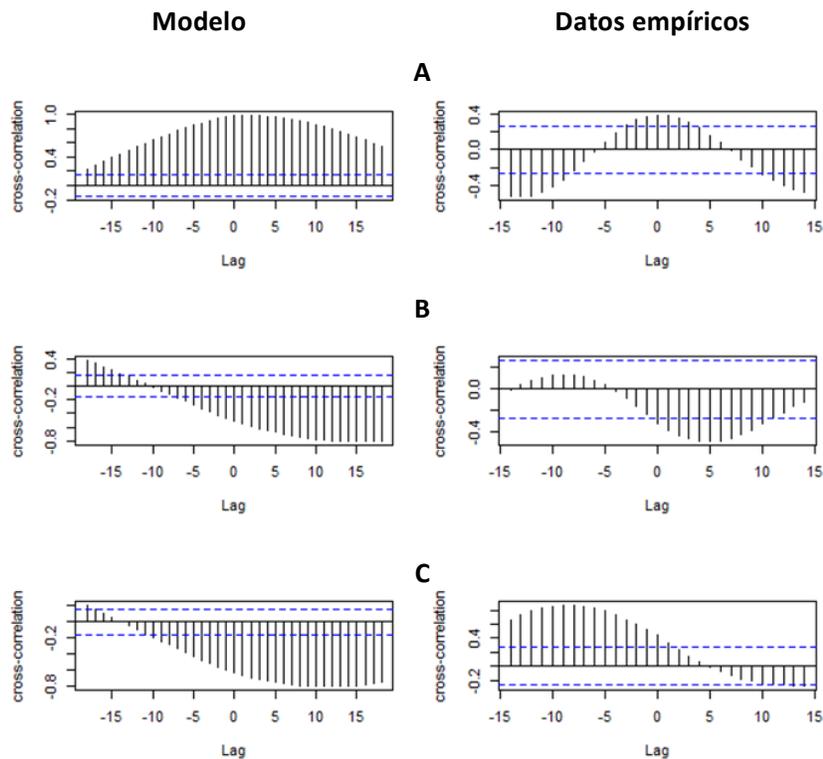


Figura 26 Modelo teórico 1. A) Prevalencia *T. cruzi* en triatominos Vs prevalencia *T. cruzi* en roedores. B) Prevalencia *T. cruzi* en roedores Vs abundancia de triatominos. C) Prevalencia *T. cruzi* en triatominos Vs abundancia triatominos.

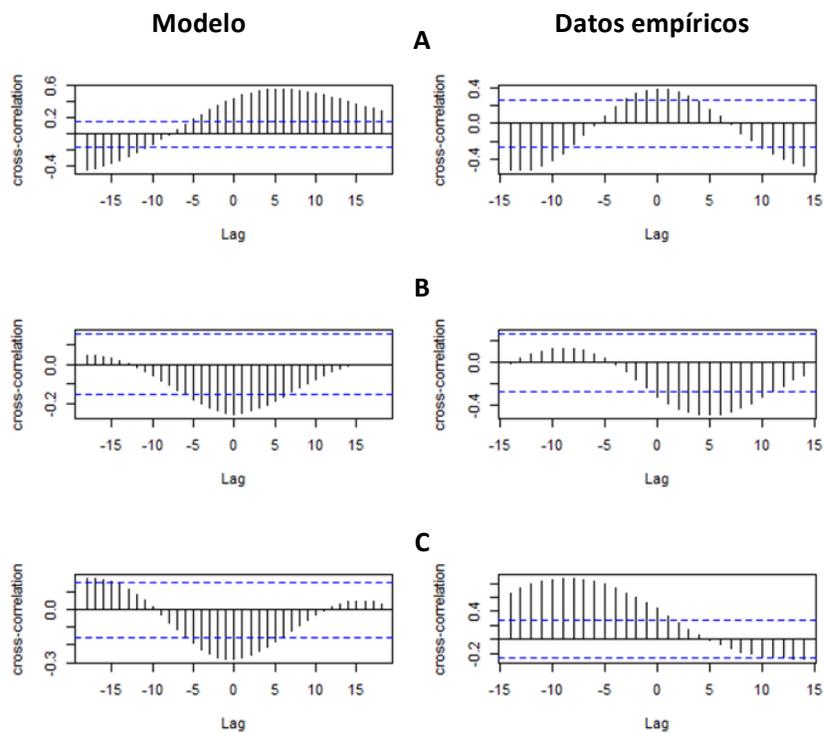


Figura 27 Modelo teórico 2. A) Prevalencia *T. cruzi* en triatominos Vs prevalencia *T. cruzi* en roedores. B) Prevalencia *T. cruzi* en roedores Vs abundancia de triatominos. C) Prevalencia *T. cruzi* en triatominos Vs abundancia triatominos.

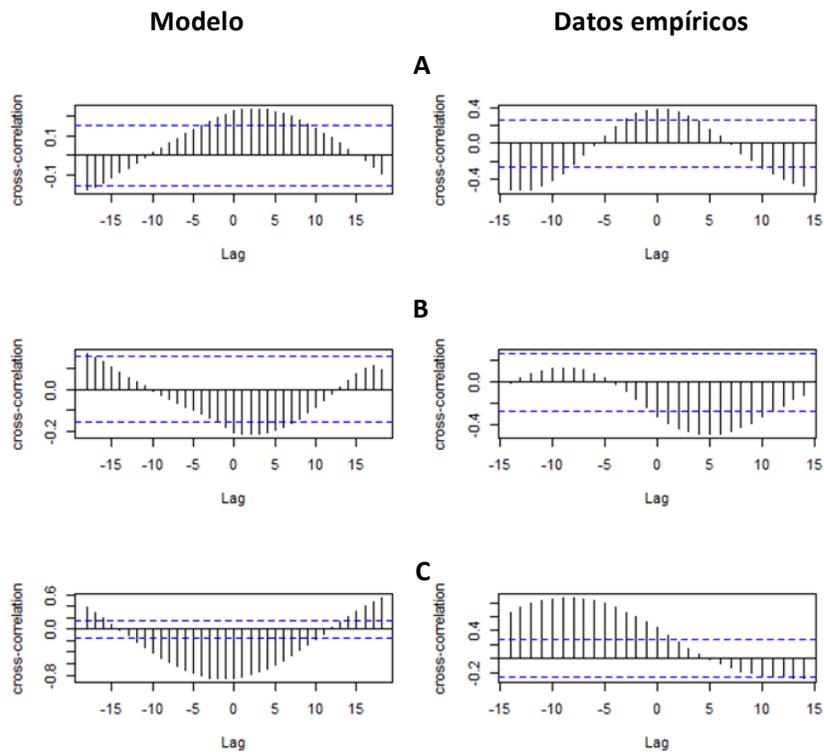


Figura 28 Modelo teórico 3. A) Prevalencia *T. cruzi* en triatomos Vs prevalencia *T. cruzi* en roedores. B) Prevalencia *T. cruzi* en roedores Vs abundancia de triatomos. C) Prevalencia *T. cruzi* en triatomos Vs abundancia triatomos.

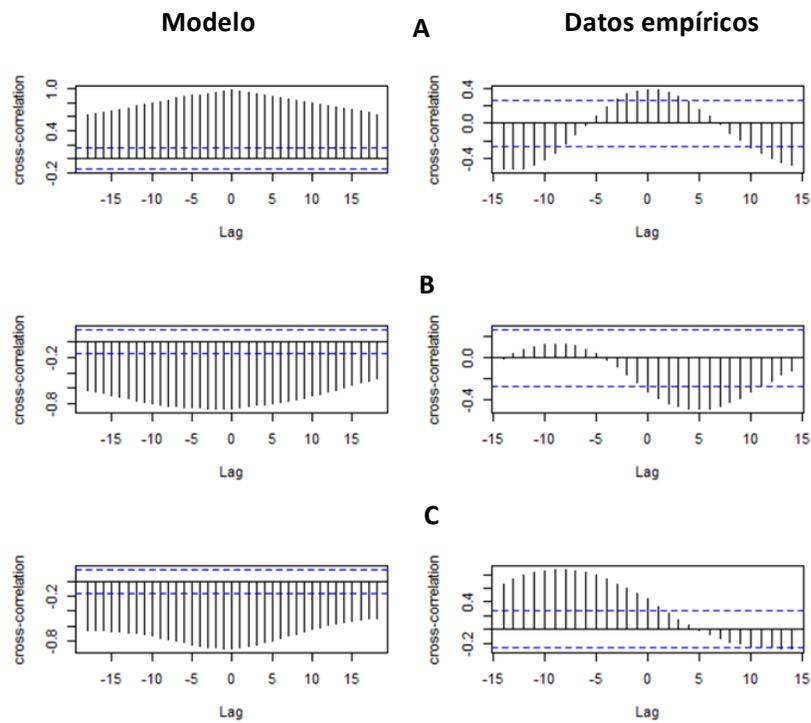


Figura 29 Modelo teórico 4. A) Prevalencia *T. cruzi* en triatomos Vs prevalencia *T. cruzi* en roedores. B) Prevalencia *T. cruzi* en roedores Vs abundancia de triatomos. C) Prevalencia *T. cruzi* en triatomos Vs abundancia triatomos.

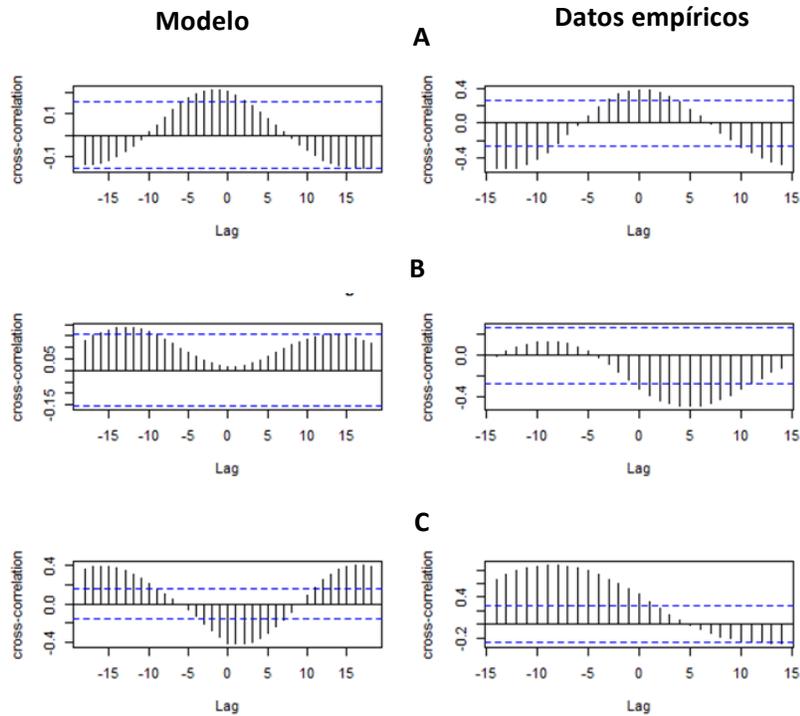


Figura 30 Modelo teórico 5. A) Prevalencia *T. cruzi* en triatomos Vs prevalencia *T. cruzi* en roedores. B) Prevalencia *T. cruzi* en roedores Vs abundancia de triatomos. C) Prevalencia *T. cruzi* en triatomos Vs abundancia triatomos.

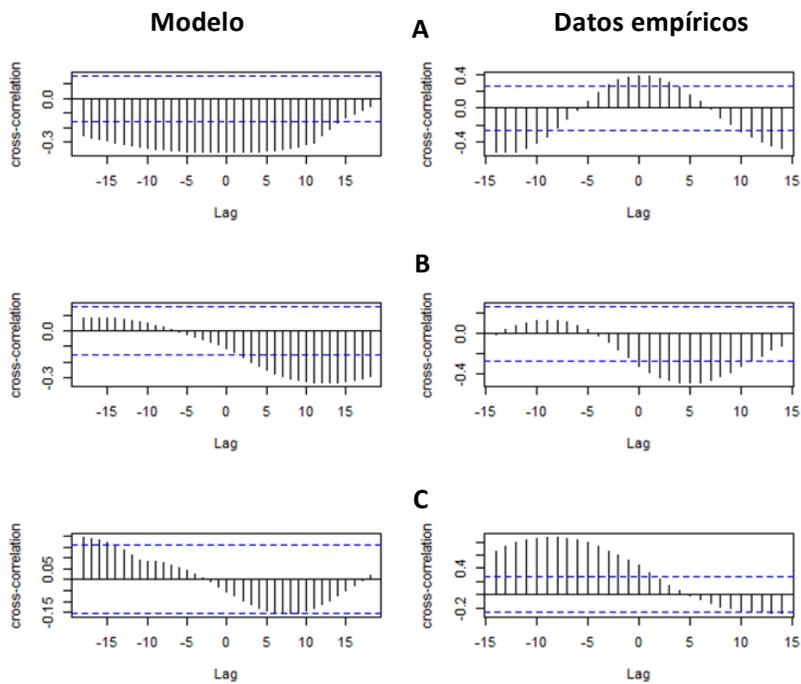


Figura 31 Modelo teórico 6. A) Prevalencia *T. cruzi* en triatomos Vs prevalencia *T. cruzi* en roedores. B) Prevalencia *T. cruzi* en roedores Vs abundancia de triatomos. C) Prevalencia *T. cruzi* en triatomos Vs abundancia triatomos.

## 8 DISCUSIÓN

### 8.1 IDENTIFICACIÓN DE *T. CRUZI* EN RESERVORIOS POTENCIALES

#### 8.1.1 ABUNDANCIA Y DIVERSIDAD DE ROEDORES Y QUIRÓPTEROS

A pesar de que en la zona donde se trabajó (Los Tuxtlas, Veracruz) se caracteriza por una alta perturbación y una fuerte presencia antropogénica, presenta patrones de alta diversidad y abundancia de diferentes vertebrados (Mendoza et al. 2005; Estrada et al. 1994; Flores et al. 2014). En especial en el caso de los murciélagos, se ha reportado que este orden es abundante en zonas cercanas a asentamientos humanos (Estrada & Coates-Estrada 2001b). Durante el muestreo de este estudio se encontró que la abundancia y riqueza de los quirópteros fue mayor que la de los roedores (Cuadro 2, Figura 7); a pesar de que los roedores son el orden más diverso de mamíferos, para la región de Los Tuxtlas el orden mejor representado es Chiroptera (Estrada & Coates-Estrada 2001a). A pesar de que los roedores son un orden abundante en la región, 22 especies de acuerdo al Diario Oficial de la Federación (Secretario de Medio & Ambiente y Recursos Naturales 2009) no se capturó un número alto, esto puede deberse a sus hábitos y comportamiento críptico (Estrada et al. 1994).

La abundancia de roedores por mes se mantuvo constante a lo largo de los muestreos en comparación con la alta variación que existió en las abundancias en los murciélagos. Debido a que la mayoría de los murciélagos capturados fueron frugívoros, esta variación puede ser un resultado de la disponibilidad de los recursos que existían en la zona, tal como el recurso alimenticio (Banskar et al. 2016; Harrison 1962; Patterson et al. 2003).

#### 8.1.2 LOS MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE *T. CRUZI* Y SU PREVALENCIA

En México existen pocos trabajos que evalúen la presencia de *T. cruzi* en reservorios silvestres (Ramsey et al. 2012; Solís-franco et al. 1997; Parada-López et al. 2013; Roque et al. 2008, Viquez-Rodríguez, 2015) y a pesar de que los murciélagos son considerados reservorios de múltiples enfermedades poco se sabe de la relación que estos puedan tener con *T. cruzi* (Hamilton et al. 2012; Brook & Dobson 2015). Los murciélagos como reservorios potenciales de este protozoario han sido evaluados principalmente en Sudamérica (Cottontail et al. 2009; Ramírez et al. 2014; Añez et al. 2009; Lisboa et al. 2008) y hasta el momento sólo se conoce un reporte donde se detectaron murciélagos positivos para *T. cruzi*. Hodo y colaboradores (2016) (Hodo et al. 2016) reportaron la presencia del parásito en la especie *Nycticeius*

*humeralis*, la detección en este estudio sólo se realizó mediante PCR (usando diferentes secuencias de oligos), pero no por métodos serológicos. Debido a que la detección del protozoo resulta conflictiva, en esta tesis se buscó conocer la presencia del protozoo por diferentes métodos. Un solo método (molecular o serológico) puede aportar una visión sesgada. Por el ensayo de ELISA se lograron detectar al menos 49 individuos positivos, por el ensayo de WB se detectaron 9 individuos positivos y por PCR 10 organismos positivos (Cuadro 3, Cuadro 4, Cuadro 5, Cuadro 9). A pesar de que algunos organismos mostraban resultados discordantes, las proporciones entre organismos por cada método se mantuvieron (Figura 15). Esto es un indicio de que la presencia de *T. cruzi* en el ciclo silvestre se encuentra vigente. Y que al parecer en esta zona tanto murciélagos como roedores juegan un papel importante.

Considerando aquellos organismos que fueron positivos en más de una prueba, el total de organismos positivos es 13 (N = 62). Por parte de los roedores se obtuvieron 4 organismos considerados como positivos y por parte de los murciélagos, 9 organismos positivos. Algunos de esos organismos, fueron positivos por los dos análisis serológicos pero negativos para el PCR (N = 6). Esto puede deberse a que el ensayo de PCR se enfocó que únicamente a analizar un solo órgano (corazón). Se ha observado que *T. cruzi* presenta diferente tropismo y dependiendo la cepa muestra preferencia por diferentes tejidos; Andrade y colaboradores (1999) probaron la hipótesis del tropismo histológico clonal, donde evaluaron experimentalmente la distribución de dos tipos genéticos en tejidos infectados y observaron que una clara distribución en la infección en los tejidos (en la fase crónica), una cepa se encontró mayoritariamente en corazón y la otra en recto (Andrade et al. 1999).

Cabe destacar que sólo dos especies de murciélagos son las que resultaron positivas de este análisis: *Artibeus jamaicensis* y *Carollia sowelli*. Esto coincide con lo reportado por Viquez (2015) donde encontró un organismo positivo para *T. cruzi* de la especie *Carollia sowelli* en la Selva Lacandona, asimismo Cottontail y colaboradores (2009) documentaron la presencia de este parásito en murciélagos de la especie *Artibeus jamaicensis*. Estos antecedentes totalmente aislados de la zona de estudio, demuestran que estas especies están asociadas con la presencia de *T. cruzi*, por lo cual más estudios asociados a estas especies y en Norteamérica son necesarios para confirmar la asociación en función de que puedan fungir un papel como reservorios. Es importante notar que *A. jamaicensis* es una de las especies más abundantes de la zona (Estrada & Coates-Estrada 2002; de la Peña-Cuéllar et al. 2015) y al mismo tiempo ha sido asociada a zonas con alto disturbio, como es la zona de estudio (Cottontail et al. 2009). Esto podría llevarnos a estudiar y comparar con zonas con menor grado de perturbación. Y en esas zonas observar la diversidad de murciélagos, roedores y la prevalencia de diversos patógenos como *T. cruzi*. Para saber si el grado de perturbación podría estar afectando a los patrones de diversidad de los

murciélagos y esta a su vez a los patrones de incidencia de *T. cruzi*. Las especies de roedores consideradas como positivas (*Heteromys desmarestianus* y *Peromyscus mexicanus*) han sido identificadas con anterioridad como seropositivas para *T. cruzi* (Solís-Franco et al. 1997) aunque aún no se ha estudiado si patrones en la diversidad o abundancia de estas especies influyen en la prevalencia de *T. cruzi*, como en el caso de los hantavirus o la enfermedad de Lyme donde los patrones de diversidad y abundancia de roedores provocan cambios en la dinámica de infección de esos patógenos (Ostfeld & Keesing 2000; Mills & Childs 1998).

## 8.2 DINÁMICA TEMPORAL DE LA PREVALENCIA DE *T. CRUZI*, EL VECTOR *TRITOMA DIMIDIATA* Y LOS RESERVORIOS POTENCIALES CHIROPTERA Y RODENTIA

### 8.2.1 PATRONES DE VARIACIÓN TEMPORAL

Los análisis de Cosinor permiten evaluar si existe temporalidad o ciclos en las series de tiempo evaluadas. En estas series de tiempo no se encontró un patrón de periodicidad. Esto se debe a que el periodo de muestreo fue menor a dos años y los ciclos de los roedores son mayores a dos años y el de los murciélagos mayores a 5 años. Los patrones de variación de los vectores parecen ser sincrónicos pero al igual que el de los mamíferos no mostró ser significativo para determinar periodicidad.

### 8.2.2 INTERACCIÓN TEMPORAL ENTRE ORGANISMOS INFECTADOS Y NO INFECTADOS DEL MISMO ORDEN

De todas las interacciones analizadas entre organismos infectados y no infectados del mismo orden, la única que presenta más de dos modelos significativos y que corresponden a una relación de causalidad resuelta es la interacción entre la abundancia de vectores y la prevalencia de *T. cruzi* en los mismos vectores (Figura 18). Tanto en el modelo de Cosinor (Figura 18B) como en los modelos significativos de CCF (Figura 18 AII y AIII) se observa un patrón de correlación positiva. Además, el modelo indica que el lag es positivo. Estas dos condiciones indican que la prevalencia de *T. cruzi* en *Triatoma dimidiata* podría tener un papel importante temporal en la dinámica de las abundancias de los vectores. Aparentemente, cuando existan muchos triatominos en un momento del tiempo, tiempo después habrá una mayor cantidad de vectores. Aunque existe evidencia de que algunos parásitos afectan el comportamiento de sus hospederos (Beard et al. 2002; Klein 2005). Sobre la presencia de *T. cruzi* en los vectores se ha observado que triatominos infectados parecen tener preferencias alimenticias diferentes de aquellos que no están infectados, así como de retrasar el tiempo de desarrollo de un estadio a otro. Botto-Mahan y colaboradores observaron que la presencia de *T. cruzi* en el triatolino *Mepraia spinolai* reducía el tiempo de detección de hospederos potenciales en comparación con los triatominos no infectados; además las chinches infectadas “picaban” el doble en comparación con las que no tenían la presencia del parásito y defecaban 8 minutos después de alimentarse mientras que los otros triatominos lo hacían después de 11 minutos (Botto-Mahan et al. 2006). Posteriormente en un estudio de Botto-Mahan (2009) observó que las hembras infectadas de la especie de triatominos *M. spinolai* tardaban más en desarrollarse que los machos, indicando que el impacto de *T. cruzi* puede ser sexo dependiente (Botto-Mahan 2009).

### 8.2.3 INTERACCIÓN TEMPORAL ENTRE ORGANISMOS INFECTADOS Y NO INFECTADOS DE DIFERENTE ORDEN

Se estudiaron seis posibles interacciones temporales entre organismos de distintos órdenes. Uno de los dos órdenes debía estar infectado por *T. cruzi* para observar como su dinámica temporal de infección afectaba o se veía afectado por su hospedero. De las seis relaciones estudiadas, sólo dos mostraron modelos compatibles y una relación causal resuelta.

La primera fue entre la abundancia de vectores y la prevalencia de quirópteros. La correlación resultó positiva. Con una superposición de las dinámicas temporales. En los tres modelos la mayor correlación ocurrió en el lag 0, lo que indica que la abundancia de vectores está afectando en la incidencia de *T. cruzi* en murciélagos. El hecho de que sea una correlación positiva en el lag 0 indica que cuando en determinado tiempo existe una gran abundancia de triatomíneos, es altamente probable (> 0.72) que también se tenga una alta prevalencia de *T. cruzi* en murciélagos. Esta relación sería un indicio de la forma en la que los murciélagos adquieren el parásito. Debido a que muestra una fuerte correlación positiva con las abundancias del vector y no con las prevalencias, esto es indicativo de que la transmisión pueda ser denso-dependiente. Debido a que los murciélagos recolectados para este trabajo son principalmente frugívoros y sólo un 25 % insectívoros (Boer et al. 2015; Morrison 1980) la interacción con los vectores debe ser muy baja. Nouvellet y colaboradores (2015) argumentan que cuando la frecuencia de contacto es baja, esa interacción debe ser denso-dependiente. Los datos no apoyan a la hipótesis de una transmisión frecuente dependiente, ya que la relación temporal entre la triatomíneos infectados y murciélagos infectados (prevalencia vs prevalencia) no fue significativa y no mostró una correlación positiva (Figura 20). En las transmisiones típicas frecuente dependientes debe existir una fuerte relación entre la prevalencia en vectores y la prevalencia del hospedador mamífero, ya que la tasa de transmisión depende básicamente de los organismos infectados, en este caso dependería de los triatomíneos infectados y no de la abundancia de ellos. Asimismo el modelo apoya a que en la naturaleza esté ocurriendo una transmisión asimétrica ya que sólo fue significativo la relación entre la abundancia de vectores y la prevalencia de murciélagos pero no la relación entre la abundancia de murciélagos y la prevalencia de triatomíneos.

La segunda interacción significativa fue entre la abundancia de roedores y la prevalencia de vectores. El lag es positivo con una correlación negativa. Este tipo de resultados indican que una mayor prevalencia en vectores ocurre en el tiempo antes que una menor abundancia de roedores. Retomando lo que argumentan Nouvellet y colaboradores (2015) sobre la modelación en la transmisión vectorial, se debe recordar que este tipo de comportamiento en series de tiempo es característico de la frecuente dependencia. Es decir, donde existan pocos hospederos de los cuales alimentarse la tasa promedio de

picadura por individuo será mayor y por lo tanto la probabilidad de infectarse es mayor. Asimismo tiene un comportamiento inverso por que conforme existen más individuos infectados, la abundancia relativa de organismos susceptibles (no infectados) va disminuyendo (Figura 21).

Es importante mencionar que ninguna de las series temporales en general es estática, siempre existen factores (como los ambientales) que modifican los patrones de comportamiento de las dinámicas.

### 8.3 MODELO TEÓRICO DE LA TRANSMISIÓN SILVESTRE DE *T. CRUZI*

Se compararon diferentes patrones que provenían de diversos modelos teóricos. El primer modelo asumía la misma temporalidad para la tasa de contacto entre ratones y triatomínicos. Desarrollamos un segundo modelo donde se asumía una transmisión asimétrica entre ratones y triatomínicos, por lo que la temporalidad en la tasa de contacto era diferente para ambas tasas. Esto se sugirió debido a que se observó que altas tasas de contacto junto con una gran amplitud en la temporalidad de individuos infectados se ajustaba para los triatomínicos pero no para los roedores. Por ello, se supuso una transmisión asimétrica. El segundo modelo se acercó a los patrones de temporalidad de los datos empíricos pero no los reproducía adecuadamente. Debido a ello se decidió modificar el primer modelo y realizar un tercero, donde se incluía la presencia de un segundo reservorio. Este reservorio propuesto presentaba al igual que los roedores en el primer modelo una transmisión simétrica. Se logró ajustar sólo dos de las tres correlaciones (Abundancia triatomínicos Vs Prevalencia triatomínicos y Abundancia triatomínicos Vs Prevalencia en roedores). Por ello se decidió combinar el modelo dos con el tercero para generar otro modelo donde la tasa de transmisión entre ratones y triatomínicos fuera asimétrica, y además, existiera un tercer hospedero (el segundo reservorio propuesto) con transmisión simétrica. En este acercamiento, las dinámicas que se ajustaron fueron la abundancia de roedores Vs la prevalencia en triatomínicos y la abundancia de triatomínicos Vs la prevalencia en roedores. Este último modelo es un indicio de que existe un factor desconocido que está influyendo en la dinámica de transmisión. Este factor puede ser de índole ambiental. Altizer (2006) sugiere que como siguiente paso se debe evaluar la dinámica de temporalidades pero de manera teórica, en estos modelos se generan simulaciones de cambios en las poblaciones para observar el efecto que tiene sobre las abundancias de los individuos infectados, es decir, sobre la dinámica del patógeno (Altizer et al. 2006).

Los siguientes modelos donde se simularon diferentes tipos de transmisión con diferentes hospederos eran cercanos a los patrones de temporalidad de los datos empíricos pero nunca lograron ajustarse. Debido a que *Trypanosoma cruzi* es un parásito con un ciclo de vida complejo que incluye a múltiples especies de reservorios y vectores, es necesario complementar con información de al menos de otro reservorio. Esto permitiría completar parte de la historia del ciclo del parásito. Una posible perspectiva sería colectar información tanto de reservorios potenciales silvestres como domésticos, al igual que con los vectores. Pero sobre todo tener en cuenta la presencia tanto de reservorios domésticos como silvestres debido a que los hábitos alimenticios de los vectores son generalistas (Gürtler et al. 2009). Esto concuerda con lo ya descrito, los diferentes ambientes de los patógenos (doméstico, peridoméstico y silvestre) no se encuentran totalmente aislados. Esto se ve potenciado en patógenos con ciclos de vida

complejos, es decir, aquellos que requieren de más de un hospedero para completar su ciclo infeccioso (Altizer et al. 2006; Jiménez et al. 2015; Donoso et al. 2016; Jansen et al. 2015).

## 9 CONCLUSIÓN

1. Se lograron identificar quirópteros y roedores positivos para el parásito *T. cruzi*. Sin embargo, tres métodos de detección realizados no fueron equivalentes para todos los organismos. Cabe destacar que aunque no fueron iguales, sí se mantuvo una proporción aproximadamente cercana entre los tres análisis.
2. No se detectó ningún patrón periódico para el tiempo de muestreo.
3. Gracias las correlaciones temporales parece haber un indicio de transmisión denso-dependiente de triatomíneos a murciélagos en la región de Los Tuxtlas. Asimismo es probable que exista una relación de frecuente-dependencia de vectores a roedores.
4. El modelo teórico SI de la transmisión silvestre de *Trypanosoma cruzi* no se ajusta a los datos empíricos. Aparentemente, falta información de algún otro reservorio competente, es decir, que sea capaz de transmitir al parásito. O bien, transformar el modelo SI en otra de sus variantes y agregar alguna otra categoría. Como podría ser la de dividir a los infectados en individuos en etapa crónica e individuos en etapa aguda.

## 10 PERSPECTIVAS

El estudio de las enfermedades que incluyen organismos de ciclos de vida complejos, tal como *T. cruzi*, aún siguen teniendo muchas incógnitas, especialmente en los ciclos de transmisión silvestres y sinantrópicos. Es necesario continuar con la colecta de datos de ejemplares que se encuentren en estos ambientes. Así como también generar un diseño que permita evaluar al ciclo de transmisión como un sistema abierto, esto quiere decir que la transmisión está ocurriendo de forma constante. Además es necesario tomar en cuenta que no todos los reservorios potenciales van a tener la misma frecuencia de contacto. El estudio de los ambientes silvestres de *T. cruzi* requiere de un mayor esfuerzo y se debe considerar que debido a su naturaleza de infección puede representar una amenaza latente para la transmisión zoonótica.

## 11 LITERATURA CITADA

- Altizer, S. et al., 2006. Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecology Letters*, 9(4), pp.467–484.
- Andrade, L.O. et al., 1999. Differential tissue distribution of diverse clones of *Trypanosoma cruzi* in infected mice. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 100(2), pp.163–172.
- Andrews, N.W. & Burleigh, B., 1995. Title: The mechanisms of *Trypanosoma cruzi* invasion of mammalian cells. *Annual Review of Microbiology*, 49(Annual 1995), pp.1–21.
- Añez, N., Crisante, G. & Soriano, P.J., 2009. *Trypanosoma cruzi* congenital transmission in wild bats. *Acta Tropica*, 109(1), pp.78–80.
- Araujo-jorge, T.C. De, Telleria, J. & Rios-dalenz, J., 2010. *American Trypanosomiasis* First Edit., Elsevier. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384876-5.00001-0> [Accessed September 2, 2014].
- Ashford, R.W., 2003. When Is a Reservoir Not a Reservoir? *Emerging Infectious Diseases*, 9(11), pp.1495–1496.
- Avila, A.H. & Simpson, L., 1995. Organization and complexity of minicircle-encoded guide RNAs in *Trypanosoma cruzi*. *RNA*, 1, pp.939–947.
- Balczun, C., Meiser, C.K. & Shaub, G.A., 2012. Arthropods as Vectors of Emerging Diseases. In H. Mehlhorn, ed. *Arthropods as Vectors of Emerging Diseases*. Parasitology Research Monographs. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 275–299. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-28842-5> [Accessed September 30, 2014].
- Banskar, S., Mourya, D.T. & Shouche, Y.S., 2016. Bacterial diversity indicates dietary overlap among bats of different feeding habits. *Microbiological Research*, 182, pp.99–108.
- Beard, C. Ben, Cordon-Rosales, C. & Durvasula, R. V., 2002. MANIPULATION OF MEDICALLY IMPORTANT INSECT VECTORS BY THEIR PARASITES. *Annual Review of Entomology*, 47(1), pp.123–141. Available at: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.ento.47.091201.145144>.
- Begon, M. et al., 1999. Transmission dynamics of a zoonotic pathogen within and between wildlife host species. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 266(1432), pp.1939–1945.
- Boer, W.F. De, Levy-tacher, S.I. & Vazquez, L., 2015. Niche Differentiation and its Relationship with Food Abundance and Vegetation Complexity in Four Frugivorous Bat Species in Southern Mexico. *Biotropica*, 47(5), pp.606–615.
- Botto-Mahan, C., 2009. *Trypanosoma cruzi* Induces Life-History Trait Changes in the Wild Kissing Bug

- Mepraia spinolai*: Implications for Parasite Transmission. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 9(5), pp.505–510. Available at: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/vbz.2008.0003>.
- Botto-Mahan, C., Cattan, P.E. & Medel, R., 2006. Chagas disease parasite induces behavioural changes in the kissing bug *Mepraia spinolai*. *Acta Tropica*, 98(3), pp.219–223.
- Brook, C.E. & Dobson, A.P., 2015. Bats as “special” reservoirs for emerging zoonotic pathogens. *Trends in Microbiology*, 23(3), pp.172–180. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0966842X14002480>.
- Brown, E.L. et al., 2010. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* among eleven potential reservoir species from six states across the southern United States. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 10(8), pp.757–63. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2976638&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Carabarin-Lima, A. et al., 2013. Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: an update. *Acta tropica*, 127(2), pp.126–35. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23643518>.
- Ceballos, G. & Olivia, G., 2005. *Los mamíferos silvestres de México 1ª*, México, D.F.: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Chagas, C., 1909. Nova tripanozomíaze humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1(2), pp.159–218.
- Charles, R. a et al., 2013. Southern plains woodrats (*Neotoma micropus*) from southern Texas are important reservoirs of two genotypes of *Trypanosoma cruzi* and host of a putative novel *Trypanosoma* species. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 13(1), pp.22–30. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3540927&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed September 2, 2014].
- Cleaveland, S., Laurenson, M.K. & Taylor, L.H., 2001. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 356(1411), pp.991–999. Available at: <http://rstb.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rstb.2001.0889>.
- Correa, J. & Sierra, E., 2003. Intervalos de confianza para la comparación de dos proporciones. *Revista Colombiana de Estadística*, 26(1), pp.61–75.
- Cottontail, V.M., Wellinghausen, N. & Kalko, E.K. V, 2009. Habitat fragmentation and haemoparasites in

- the common fruit bat, *Artibeus jamaicensis* (Phyllostomidae) in a tropical lowland forest in Panamá. *Parasitology*, 136(10), pp.1133–1145.
- Crawford, B. & Kribs-Zaleta, C., 2014. A metapopulation model for sylvatic *T. cruzi* transmission with vector migration. *Mathematical biosciences and engineering : MBE*, 11(3), pp.471–509. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24506549> [Accessed October 2, 2014].
- Cruz-Reyes, A. & Camargo-Camargo, B., 2001. *Glosario de términos en Parasitología y Ciencias Afines*, Mexico, D.F.: Plaza y Valdez, Instituto de Biología,.
- Cruz-Reyes, A., Ejandro & Pickering-López, J.M., 2006. Chagas disease in Mexico: An analysis of geographical distribution during the past 76 years - A review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101(4), pp.345–354.
- Davis, S., Calver, E. & Leirs, H., 2005. Fluctuating Rodent Populations and Risk to Humans from Rodent-Borne Zoonoses. *Vector borne and zoonotic diseases*, 5(4), pp.305–314.
- Diseases, I. et al., 2002. A clarification of transmission terms in host-microparasite models : numbers , densities and areas. , pp.147–153.
- Donoso, M.I. et al., 2016. Temporal fluctuation in shrub species preferences of two native rodents: The effect of infection status on habitat use. *Austral Ecology*, 41(5), pp.512–518.
- Estrada, A. & Coates-Estrada, R., 2001a. Bat species richness in live fences and in corridors of residual rain forest vegetation at Los Tuxtlas, Mexico. *Ecography*, 24(1), pp.94–102.
- Estrada, A. & Coates-Estrada, R., 2002. Bats in continuous forest, forest fragments and in an agricultural mosaic habitat island at Los Tuxtlas, Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 103, pp.237–245. Available at: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1020896928578>.
- Estrada, A. & Coates-Estrada, R., 2001b. Species composition and reproductive phenology of bats in a tropical landscape at Los Tuxtlas, Mexico. *Journal of Tropical Ecology*, 17(5), pp.627–646. Available at: [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S026646740100147X](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S026646740100147X) [Accessed October 9, 2014].
- Estrada, A., Coates-Estrada, R. & Meritt, D., 1994. Nordic Society Oikos Non Flying Mammals and Landscape Changes in the Tropical Rain Forest Region of Non flying mammals and landscape changes in the tropical rain forest region of Los Tuxtlas, Mexico. *Ecography*, 17(3), pp.229–241.
- Fenton, A. et al., 2015. Are All Hosts Created Equal? Partitioning Host Species Contributions to Parasite Persistence in Multihost Communities. *The American Naturalist*, 186(5), pp.610–622. Available at: <http://www.jstor.org/stable/10.1086/683173>.
- Flores, J.J. et al., 2014. Mamíferos terrestres de la estación de biología tropical de los tuxtlas. *Revista digital universitaria*, 15, pp.1–10.

- Gibson, W., 2003. Species concepts for trypanosomes: from morphological to molecular definitions? *Kinetoplastid biology and disease*, 2, p.10.
- Gürtler, R.E. et al., 2009. Strong host-feeding preferences of the vector *Triatoma infestans* modified by vector density: implications for the epidemiology of Chagas disease. *PLoS neglected tropical diseases*, 3(5), p.e447. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2682203&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Guzmán-Bracho, C., 2001. Epidemiology of Chagas disease in Mexico: An update. *Trends in Parasitology*, 17(8), pp.372–376.
- Hall, C. a et al., 2007. *Trypanosoma cruzi* prevalence and epidemiologic trends in lemurs on St. Catherines Island, Georgia. *The Journal of parasitology*, 93(1), pp.93–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17436947>.
- Hamilton, P.B., Teixeira, M.M.G. & Stevens, J.R., 2012. The evolution of *Trypanosoma cruzi*: the “bat seeding” hypothesis. *Trends in parasitology*, 28(4), pp.136–41. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22365905> [Accessed July 18, 2014].
- Harrison, J.L., 1962. The Distribution of Feeding Habits Among Animals in a Tropical Rain Forest. *Journal of Animal Ecology*, 31(1), pp.53–63.
- Haydon, D.T. et al., 2002. Identifying reservoirs of infection: A conceptual and practical challenge. *Emerging Infectious Diseases*, 8(12), pp.1468–1473.
- Heesterbeek, J.A.P. & Roberts, M.G., 1995. Mathematical models for macroparasites of wildlife. In B. T. Grenfell & A. P. Dobson, eds. *Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations*. Cambridge University Press, pp. 90–122.
- Herrera, L., 2010. Una revisión sobre reservorios de *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, L(1), pp.3–15.
- Hodo, C.L. et al., 2016. Trypanosome species , including *Trypanosoma cruzi* , in sylvatic and peridomestic bats of Texas , USA. *Acta Tropica*, 164, pp.259–266. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.09.013>.
- Holt, R.D. et al., 2003. Parasite establishment in host communities. *Ecology Letters*, 6(9), pp.837–842. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1461-0248.2003.00501.x>.
- Hudson, P.J., Dobson, a P. & Newborn, D., 1998. Prevention of population cycles by parasite removal. *Science (New York, N.Y.)*, 282(5397), pp.2256–2258.

- Ibarra-Cerdeña, C.N. et al., 2009. Ecology of North American Triatominae. *Acta Tropica*, 110(2–3), pp.178–186. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X08002994> [Accessed September 2, 2014].
- Jansen, A.M. & Roque, A.L.R., 2010. Domestic and Wild Mammalian Reservoirs. In J. Telleria & M. Tibayrenc, eds. *American Trypanosomiasis. Chagas Disease. One Hundred Years of Research*. Elsevier, pp. 249–276.
- Jansen, A.M., Xavier, S.C.C. & Roque, A.L.R., 2015. The multiple and complex and changeable scenarios of the *Trypanosoma cruzi* transmission cycle in the sylvatic environment. *Acta Tropica*, 151(1), pp.1–15. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.07.018>.
- Jiménez-Coello, M. et al., 2012. Epidemiological survey of *trypanosoma cruzi* infection in domestic owned cats from the tropical southeast of Mexico. *Zoonoses and Public Health*, 59(SUPPL.2), pp.102–109.
- Jiménez, C. et al., 2015. Parasitic infection alters rodent movement in a semiarid ecosystem. *Mammalian Biology*, 80(4), pp.255–259. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mambio.2015.01.006>.
- Johnson, P.T.J., Ostfeld, R.S. & Keesing, F., 2015. *Frontiers in research on biodiversity and disease*. , 5, pp.1119–1133.
- Junqueira, A.C. V, Degraeve, W. & Brandão, A., 2005. Minicircle organization and diversity in *Trypanosoma cruzi* populations. *Trends in Parasitology*, 21(6), pp.270–272.
- Keeling, M.J. & Rohani, P., 2007. *Modeling Infectious Diseases*, Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/B98GG-4T7XCGF-9D/2/95c40489e0e5ee3c0670ee1cf3f0e65f>.
- Keesing, F., Holt, R.D. & Ostfeld, R.S., 2006. Effects of species diversity on disease risk. *Ecology Letters*, 9(4), pp.485–98. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16623733>.
- Kirchhoff, L. V, 2014. *Trypanosoma Species (American Trypanosomiasis, Chagas Disease): Biology of Trypanosomes*. In J. Bennett, R. Dolin, & M. Blaser, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Editorial Saunders, p. 3108–3115.e2. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4557-4801-3.00278-2>.
- Kirchhoff, L. V., 2011. *Epidemiology of American Trypanosomiasis (Chagas Disease)* 1st ed., Elsevier Ltd. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-385863-4.00001-0>.
- Klein, S.L., 2005. Parasite manipulation of host behavior: Mechanisms, ecology, and future directions. *Behavioural Processes*, 68(3 SPEC. ISS.), pp.219–221.
- Kribs-Zaleta, C.M., 2010. Alternative transmission modes for *Trypanosoma cruzi*. *Mathematical*

- biosciences and engineering : MBE*, 7(3), pp.657–73. Available at: <http://www.aims sciences.org/journals/displayArticles.jsp?paperID=5257%5Cnhttp://europepmc.org/abstract/MED/20578791%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20578791>.
- de la Peña-Cuéllar, E. et al., 2015. Structure and diversity of phyllostomid bat assemblages on riparian corridors in a human-dominated tropical landscape. *Ecology and Evolution*, 5(4), pp.903–913.
- Legey, A.P. et al., 2003. Trypanosoma cruzi in marsupial didelphids (Phyllostomidae and Didelphidae) : differences in the humoral immune response in natural and experimental infections. *Revista de Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36(2), pp.241–248.
- Levi, T. et al., 2016. Does biodiversity protect humans against infectious disease? Comment. *Ecology*, 97(2), pp.536–546.
- Lewinsohn, R., 1981. Carlos Chagas and the discovery of Chagas' disease (American trypanosomiasis)." *Journal of the Royal Society of Medicine*, 74(February), pp.451–455.
- Lisboa, C.V. et al., 2008. Trypanosoma cruzi (kinetoplastida, Trypanosomatidae) genotypes in neotropical bats in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 156(3–4), pp.314–318.
- Ma, S. & Xia, Y., 2009. *Mathematical Understanding of Infectious Disease Dynamics*, Singapore: World Scientific Publishing.
- Mabud, T.S. et al., 2014. NIH Public Access. *Journal of Medical Entomology*, 51(1), pp.50–54.
- Martínez-Ibarra, J.A. & Katthain-Duchateau, G., 1999. Biology of Triatoma pallidipennis Stal 1945 (Hemiptera: Reduviidae:Triatominae) under Laboratory Conditions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94(6), pp.837–840.
- Martínez, I., Cervantes-Landín, A. & Espinoza, B., 2013. Diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas. *Gaceta Medica de Mexico*, 149(3), pp.363–365.
- Mccallum, H., Barlow, N. & Hone, J., 2001. How should pathogen transmission be modelled ? *Trends in Ecology & Evolution*, 16(6), pp.295–300.
- Mendoza, E., Fay, J. & Dirzo, R., 2005. A quantitative analysis of forest fragmentation in Los Tuxtlas, southeast Mexico: patterns and implications for conservation. *Revista Chilena de Historia Natural*, 78(3), pp.451–467. Available at: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-078X2005000300008](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-078X2005000300008).
- Miles, M. a et al., 2009. The molecular epidemiology and phylogeography of Trypanosoma cruzi and parallel research on Leishmania: looking back and to the future. *Parasitology*, 136(12), pp.1509–28. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19691868> [Accessed September 30, 2014].
- Mills, J.N. & Childs, J.E., 1998. Ecologic studies of rodent reservoirs: Their relevance for human health.

- Emerging Infectious Diseases*, 4(4), pp.529–537.
- Moncayo, A. & Silveira, A.C., 2009. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104 Suppl(May), pp.17–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19753454>.
- Morrison, D.W., 1980. Efficiency of Food utilization by Fruit Bats. *Oecologia*, 273, pp.270–273.
- Mota, J. et al., 2007. Identification of blood meal source and infection with *Trypanosoma cruzi* of Chagas disease vectors using a multiplex cytochrome b polymerase chain reaction assay. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 7(4), pp.617–27. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18021027> [Accessed September 2, 2014].
- Mubiru, J.N. et al., 2014. Correlation between presence of *Trypanosoma cruzi* DNA in heart tissue of baboons and cynomolgus monkeys, and lymphocytic myocarditis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 90(4), pp.627–33. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24567317> [Accessed September 2, 2014].
- Newcombe, R.G., 1998. Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods. *STATISTICS IN MEDICINE Statist. Med*, 17(May 1995), pp.857–872.
- Noireau, F., Diosque, P. & Jansen, A.M., 2009. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. *Veterinary research*, 40(2), p.26. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2695024&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 4, 2014].
- Nouvellet, P., Cucunubá, Z.M. & Gourbière, S., 2015. Ecology, Evolution and Control of Chagas Disease: A Century of Neglected Modelling and a Promising Future. *Advances in Parasitology*, 87, pp.135–191. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065308X14000050>.
- Nouvellet, P., Dumonteil, E. & Gourbière, S., 2013. The Improbable Transmission of *Trypanosoma cruzi* to Human: The Missing Link in the Dynamics and Control of Chagas Disease. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(11), p.e2505. Available at: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0002505>.
- Ostfeld, R.S. & Keesing, F., 2000. Biodiversity and disease risk: The case of Lyme disease. *Conservation Biology*, 14(3), pp.722–728.
- Parada-López, J. et al., 2013. *Trypanosoma cruzi* infection in *Didelphis virginiana* in relation to population parameters and variables associated with presence in rural community dwellings in Yucatan, Mexico. *EcoHealth*, 10(1), pp.31–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23404037> [Accessed August 31, 2014].

- Patterson, B.D., Willig, M.R. & Stevens, R.D., 2003. Trophic strategies, niche partitioning, and patterns of ecological organization. In *Bat Ecology*. pp. 536–579.
- Pilosof, S. et al., 2013. Temporal dynamics of direct reciprocal and indirect effects in a host-parasite network. *The Journal of animal ecology*, 82(5), pp.987–96. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23672501> [Accessed September 30, 2014].
- Power, A.G. & Mitchell, C.E., 2004. Pathogen spillover in disease epidemics. *The American naturalist*, 164 Suppl(November 2004), pp.S79–S89.
- Ramírez, J.D. et al., 2014. Trypanosome species in neo-tropical bats: biological, evolutionary and epidemiological implications. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 22, pp.250–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23831017> [Accessed August 5, 2014].
- Ramsey, J.M. et al., 2012. Ecological Connectivity of *Trypanosoma cruzi* Reservoirs and *Triatoma pallidipennis* Hosts in an Anthropogenic Landscape with Endemic Chagas Disease. *PLoS ONE*, 7(9).
- Rassi, A. et al., 2010. *American Trypanosomiasis* First Edit., Elsevier. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384876-5.00027-7> [Accessed September 2, 2014].
- Rassi, A.J., Rassi, A. & Marcondes de Rezende, J., 2012. American trypanosomiasis (Chagas disease). *Infectious disease clinics of North America*, 26(2), pp.275–91. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22632639> [Accessed July 17, 2014].
- Reyes-Novelo, E. et al., 2011. Biología y ecología de *Triatoma dimidiata* ( Latreille , 1811 ), algunos aspectos de estudio Biology and ecology of *Triatoma dimidiata* ( Latreille , 1811 ), some aspects of study. *Dugesiana*, 18(1), pp.11–16.
- Roche, B. et al., 2013. The Impact of Community Organization on Vector-Borne Pathogens. *The American Naturalist*, 181(1), pp.1–11. Available at: <http://www.jstor.org/stable/info/10.1086/668591>.
- Rodrigues-Coura, J. & Albajar-Viña, P., 2010. Chagas disease: a new worldwide challenge. *Nature*, 465(7301), pp.S6-7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19932071> [Accessed July 17, 2014].
- Rodríguez, I.B. et al., 2009. Transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* determined by low-stringency single primer polymerase chain reaction and southern blot analyses in four indigenous communities of the Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 81(3), pp.396–403. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19706903>.
- Romano, P.S. et al., 2012. Molecular and cellular mechanisms involved in the *Trypanosoma cruzi*/host cell interplay. *IUBMB life*, 64(5), pp.387–96. Available at:

- <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3709976&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 19, 2014].
- Roque, A.L.R. et al., 2008. Trypanosoma cruzi Transmission Cycle Among Wild and Domestic Mammals in Three Areas of Orally Transmitted Chagas Disease Outbreaks. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 79(5), pp.742–749. Available at: <http://www.ajtmh.org/content/79/5/742.full.pdf+html>.
- Rueda, K. et al., 2014. Transmisión oral de Trypanosoma cruzi: una nueva situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países suramericanos. *Biomédica*, 34, pp.631–641.
- Salazar, P.M. et al., 2007. Seroprevalencia de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi y su asociación con factores de riesgo en menores de 18 años de Veracruz, México. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 22(2), pp.75–82. Available at: [http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1020-49892007000700001&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892007000700001&lng=es&nrm=iso&tlng=es).
- Salazar Schettino, P.M., De Haro Arteaga, I. & Cabrera Bravo, M., 2005. Tres especies de triatomminos y su importancia como vectores de Trypanosoma cruzi en México. *Medicina (Buenos aires)*, pp.63–69.
- Salazar Schettino, P.M., de Haro Arteaga, I. & Uribarren Berrueta, T., 1988. Chagas disease in Mexico. *Parasitology today (Personal ed.)*, 4(12), pp.348–352.
- Sarkar, S. et al., 2010. Chagas disease risk in Texas. *PLoS neglected tropical diseases*, 4(10). Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2950149&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed September 2, 2014].
- Schijman, A.G. et al., 2011. International study to evaluate PCR methods for detection of Trypanosoma cruzi DNA in blood samples from Chagas disease patients. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(1).
- Schmunis, G. a, 2007. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102 Suppl(PAHO 2006), pp.75–85. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17891282>.
- Schmunis, G. a & Yadon, Z.E., 2010. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta tropica*, 115(1–2), pp.14–21. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19932071> [Accessed July 17, 2014].
- Schrag, S.J. & Wiener, P., 1995. Emerging infectious disease: what are the relative roles of ecology and evolution? *Trends in Ecology & Evolution*, 10(8), pp.319–324.
- Secretario de Medio & Ambiente y Recursos Naturales, 2009. PROGRAMA DE CONSERVACION Y MANEJO

- DE LA RESERVA DE LA BIOSFERA LOS TUXTLAS. *Diario Oficial*, pp.1–17.
- Segura, E.L. & Escobar-Mesa, A., 2005. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz. *Salud Pública de México*, 47(3), pp.201–208.
- Sheid, F., 1991. *Métodos numéricos 2<sup>a</sup>*, Mexico: Mc Graw Hill.
- Sikes, R.S. & Gannon, W.L., 2011. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy*, 92(1), pp.235–253. Available at: <https://academic.oup.com/jmammal/article-lookup/doi/10.1644/10-MAMM-F-355.1>.
- Skerratt, L.F., Martin, R.W. & Handasyde, K. a, 1998. Sarcoptic mange in wombats. *Australian veterinary journal*, 76(6), pp.408–410.
- Solís-Franco, R.R., Romo-Zapata, A. & Martínez-ibarra, A., 1997. Wild Reservoirs Infected by *Trypanosoma cruzi* in the Ecological Park “ El Zapotal ”, Tuxtla Gutiérrez , Chiapas , México. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92(2), pp.163–164.
- De Souza, W., 2002. Basic cell biology of *Trypanosoma cruzi*. *International Review of Cytology*, 86(4), pp.269–85. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11860366>.
- Souza, W. De, 2008. Electron microscopy of trypanosomes--a historical view. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103(4), pp.313–325.
- De Souza, W., De Carvalho, T.M.U. & Barrias, E.S., 2010. Review on *Trypanosoma cruzi*: Host cell interaction. *International Journal of Cell Biology*, 2010.
- Steere, A.C., Coburn, J. & Glickstein, L., 2004. The emergence of Lyme disease. *Journal of Clinical Investigation*, 113(8), pp.1093–1101.
- Sturm, N.R. et al., 1989. Sensitive Detection and Schizodeme Classification of *Trypanosoma-Cruzi* Cells by Amplification of Kinetoplast Minicircle DNA-Sequences - Use in Diagnosis of Chagas-Disease. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 33(3), pp.205–214.
- Suzán, G. et al., 2009. Experimental evidence for reduced rodent diversity causing increased hantavirus prevalence. *PloS one*, 4(5), p.e5461. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2673579&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 25, 2014].
- Tenório, M.S. et al., 2014. Molecular identification of trypanosomatids in wild animals. *Veterinary parasitology*, 203(1–2), pp.203–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24636787> [Accessed September 2, 2014].
- Thomas, M.E., Rasweiler IV, J.J. & D’Alessandro, A., 2007. Experimental transmission of the parasitic flagellates *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* between triatomine bugs or mice and

- captive neotropical bats. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102(5), pp.559–565.
- Tyler, K.M. & Engman, D.M., 2001. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. *International Journal for Parasitology*, 31(5–6), pp.472–481.
- Tyler, K.M. & Engman, D.M., 2001. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. *International journal for parasitology*, 31(5–6), pp.472–81. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11334932>.
- Viana, M. et al., 2014. Assembling evidence for identifying reservoirs of infection. *Trends in Ecology and Evolution*, 29(5), pp.270–279. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2014.03.002>.
- Villalobos, G. et al., 2011. Entomological indices, feeding sources, and molecular identification of *Triatoma phyllosoma* (Hemiptera: Reduviidae) one of the main vectors of Chagas disease in the Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 85(3), pp.490–497.
- WHO Expert Committee, 1991. *Control of Chagas disease: report of a WHO expert committee*, Geneva. Available at: [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_811.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_811.pdf).
- Yabsley, M.J., Noblet, G.P. & Pung, O.J., 2001. Comparison of serological methods and blood culture for detection of *Trypanosoma cruzi* infection in raccoons (*Procyon lotor*). *The Journal of parasitology*, 87(5), pp.1155–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11695383>.
- Zarate, L.G. & Zarate, R.J., 1985. a Checklist of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) of México'. *International Journal of Entomology*, 27(1), pp.102–127.

