



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

POSIBLE MANIPULACIÓN DE LA CONDUCTA DE
MECCUS PALLIDIPENNIS (HEMIPTERA:
REDUVIIDAE) POR *TRYPANOSOMA CRUZI*,
(TRYPANOSOMATIDA: TRYPANOSOMATIDAE),
AGENTE CAUSAL DE LA ENFERMEDAD DE
CHAGAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

MARÍA GUADALUPE RAMÍREZ GONZÁLEZ



DIRECTOR DE TESIS:
DR. ALEJANDRO CORDOBA AGUILAR
CO-TUTORA:
DRA. ANY LAURA FLORES VILLEGAS

Ciudad Universitaria, CDMX, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos del alumno
Ramírez
González
María Guadalupe
56 90 42 01
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
312026237

2. Datos del tutor
Dr.
Alejandro
Córdoba
Aguilar

3. Datos del sinodal 1
Dr.
Jesús Guillermo
Jiménez
Cortés

4. Datos del sinodal 2
Dra.
Angela
Nava
Bolaños

5. Datos del sinodal 3
Dra.
Ana Erika
Gutiérrez
Cabrera

6. Datos del sinodal 4
Dra.
Any Laura
Flores
Villegas

7. Datos del trabajo escrito

Posible manipulación de la conducta de *Meccus pallidipennis*, (Hemiptera: Reduviidae) por *Trypanosoma cruzi*, (Trypanosomatida: Trypanosomatidae), agente causal de la enfermedad de Chagas

41 p

2019

Este trabajo se realizó en el “**Laboratorio de Biología de Parásitos**” de la Facultad de Medicina, UNAM con los siguientes apoyos económicos: Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM, proyectos:

- **IN216118** “Influencia del transmisor sobre el comportamiento biológico, el perfil glicoproteico y de O-GlcNacilación en *Trypanosoma cruzi*” (Responsable: Dra. Margarita Cabrera Bravo).
- **IN227816** “Estudio clínico y cardiológico en niños seropositivos a *T. cruzi* en dos poblaciones rurales del estado de Chiapas” (Responsable: Dra. Paz María Salazar Schettino).

Asignación presupuestal de la División de Investigación de la Facultad de Medicina, UNAM, No. de Proyecto 25.

Proyecto: “Análisis del perfil de citosinas y alteraciones histopatológicas en ratones infectados con *Trypanosoma cruzi*” No. 022/2017 de la División de Investigación de la Facultad de Medicina, UNAM (Responsable: Dra. Martha Irene Bucio Torres).

Agradezco al Consejo Nacional de ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de “Ayudantes de Investigador Nacional Nivel III o emérito 2018”. No. de expediente: 16776.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Al Dr. Alejandro Córdoba Aguilar por el apoyo brindado, por compartirme sus conocimientos, por ser el director de esta tesis y por la revisión de este trabajo.

Al M. en C. Aldo Arturo Téllez García por sus recomendaciones en cuanto al desarrollo experimental.

A la Facultad de Medicina, UNAM, Departamento de Microbiología y Parasitología.

A la Dra. Paz María Salazar Schettino, por su apoyo en la realización de este proyecto y por la beca CONACYT proporcionada.

A la Dra. Martha Irene Bucio Torres, por las facilidades otorgadas durante mi estancia en el laboratorio “Biología de Parásitos”.

A la Dra. Margarita Cabrera Bravo por el apoyo económico en la compra y adquisición de reactivos.

A los miembros del jurado, al Dr. Jesús Guillermo Jiménez Cortés, a la Dra. Ángela Nava Bolaños y a la Dra. Ana Erika Gutiérrez Cabrera por sus comentarios y observaciones que permitieron la corrección de esta tesis.

A la técnico de Laboratorio Evangelina Anaya Gil, por tener el material de laboratorio empleado.

A mis amigos y compañeros del Laboratorio Biología de Parásitos, que hicieron que fuera mejor la estancia durante la realización de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS TÉCNICOS ACADÉMICOS

A la Dra. Any Laura Flores Villegas (Técnico académico titular A de tiempo completo) por su co-tutoría, por la enseñanza en las técnicas empleadas durante el desarrollo de esta tesis, por compartirme sus conocimientos y por ayudarme en la revisión de este trabajo.

Al Biol. Mauro Omar Vences Blanco (Técnico académico asociado A de tiempo completo) por sus enseñanzas en la técnica sobre manejo de insectos y por proporcionarme triatóminos en estadio ninfal 3, durante mi estancia en el Laboratorio de Biología de Parásitos de la Facultad de Medicina, UNAM.

A la M. en C. Elia Torres de Gutiérrez (Técnico académico asociado C de tiempo completo) por sus asesorías en biología molecular.

DEDICATORIA

A mis papás, Laura Angélica González Luna y Carlos Ramírez Escobar, a quienes les debo mucho, y que sin ellos no habría llegado hasta aquí. Gracias por apoyarme y preocuparse en todo lo que he hecho.

A mis hermanos, Cecilia y Carlos, y a mi abuela gracias por los buenos momentos que hemos pasado juntos, las risas, las pláticas, los juegos, entre otras cosas.

A mis amigos de la Facultad de Ciencias y los de hace años, gracias por todos los momentos que hemos pasado juntos, sus consejos, su apoyo, las risas, los juegos.

ÍNDICE

Resumen.....	1
1. Introducción.....	2
1.1. Interacción parásito-hospedero.....	2
1.2. Manipulación del hospedero por sus parásitos	3
1.3. Enfermedad de Chagas.....	5
1.4. <i>Trypanosoma cruzi</i>	6
1.5. Ciclo de vida <i>Trypanosoma cruzi</i>	8
1.6. Vectores.....	10
1.7. <i>Meccus pallidipennis</i>	11
1.8. Ciclo de vida <i>Meccus pallidipennis</i>	12
1.9. Sistema olfativo en triatominos.....	13
2. Antecedentes.....	16
3. Justificación.....	18
4. Hipótesis.....	19
5. Predicciones	19
6. Objetivo.....	19
6.1. Objetivo General.....	19
6.2. Objetivos Específicos.....	19
7. Materiales y Métodos.....	20
7.1. Triatominos.....	20
7.2. Origen de los aislados de <i>Trypanosoma cruzi</i>	20
7.3. Infección de los triatominos.....	21
7.4. Actividad de los triatominos.....	21
7.5. Olfatómetro.....	22

7.6.Cuantificación de parásitos.....	24
7.7.Análisis estadístico.....	25
8. Resultados.....	26
9. Discusión.....	28
10. Conclusiones.....	32
11. Referencias.....	33

RESUMEN

La interacción parásito-hospedero es frecuentemente una carrera armamentista. Dentro del modelo de carrera armamentista, se ha demostrado que los parásitos podrían manipulan la conducta alimentaria de sus vectores invertebrados, resultando en un aumento en las probabilidades de transmisión del parásito al hospedero vertebrado. La enfermedad de Chagas es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* y es transmitida a diferentes especies de mamíferos, incluyendo el humano por chinches vectores de la subfamilia Triatominae. Algunas investigaciones sugieren que la interacción triatomino-*T. cruzi* podría presentar aspectos de manipulación en el vector por los parásitos. En este estudio, se analizó si la conducta del triatomino *Meccus pallidipennis* se verá modificada, cuando estaba infectado por *T. cruzi*. Se utilizaron triatominos de los estadios 3, 4 y 5, se hicieron observaciones del tiempo (en segundos) de la actividad tanto de chinches infectadas (dos aislados de *T. cruzi*: Chilpancingo y Morelos) como libres de infección. Además, se realizaron pruebas de preferencias de olor con un olfatómetro, donde se probó una mezcla de compuestos que se encuentran en los olores expelidos por los humanos. Se encontró que las chinches infectadas con aislados de Chilpancingo y Morelos fueron más activas que las no infectadas, pero no hubo diferencias en los dos grupos de infectadas. Las chinches infectadas se dirigieron más el olor humano que las no infectadas. Estos resultados sugieren posible manipulación de la conducta y detección de fuentes de alimento de *M. pallidipennis* por *T. cruzi*.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Interacción parásito-hospedero: un enfoque coevolutivo

El parasitismo es una interacción entre dos organismos de distintas especies, en donde la dependencia del parásito respecto al hospedero es de tipo metabólico, donde el primero se nutre a expensas del último, algunas veces afectando su salud, ó incluso llegando a causar su muerte (Quíroz, 2005). Bajo esta definición, se podrían catalogar como parásitos muchos organismos, desde bacterias, virus hasta metazoarios, ampliando la definición clásica de parásito generalmente limitada a eucariontes (Merino, 2013; Geffre et al., 2017).

Dada la considerable diversidad de organismos que son parásitos, no es de extrañar que el parasitismo se encuentre ampliamente extendido en la naturaleza y que, por consecuencia, sea una estrategia de historia de vida amplia y muy exitosa (Geffre et al., 2017). Existen muchas interacciones parásito-hospedero las cuales son particulares dependiendo del parásito involucrado (Merino, 2013). Los parásitos juegan un papel importante en la ecología y la evolución de sus hospederos. Diferentes estudios presentan al parasitismo como una fuerza selectiva fundamental para explicar el mantenimiento de ciertos rasgos, que suponen un costo importante a nivel fisiológico para los organismos. Por ejemplo, si el hospedero está limitado en alimento puede sufrir una mayor mortalidad o morbilidad, comparado con los hospederos que tienen una mejor condición (Tseng y Myers, 2014). Esto impone costos de adecuación para el hospedero.

Uno de los modelos más empleados en la interacción parásito-hospedero es el co-evolutivo. Según esta idea, los parásitos y sus hospederos responden evolutivamente con nuevas adaptaciones para contrarrestar los ataques (por el parásito) o defensas (por el hospedero) del contrincante. Esto generaría lo que se conoce como una carrera armamentista parásitos y hospederos. Según esta carrera, la selección del parásito va dirigida siempre hacia una mayor explotación del hospedero, mientras que la selección en este último es siempre hacia una exclusión más efectiva del parásito (Rico-Hernández, 2011; Swann et al., 2015). La resistencia del hospedero, basada en los costos en adecuación derivados de su interacción, también puede considerarse como la principal fuerza motriz de la evolución de los parásitos (Penczykowski et al., 2015). Esta resistencia generaría a su vez selección por parte del parásito generando cambios evolutivos para contrarrestarla (Penczykowski et al., 2015).

1.2 Manipulación del hospedero por sus parásitos

En el contexto de la carrera armamentista, se espera que los parásitos sean capaces de manipular la conducta de sus hospederos (Moore et al., 1993; Poulin, 1995). Así, varias especies de parásitos han evolucionado de forma que son capaces de modificar el comportamiento de sus hospederos, para mejorar su transmisión hacia el hospedero definitivo (Merino, 2013). Esta manipulación va desde pequeñas alteraciones en la conducta del hospedero hasta la expresión de conductas nuevas, que no están presentes de manera normal (Moore, 2002; Hughes et al., 2012). Estos cambios en la conducta pueden servir para promover la terminación del ciclo de vida del parásito, y

generalmente se asume que es el resultado de la expresión de genes por el parásito (Rico-Hernández, 2011).

Los cambios más comunes en la conducta de los hospederos por los parásitos son manifestados en alteraciones en los niveles de actividad (incrementan el letargo), los patrones de sueño, inversión en la reproducción sexual, en la conducta de alimentación, entre otras (Moore, 2012). La manipulación del parásito en la conducta de alimentación del hospedero ha sido poco estudiada en insectos. Un caso que llama la atención es el de los parásitos transmitidos por vectores. En estos para asegurar la transmisión, los parásitos cambian la conducta de alimentación del vector y aumentan las tasas de encuentro entre los vectores y los hospederos mediante la alteración de las preferencias de los vectores (Hafer, 2016).

Todos los parásitos provocan cambios en la conducta del hospedero. Sin embargo no todos los cambios en la conducta del hospedero lo hacen debido a la manipulación directa. En muchos casos, el cambio en la conducta es debido a un subproducto de la infección. Existen rutas evolutivas que pueden explicar la manipulación del hospedero. La diferencia entre la manipulación de la conducta del hospedero por el parásito de otros cambios en la conducta, es que en la manipulación es adaptativa para el parásito (Hughes et al., 2012).

Muchos parásitos necesitan pasar algún tiempo dentro de su hospedero intermedio o del vector antes de que estén listos para ser transmitidos al siguiente hospedero. Durante ese tiempo reducen temporalmente la mortalidad del hospedero (Hafer, 2016), en otros parásitos aumentan su probabilidad de ser consumidos por los hospederos definitivos. Por ejemplo, los Killis peces

(Orden Cyprinodontiformes) parasitados por un tremátodo, son hasta 31 veces más susceptibles a la depredación que los individuos no parasitados (Laffaerty y Morris, 1996). *Toxoplasma gondii* requiere que un roedor sea ingerido por una especie de felino para completar su ciclo biológico, es capaz de manipular el cerebro del roedor, de forma tal que este pierde su aversión a los estímulos que se asocian a la presencia de los felinos (Borrás, 2016). *Myrmeconema neotropicum* modifica el color del abdomen de las hormigas, que pasa de ser negro a rojo, y las inducen a desplazarse hacia zonas elevadas de los árboles. Cuando llegan a zonas suficientemente altas, el parásito provoca que las hormigas se sitúen con el abdomen situado hacia arriba junto a las bayas rojizas del árbol, esto hace más fácil que las aves ingieran a las hormigas, al confundirlas con bayas y que el nematodo pueda completar su ciclo biológico. (Borrás, 2016). En el caso de los insectos vectores sabemos que también son manipulados en la conducta alimentaria por parásitos, tal es el caso del protozoario del género *Leishmania*, que hace que los flebótomos infectados pasen más tiempo alimentándose, lo que resulta en una mayor tasa de transmisión (Hughes et al., 2012).

1.3 Enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana fue descubierta en 1909 por Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, médico brasileño. Es uno de los problemas más graves de salud en América Latina, ya que afecta a millones de personas (CDC, 2017; WHO, 2018). Esta enfermedad es endémica de 21 países en América (WHO, 2018). Se calcula que en el mundo hay entre 8 y 11 millones de personas infectadas (PAHO, 2016; WHO, 2018).

El parásito protozoo que causa la enfermedad de Chagas es *Trypanosoma cruzi* y es transmitido por chinches hematófagas pertenecientes a la subfamilia Triatominae (García y Azambuja, 1991). Se transmite a los reservorios mamíferos (por ejemplo, los humanos) principalmente por las heces de los triatominos infectados, porque cuando los triatominos se alimentan, defecan sobre el hospedero y es cuando tiene contacto con el hospedero (Pérez-Rivero, 2010). El parásito puede entrar al hospedero a través de mucosas, por lesiones ocasionadas por la picadura del triatomo en la piel o por las heridas que tenga. El parásito entra al torrente sanguíneo siendo capaz de invadir varios órganos, principalmente el corazón, los intestinos y el sistema nervioso (Rojas, 2010).

1.4 *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi es un parásito protozoario hemoflagelado. Pertenece al orden Trypanosomatida y a la familia Trypanosomatidae. Son organismos flagelados que poseen un cinetoplasto conteniendo una red fibrosa de DNA (Florin-Christensen y Schnittger, 2015).

Presenta cuatro etapas principalmente:

- Tripomastigote metacíclico: forma no replicativa, infectante para los mamíferos, presente en los triatominos (Cabello, 2007; Rassi et al., 2010) (Figura 1A).
- Tripomastigote sanguíneo: forma no replicativa, infectante para el hospedero invertebrado y se encuentra en la sangre los mamíferos infectados (Carrada-Bravo, 2004) (Figura 1B).

- Amastigote: fase replicativa intracelular, en las células del vertebrado (Palau, 1996; Concha, 2015) (Figura 1C).
- Epimastigote: en el intestino del triatomino y en medios de cultivo (Concha, 2015) (Figura 1D).

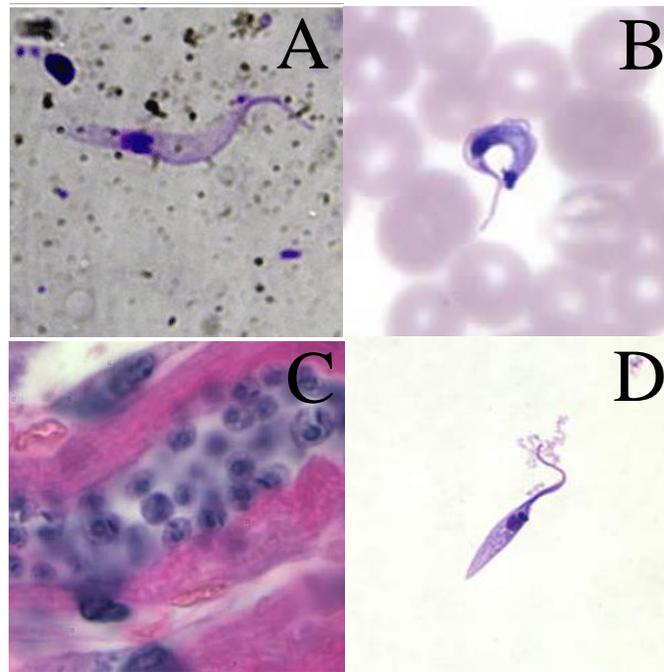


Figura 1. Formas diferentes de *Trypanosoma cruzi*. A) Tripomastigote metacíclico, B) Tripomastigote sanguíneo, C) Amastigote, D) Epimastigote. Tomado de: Image Library. http://www.mcdinternational.org/trainings/malaria/english/DPDx5/HTML/ImageLibrary/SZ_TrypanosomiasisAmerican/body_TrypanosomiasisAmerican_il3

Se han encontrado diferentes poblaciones de *T. cruzi*, que circulan en el humano, las cuales presentan variaciones morfológicas, letalidad, virulencia e incluso en tasa de infectividad. Además se han reportado diferentes aislados en diferentes regiones en América, que presentan un patrón biológico y comportamiento patológico diferente (Suárez et al., 2009).

Trypanosoma cruzi presenta gran variabilidad genética a pesar de su replicación clonal (Cura y Schijman, 2013). Una cepa o un aislado de éste

corresponde a una población constituida por varios clones, lo que conlleva a diferencias de comportamiento entre los distintos linajes, ya que los organismos pertenecientes a una misma unidad están comprendidos por cepas que son más parecidas entre ellas que con el resto de la población, pudiendo ser identificables por marcadores genéticos, moleculares y/o inmunológicos (Duffy, 2010).

Varios marcadores moleculares han sido utilizados para la genotipificación del parásito (Acosta y López, 2013). Actualmente las poblaciones naturales del parásito se clasifican en seis unidades discretas de tipificación o UDTs (TCI, TCII, TCIII, TCIV, TCV Y TCVI), las cuales aparentemente se distribuyen diferencialmente entre las diversas especies de triatomíneos, hospederos mamíferos y hábitats en distintas áreas geográficas. En México el genotipo que se distribuyen es el TC1 (Ceballos, 2010).

Un ejemplo de diferentes aislados con distintos efectos en sus hospederos es el caso de los aislados Morelos (ITRI/12/MX/MOR) y Chilpancingo (ITRI/MX/14/CHIL). Éstos han sido caracterizados biológica y bioquímicamente y pertenecen al linaje TCI de *Trypanosoma cruzi*. Ambos aislados exhiben diferentes porcentajes de sobrevivencia y parasitemia en los ratones (De Fuentes-Vicente et al., 2017).

1.5 Ciclo de vida *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi cumple su ciclo de vida en dos hospederos diferentes: en insectos de la subfamilia Triatominae, y en vertebrados mamíferos, como un mamífero, dentro del cual está incluido el humano, animales domésticos y

silvestres. Durante el ciclo de vida experimenta varias etapas de transformación en los dos hospederos (Figura 2) (Concha, 2015; Silva et al., 2018).

El ciclo de vida de *T. cruzi* en el vector comienza cuando el triatomino ingiere sangre de un mamífero infectado con la forma de tripomastigotes del torrente sanguíneo (tripomastigote sanguíneo). En el intestino medio anterior (estómago) del vector, los tripomastigotes sanguíneos se transforman en epimastigotes los cuales migran al intestino medio donde se replicaran por división binaria. Posteriormente migran al intestino posterior (recto), donde se diferencian en tripomastigotes metacíclicos (forma infectante). Estas últimas dos formas son eliminadas junto con las heces del vector después de una alimentación (Palau, 1996; García et al., 2007).

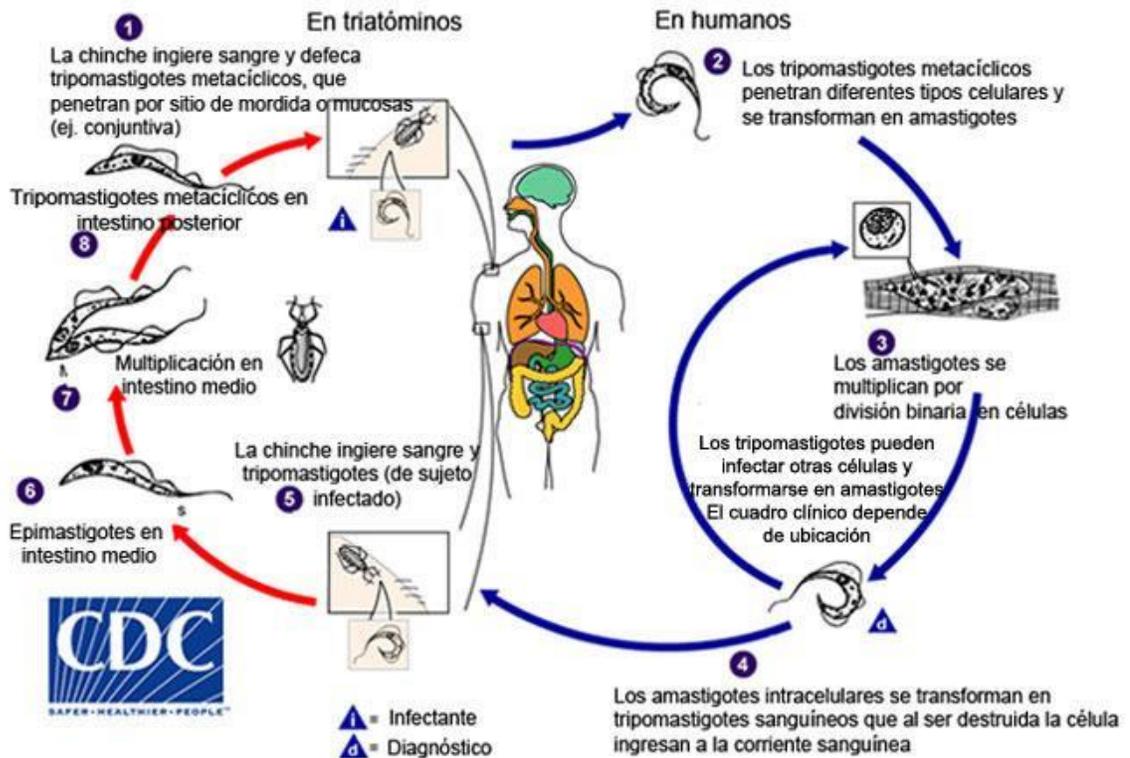


Figura 2. Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*. Tomado de Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>

1.6 Vectores

Los vectores de *T. cruzi* son chinches hematófagos que pertenecen al orden Hemiptera, familia Reduviidae, subfamilia Triatominae que contiene más de 130 especies (García et al., 2007; Justi y Galvão, 2017). Los triatóminos se distribuyen principalmente en América Latina, pero también se han encontrado en Estados Unidos de América, Canadá, países europeos y algunos de Pacífico Occidental (WHO, 2018). En México se han reportado 32 especies de triatóminos, distribuidas en todo el territorio nacional. De las 32 especies, 19 se han encontrado infectadas naturalmente con *T. cruzi* y 13 de ellas están reportadas en la transmisión al humano (Salazar-Schettino et al.,

2010; Rodríguez-Bataz et al, 2011), los géneros más importantes son *Triatoma* y *Meccus* (Rodríguez-Bataz et al., 2011).

Estudios realizados con DNA de estos géneros, encontraron que son diferentes tanto morfológicamente como filogenéticamente (Justi y Galvão, 2017).

1.7 *Meccus pallidipennis*

La especie *M. pallidipennis* es endémica de México, tiene una amplia distribución y se encuentra principalmente en el centro del país. Se ha reportado en los estados de: Colima, Nayarit, Guanajuato, Zacatecas, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Estado de México, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Veracruz y Morelos (Figura 3) (Salazar-Schettino et al., 2010; Martínez-Ibarra et al., 2014). Se considera una especie peridomiciliar (Martínez-Ibarra et al 1999), ya que la mayoría de los especímenes se han colectado alrededor de las viviendas, lo que implica que este vector es de importancia epidemiológica humana, así como para los hospederos animales (Martínez-Ibarra et al 1999; Martínez-Ibarra et al., 2014). Es responsable del 74% de la transmisión vectorial en México (Martínez-Ibarra et al., 2012), pero el porcentaje de infección, varía según la región (Mazzotti, 1937).

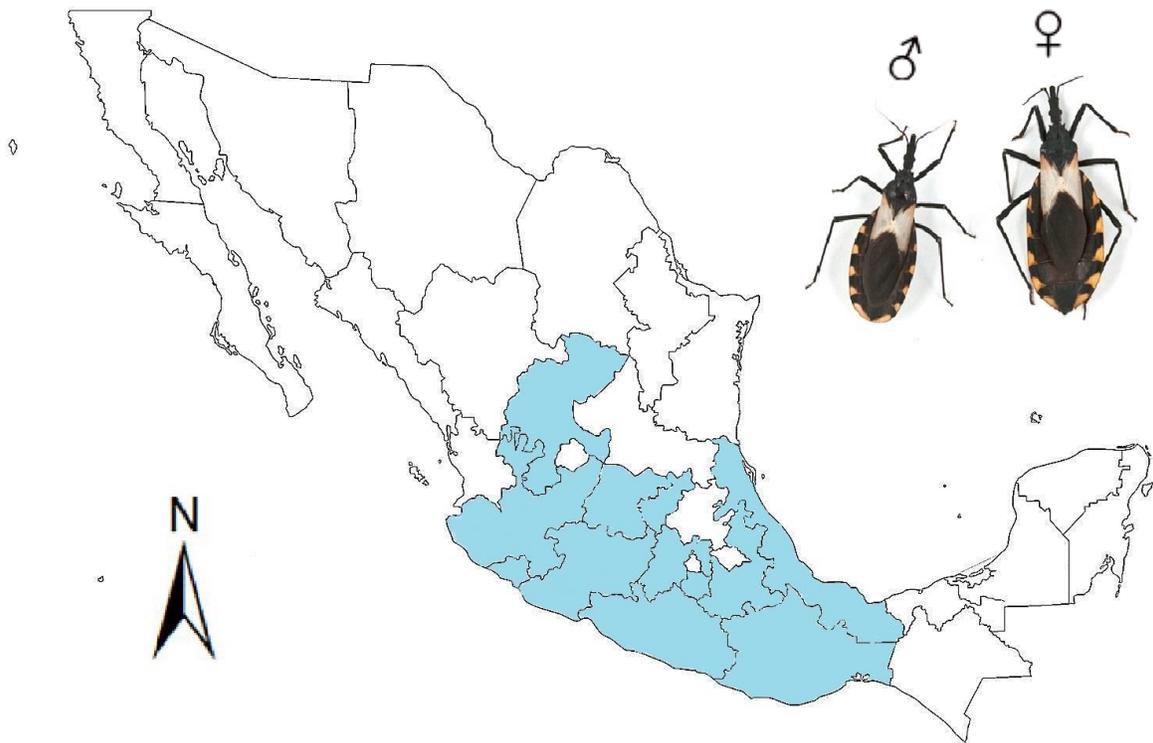


Figura 3. Estados donde se distribuye de *Meccus pallidipennis*. Tomado de Salazar-Schettino et al., 2010.

1.8. Ciclo de vida de *Meccus pallidipennis*

Al igual que otros triatominos, *M. pallidipennis* presenta un ciclo de vida compuesto por huevo, cinco estadios ninfales y la fase adulta (Rodríguez-Sánchez, 2009; Castillo y Wolff, 2010). Son insectos nocturnos recurrentemente, pero también se han encontrado a plena luz de día. El tamaño corporal va aumentando gradualmente, las alas y el conxivo se desarrollan por completo en la etapa adulta (Noireau et al., 2000). Todos los estadios ninfales y adultos presentan los mismos hábitos alimenticios, son hematófagos, esto quiere decir que pueden picar, infectarse e infectar con *T. cruzi* en todas sus etapas de desarrollo. Las ninfas llegan a presentar hábitos

coprófagos, por lo cual el parásito se puede transmitir por medio de interacciones intraespecíficas (Beatty y Marquardt, 1996; Norireau, et al, 2009).

1.9. Sistema olfativo en triatominos

Los mecanismos y estructuras sensoriales de los triatominos están especializadas en la detección de una gran variedad de estímulos, como la intensidad de la luz, movimiento visual de su fuente de alimento, calor, sustancias volátiles, sustancias químicas de contacto, entre otras (Barrozo et., 2017). Se ha descrito que el sistema olfativo de los triatominos se encuentra en las antenas. La antena se compone de tres segmentos: escapo, pedicelo y dos flagelomeros (Figura 4). Solo en la parte distal de los flagelomeros se encuentran la sensila, en algunas especies también las podemos encontrar en el pedicelo y los flagelomeros. Existen tres tipos de sensilas en el flagelo, que han sido descritas en varias especies de triatominos: la basicónica, trichoide y “grooved-peg”. El número y la diversidad de las sensilas olfativas varían entre las especies de triatominos, dependiendo principalmente de la zona geográfica que habitan. Por lo tanto, se sugiere que aquellas especies que viven en hábitats menos estables, tienen un mayor número de sensilas olfativas (Carbajal de la fuente y Catalá, 2002). El sistema olfativo en los triatominos media conductas importantes, como la búsqueda de una fuente de alimento, ovoposición, respuestas de alarma, y/o pareja, entre otros (Manrique et al., 2006; Guerenstein y Lazzari, 2009; Manrique y Lorenzo, 2012; Guidobaldi y Guerenstein, 2015). Las señales químicas volátiles son detectadas por neuronas sensoriales del olfato, que se encuentran en la sensila olfativa. Dicha sensila se encuentra en la superficie de la antena.

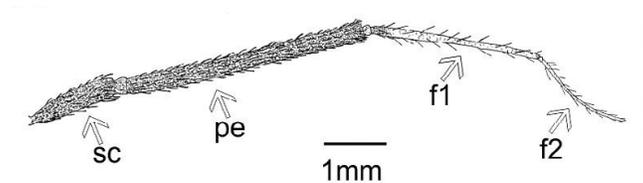


Figura 4. Esquema de una antena de triatomo adulto *Triatoma infestans* mostrando 4 segmentos: escapo (sc), pedicelo (pe) y flagelomeros 1 y 2 (f1, f2). Tomado de Barrozo et al., 2017.

En distintos grupos de insectos hematófagos, se conoce que la detección de CO₂ en el ambiente, es importante para localizar fuentes de alimento (Guerenstein y Guerin, 2001). El CO₂ está implicado en la atracción de los triatominos, (Núñez, 1982; Guerenstein y Guerin, 2001; Barrozo y Lazzari, 2004). En triatominos la respuesta al CO₂ es modulado por un ciclo circadiano endógeno, llevando a los triatominos a responder sólo durante las primeras horas de la escotofase (periodo donde la motivación para alimentarse es más alta; Lazzari, 1998), dependiendo del estado nutricional, y el tiempo posterior a la ecdisis (Barrozo et al., 2004; Bodin et al., 2008).

Actualmente se cuenta con un conocimiento robusto sobre las preferencias de los olores en triatominos. En un estudio con *Triatoma infestans*, evaluaron la respuesta de las sensilas basicónica y “grooved-peg”, y se encontró que ambas tenían una respuesta al olor derivado del hospedero (mamífero), como el ácido láctico y ácido pirúvico; mientras que la sensila trichoide respondió al amoníaco y al ácido butírico (Núñez, 1982, 1987; Taneja y Guerin, 1995;

Barrozo y Lazzari, 2006). También se ha demostrado que el amoníaco es capaz de provocar la activación y atracción en *T. infestans*, y junto con el ácido pentanoico y ácido láctico contribuye a la atracción en *Rhodnius prolixus* y *T. infestans*, así como también ocurre en los mosquitos (Guidobaldi y Guerenstein, 2013). Estos compuestos son expelidos por los mamíferos. De hecho, Las mezclas de olores naturales son más eficientes en la atracción de triatominos, que olores individuales (Nuñez, 1987; Barrozo y Lazzari, 2004; Ortiz y Molina, 2010). El ácido láctico combinado con CO₂ genera una respuesta en *T. infestans*, las mezclas más complejas que tienen constituyentes del olor de la piel humana son más atractivos (Barrozo y Lazzari, 2004; Guidobaldi y Guerenstein, 2013).

2. ANTECEDENTES

Muchos estudios han descrito que los parásitos pueden modificar una amplia gama de aspectos conductuales, fisiológicos y morfológicos del hospedero. La forma en que los parásitos inducen cambios en los hospederos, por ejemplo manipulando la conducta alimenticia de sus vectores invertebrados (por ejemplo, en los insectos hematófagos), resulta en un aumento en la probabilidad de transmisión del patógeno a otro hospedero y/o supervivencia (Penczykowski et al., 2015). También, dichos cambios en la conducta o apariencia del hospedero a menudo aumentan la susceptibilidad a la depredación del hospedero intermediario igualmente para llegar al hospedero definitivo (Hurd, 1990; Moore, 2002).

Es probable que la relación *T. cruzi*/triatominos se pueda entender en contexto de carrera armamentista y manipulación. En un estudio que se hizo en la especie *Mepraia spinolai*, se demostró que los individuos infectados detectaron más rápidamente al hospedero e incrementando el número de picaduras, que los individuos que no se encontraban infectados (Molyneux y Jeffries, 1986; Moore, 1993; Hurd, 2003) y disminuyendo el tiempo de defecación y aumentando por lo tanto las probabilidades de la transmisión del parásito (Botto-Mahan et al., 2006). En otro estudio, demostró que *T. cruzi* altera la actividad de locomoción en *Rhodnius prolixus*, disminuyendo su actividad durante la noche (Pinto et al., 2015). Desde la perspectiva del parásito, estas conductas le podrían favorecer para poder pasar al siguiente hospedero mamífero.

El humano puede ser el hospedero de *T. cruzi*, de aquí radica la importancia epidemiológica que tienen los triatomíneos. Se han hecho esfuerzos para desarrollar dispositivos para atraerlos y capturarlos. Algunos dispositivos utilizaron a *Rhodnius prolixus* y *Triatoma infestans*, de estadio 3 y adultos (Ortiz y Molina, 2009; Palottini, 2014; Guidobaldi y Guerenstein, 2013; Guidobaldi y Guerenstein, 2016). Estos estudios obtuvieron buenas respuestas de atracción al usar CO₂, ácido láctico, ácido hexanoico, hidróxido de amonio y ácido isobutírico. Sería muy útil poner a prueba la atracción generada por estos compuestos en el marco de la manipulación. Es igualmente interesante, y desconocido, si las características sintomatológicas que producen los aislados, generan diferentes respuestas de posible manipulación en el vector.

3. JUSTIFICACIÓN

La infección por *T. cruzi* parece tener consecuencias fisiológicas para los triatomíneos, así como una modificación en su conducta. Sin embargo, son pocos los estudios realizados en las diferentes especies de triatomíneos, en especial *M. pallidipennis* de una posible manipulación por parte del parásito. Esto no tan sólo permitirá poner a prueba esta hipótesis en un insecto vector, sino que puede ayudar a entender las dinámicas de infección en otros hospederos, incluyendo humanos, en ambientes naturales. Una parte importante de este entendimiento es el hecho de conocer si aislados del parásito que varíen en la sintomatología del hospedero difieran en sus efectos de manipulación del vector.

4. HIPÓTESIS

La infección por el parásito *Trypanosoma cruzi* afecta la actividad y preferencia por atrayentes característicos de humano en *Meccus pallidipennis*.

5. PREDICCIÓN

Las chinches infectadas con *T. cruzi* se moverán y preferirán más los compuestos que caracterizan el olor humano que las chinches no infectadas

En función del aislado de *T. cruzi*, las chinches infectadas con el aislado de Chilpancingo (aislado más virulento) serán más activas y preferirán más los compuestos que caracterizan el olor humano que las chinches infectadas con el aislado de Morelos (menos virulento)

6. OBJETIVO

6.1. Objetivo general

Registrar la actividad de desplazamiento, preferencia por atrayentes químicos volátiles y cuantificación de parásitos en la chinche *Meccus pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae) infectada con dos diferentes aislados de *Trypanosoma cruzi*

6.2. Objetivos específicos

- Investigar los patrones de actividad de *Meccus pallidipennis* infectadas con dos diferentes aislados y no infectadas

- Estudiar el efecto atrayente de: a) ácido láctico, b) ácido hexanoico, y c) hidróxido de amonio en *Meccus pallidipennis* infectadas con dos diferentes aislados y no infectadas
- Investigar la diferencia parasitaria de *Meccus pallidipennis* con dos diferentes aislados

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Triatominos

Los insectos utilizados provinieron de la colonia de *M. pallidipennis* del Laboratorio de Biología de Parásitos, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. Las condiciones de su crianza en el laboratorio son 60% de humedad relativa y una temperatura 27 ± 2 °C.

7.2 Origen de los aislados de *T. cruzi*

Se seleccionaron dos aislados de *T. cruzi*: Morelos (ITRI/MX/12/MOR) y Chilpancingo (ITRI/MX/14/CHIL), los cuales previamente han sido caracterizados en el laboratorio de Biología de Parásitos, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. Ambos fueron aislados de Triatominos adultos de la especie *M. pallidipennis* de la región de Morelos y Chilpancingo, respectivamente

7.3 Infección de los triatominos

La infección inicial se llevó a cabo en ninfas del segundo estadio (N2) de *M. pallidipennis*, utilizándose ratones CD-1 de 20-25 grs. inoculados previamente con 20,000 parásitos / ml del aislado Morelos (ITRI/MX/12/MOR). Lo mismo se realizó utilizando el aislado Chilpancingo (ITRI/MX/14/CHIL). El grupo control (libres de infección) fue alimentado con ratones de 35-40 grs. libres de infección. El tiempo de alimentación fue durante 30 minutos, en condiciones de obscuridad.

Posterior a la primera alimentación/infección de las ninfas de 2do. estadio, de los tres grupos experimentales, se alimentaron con ratones de 35-40 grs. libres de infección, para lograr que los insectos mudaran hasta el 5to estadio, para posteriormente dejarlos un mes de inanición. Una vez cumplido el tiempo de ayuno se evaluó la actividad y se metieron al olfatómetro.

7.4 Actividad de los triatominos

Para medir la actividad en las chinches, se colocaron individualmente en un recipiente de vidrio (21.5 cm x 10.5 cm), dejándose por 3 minutos de aclimación y posterior a este tiempo, se inició la observación durante 5 minutos, registrando el tiempo (segundos), que se movían. Esto se hizo para los tres grupos y en los tres estadios (3,4 y 5), con un tamaño de muestra de 30 individuos en cada grupo experimental, incluyendo el grupo control.

7.5 Olfatómetro

Se construyeron dispositivos mediante una caja de plástico (7 cm de ancho x 11.5 cm largo x 1.5 cm alto) con tres tubos (10 cm de largo cada uno) adheridos a la base inferior de la caja, uno junto al otro de forma paralela (distancia entre tubos = 4 cm). Cada tubo tiene en su base inferior una malla pero está abierto en su parte superior (la conectada a la caja). El tubo de en medio tenía colocada una manguera sellada con papel film, en la parte inferior (la parte opuesta a la caja). Dicha manguera estaba conectada a una bomba de aire. Los dos tubos laterales se encontraban insertados casi en su totalidad en un frasco de cristal de capacidad de 1L. Un frasco contenía el olor experimental, mientras que el otro servía de control (Figura 5). El compuesto experimental consistió en una mezcla de hidróxido de amonio (1000 μ l), ácido láctico (200 μ l) y ácido hexanóico (400 μ l), mientras que para el control se utilizó agua destilada (1600 μ l) (Guidobaldi y Guerenstein, 2016). Estos dos compuestos eran puestos sobre papel filtro colocados en la base de cada frasco. El experimento iniciaba cuando se colocaba una chinche dentro del tubo sellado con parafilm, esperando tres minutos para su aclimación, luego se colocó una tira de papel estraza que le permitió escalar durante la prueba y se colocó la tapa de vidrio para cubrir el dispositivo (Figura 5). La chinche se dejó dentro del dispositivo por 15 horas (de las 16:00 horas a las 8:00 del día siguiente; horas de actividad de *M. pallidipennis*, A. L. Flores Villegas, comm. pers.) para entonces registrar en cual tubo se encontró a la chinche al final de la prueba: tubo experimental, control y original (sellado con Parafilm). Después de cada experimento, se limpiaron cuidadosamente los dispositivos, las placas de vidrio y los frascos con alcohol al 70% (Figura 6).

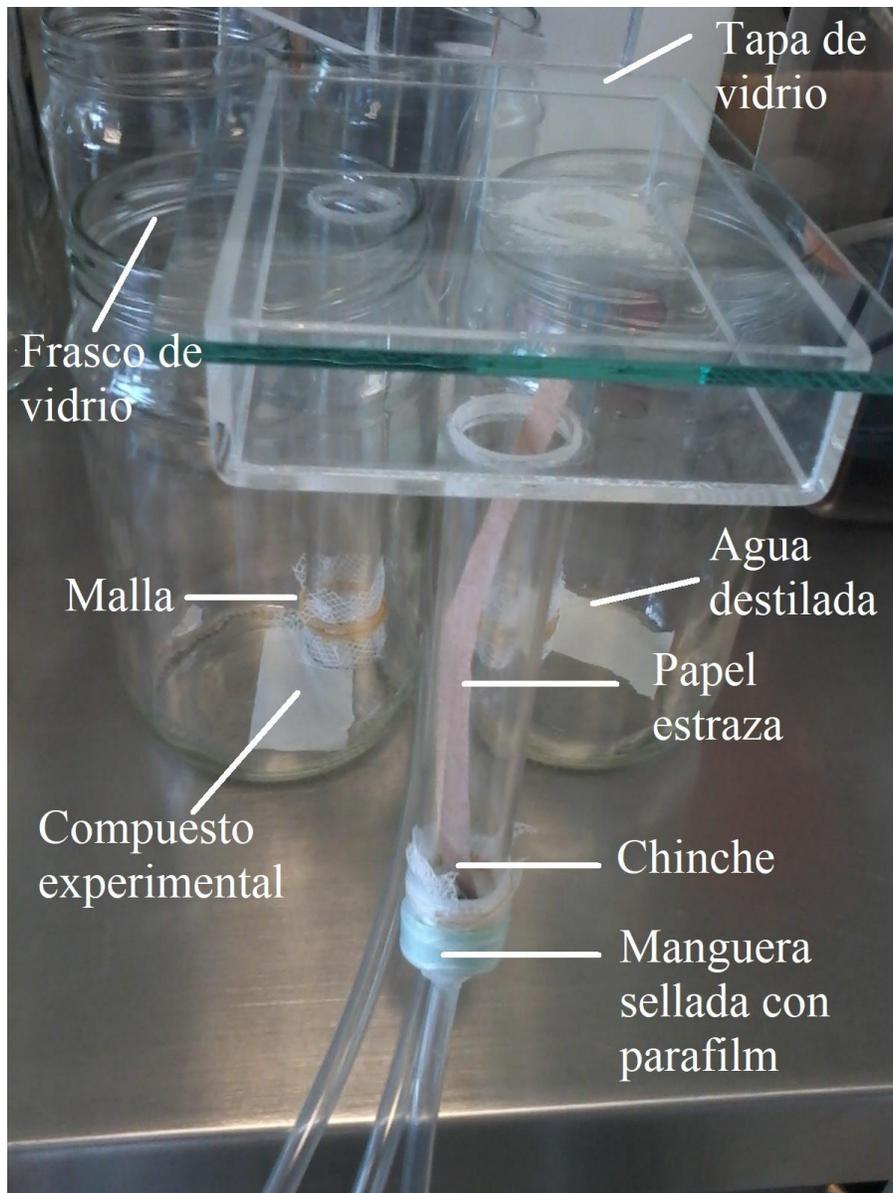


Figura 5. Olfatómetro, se muestra cada una de las partes que componen el dispositivo.

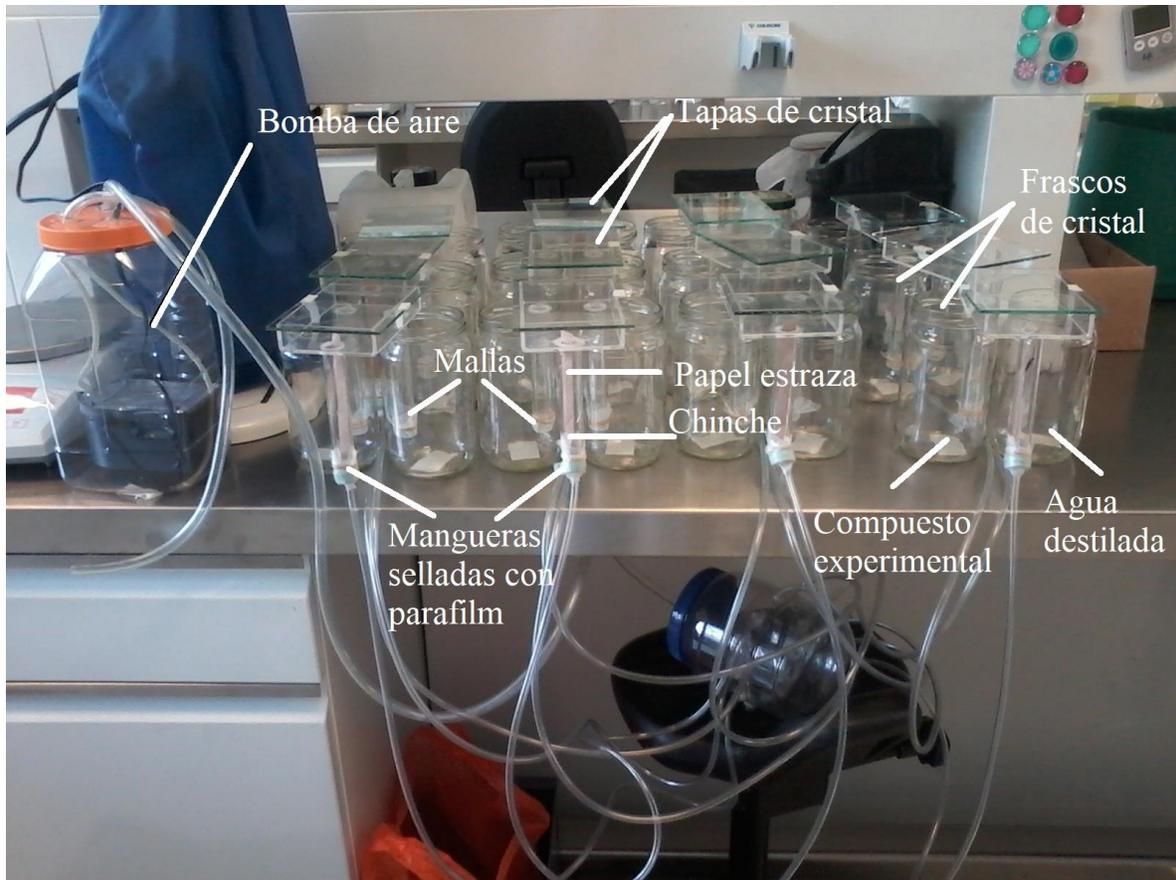


Figura 6. Olfatómetro, vista completa.

7.6 Cuantificación de parásitos

Para realizar la cuantificación de parásitos en el insecto vector, se limpió su abdomen con alcohol al 70%, se retiraron cada una de sus extremidades para impedir su movimiento y se colocó al triatomino en una caja de Petri. Se cortó el conxivo del triatomino para exponer la cavidad abdominal. Se retiró el cuerpo graso y los tubos de Malpighi con unas pinzas de relojero en microscopio estereoscópico (Carl Zeiss 426126). Se disectó la parte final del intestino y se colocó 20 μ l de solución salina isotónica (0.9%), para extraer la mayor cantidad de heces, posteriormente se colocó en un microtubo de propileno para microcentrifuga (eppendorf) en 20 μ l de solución salina

isotónica. La muestra se homogeneizó por 5 segundos y se realizó una dilución 1:10 para cuantificar en una cámara de Neubauer a 40X.

Este procedimiento se realizó con 15 triatominos del 5to. estadio para cada grupo.

7.8 Análisis estadísticos

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) donde la edad (tercero, cuarto y quinto estadios) y tratamiento (infección por *T. cruzi* Morelos, Chilpancingo y testigo) se integraron como variables predictoras y la actividad (en segundos) fue la variable de respuesta. Se usaron pruebas de Tukey para las comparaciones post hoc (GraphPadPrism). Para analizar los datos de frecuencia de chinches que se orientan a la fuente de olor humano vs agua, se usó una χ^2 . Para analizar el número de parásitos de los dos grupos de triatominos infectados con *T. cruzi*, se utilizó el programa SPSS.

8. RESULTADOS

8.1 Actividad en los triatominos

El modelo general indicó diferencias en la actividad de las chinches ($F = 3.596$, $gl = 8$, $p = 0.001$). El tratamiento fue significativo ($F = 9.341$, $gl = 2$, $p \leq 0.0001$) (Figura 6), pero no la edad ($F = 3.065$, $gl = 2$, $p = 0.048$), ni la interacción del tratamiento con la edad ($F = 0.989$, $gl = 4$, $p = 0.414$). Las pruebas post hoc indicaron que las chinches infectadas con aislados de Chilpancingo y Morelos fueron más activas que las que no estuvieron infectadas ($p = 0.001$), pero no hubieron diferencias en los dos grupos de chinches infectadas ($p > 0.05$).

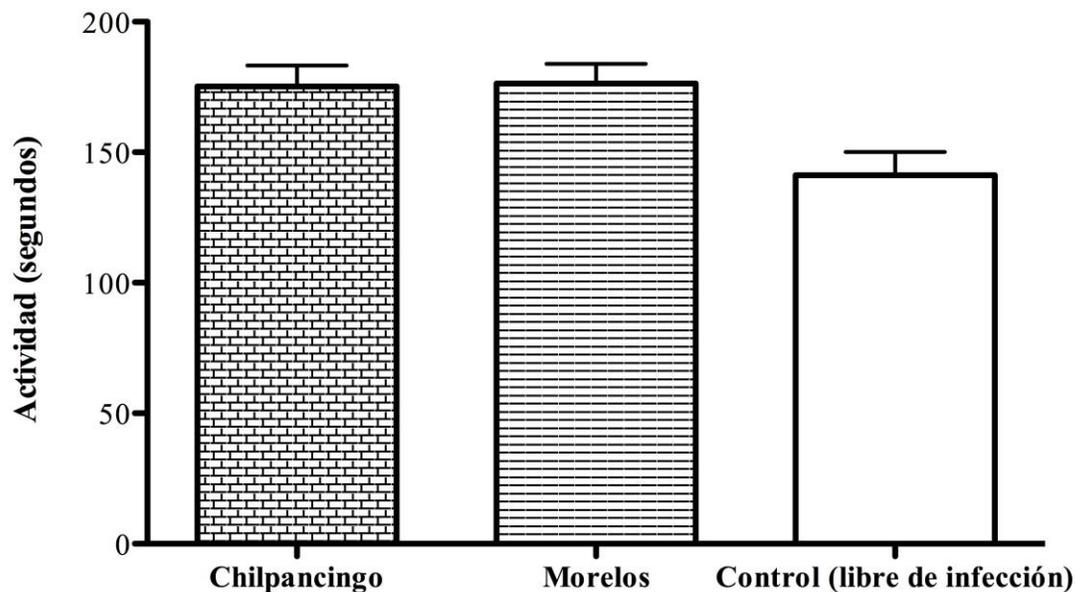


Figura 6. Actividad (en segundos) en los tres grupos

8.2 Olfatómetro

Se observó que las chinches infectadas se dirigieron más hacia el lugar donde se encontraba el compuesto, en comparación con las del control (libre de infección) ($P < 0.0001$). Estas diferencias no surgieron con las ninfas del estadio 4 (Tabla 1).

Estadio	Chilpancingo	Morelos	Control (libre de infección)
N3	22 (30%)	29 (40%)	10 (13%)
N4	12 (16%)	12 (16%)	14 (19%)
N5	21 (29%)	19 (26%)	15 (20%)

Tabla 1. Número de chinches que fueron atraídas al compuesto (ácido láctico, ácido hexanóico e hidróxido de amonio) en los tres grupos (Chilpancingo, Morelos, Control) en los diferentes estadios

8.2 Cuantificación de parásitos

En la cuantificación de parásitos del grupo de Morelos ($\bar{x} = 233333$, error estándar = 42164) y Chilpancingo ($\bar{x} = 220000$, error estándar = 57900), no existieron diferencias significativas en cuanto al número de parásitos por ml ($p = 0.4695$) (Figura 7).

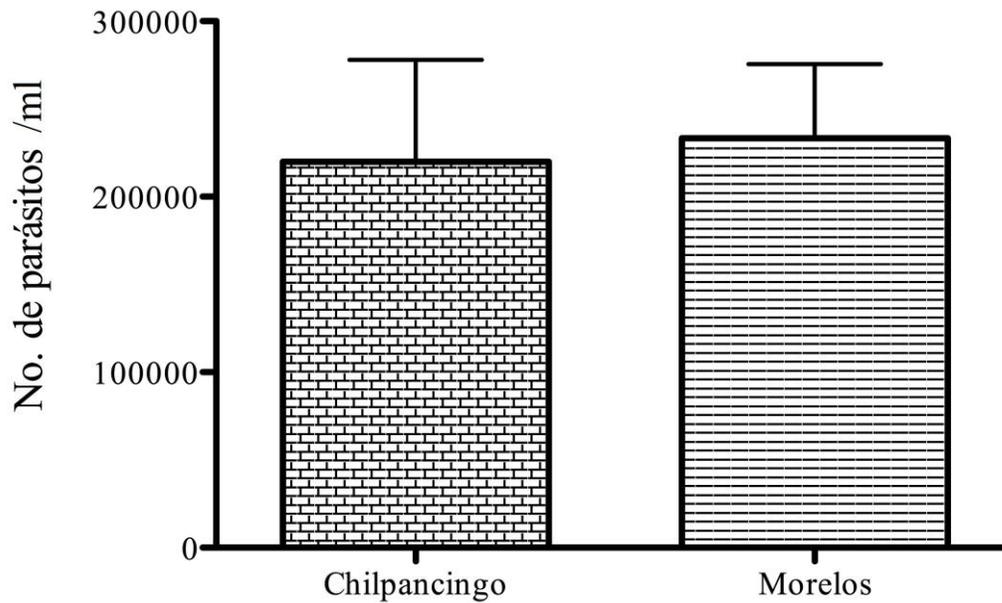


Figura 7. Cuantificación de parásitos en los dos grupos de triatomines infectados con *T. cruzi*.

9. DISCUSIÓN

Los resultados sugieren que los triatomines exhiben una conducta diferente cuando están parasitados en términos de movilidad: las chinches infectadas se movieron más que las no infectadas. Esta diferencia no cambia en función del estadio, es decir, las chinches infectadas se mantienen igual de móviles al menos en los tres diferentes estadios (n3, n4, n5).

Además, las chinches infectadas fueron más atraídas a compuestos que constituyen parte del olor humano (ácido láctico, ácido hexanóico e hidróxido de amonio). Estos resultados apoyan a la hipótesis central de esta tesis, que indica una posible manipulación por parásitos. Se ha visto que algunas especies de triatomines a menudo exhiben conductas de alimentación diferentes cuando están parasitados que cuando no lo están; los primeros

aumentan las picaduras e ingesta de sangre, muestran una detección más rápida del hospedero y acortan el tiempo de deyección (Botto et al, 2006).

Aunque se han reportado diferencias en los efectos de los aislados en roedores (parasitemia, mortalidad), no detecté diferencias en las conductas evaluadas o en la cuantificación de parásitos de las chinches. Es posible que en esta especie al ser de hábitos peridomésticos, los estadios ninfales como n3, n4 y n5 son los que más se alimentan del hospedero vertebrado. Una mayor movilidad estaría relacionada con el hecho de que encuentre una fuente de alimento, y tenga una mayor probabilidad de infección en el hospedero vertebrado. De hecho un estudio indica que la ingesta de sangre en estos estadios de *M. pallidipennis* es de 1-6 veces su peso corporal (Martínez-Ibarra y Novelo-López, 2004).

De acuerdo con los resultados de actividad y preferencia de olores que se obtuvieron, los individuos de *M. pallidipennis* infectados con *T. cruzi* presentan una mayor preferencia por algunos de los compuestos expelidos por el humano, en comparación con los triatominos no infectados. Se sabe que los triatominos son atraídos por los olores que emanan de sus fuentes de alimento. En estudios previos donde se utilizaron las especies *Rhodnius prolixus* y *Triatoma infestans* (tercer estadio y adultos) se encontró una atracción por la mezcla de olores que consistían en ácido láctico, ácido hexanóico e hidróxido de amonio, (Ortiz y Molina, 2009; Palottini, 2014; Guidobaldi y Guerenstein, 2013; Guidobaldi y Guerenstein, 2016). Dichos resultados son similares a los obtenidos en el presente estudio, ya que se encontró una mayor preferencia por esa mezcla de compuestos en las chinches infectadas con *T. cruzi*, en comparación con las libres de infección. En futuros experimentos se podrían diseñar trampas que contengan estos atrayentes (ácido láctico, ácido

hexanóico e hidróxido de amonio), en localidades afectadas y en hábitats (por ejemplo, alrededor de las viviendas), donde se distribuya la especie *M. pallidipennis*, para poder captar el mayor número de triatominos. Ejemplos de este diseño de trampas han sido elaborados por Ortiz y Molina (2009), Palottini (2014), Guidobaldi y Guerenstein (2013, 2016), y consisten en un olfatómetro, donde ponían a prueba diferentes olores, como un cebo vivo (ratón), los que simulan el olor del humano, u otras sustancias químicas.

Los datos indican que *M. pallidipennis* es considerada como la responsable del 74% de transmisión de *T. cruzi* en nuestro país (Martínez-Ibarra et al., 2012). Detectar las bases fisiológicas o conductuales de los efectos del parásito sobre la chinche genera información valiosa para entender tan alta transmisión. Presenta un índice de infección de 61.39%, que es uno de los índices altos en especies de chinches triatominas en México. En el contexto de manipulación del vector, el parásito podría manipular de manera más efectiva a *M. pallidipennis* que otras especies de chinches. La podemos encontrar en varios estados del occidente, centro y sur de México (Martínez-Ibarra et al., 2012). Esto sumado a la gran adaptabilidad de esta chinche a los ambientes antropizados, explicaría no tan sólo la alta transmisión, sino también porque esta especie es de las más comunes en ambientes rurales en nuestro país (De Fuentes-Vicente et al., 2017).

Los olores que se encuentran en la mezcla utilizada en este experimento, se han reportado en otros mamíferos y aves. Esto es importante porque en condiciones naturales, en Morelos y Chilpancingo, la mayoría de las comunidades humanas están asociadas a animales de granja y de compañía (Torres-Estrada et al., 2003; Salazar-Schettino et al., 2010).

Las lesiones que produce *T. cruzi* dependen de las características del parásito y del hospedero. Entre los factores asociados al parásito son el polimorfismo, tropismo, virulencia, constitución antigénica, cantidad de parásitos. El aislado de Chilpancingo causa una sintomatología más grave en el humano que el de Morelos (Uribarren-Berrueta, 2018).

Finalmente, este trabajo abona a la necesidad de entender los efectos de los parásitos en la conducta de vectores de importancia médica (Quíroz, 2005). Paradójicamente, aunque tenemos datos de manipulación del hospedero por parásitos, frecuentemente provienen de casos con poca relevancia para el ser humano. Los datos de este trabajo son uno de los primeros en el campo de estudios la enfermedad de Chagas, y podrían usarse como punto de partida para desarrollar otros estudios. Ejemplos de estos estudios son las posibles bases endócrinas de la manipulación como menciono anteriormente, el desarrollo de trampas para chinches basadas en el olor y otras conductas de las chinches producto de la infección. Con respecto a esto último, podría medirse si las chinches infectadas son más capaces de detectar ambientes antropizados o discriminar entre hospederos finales (por ejemplo, evitar hospederos donde el parásito no es viable, como el caso de aves) ya que se ha visto que entre especies varia la preferencia de la fuente de alimento (Carcavallo et al., 1997).

10. CONCLUSIONES

- Las chinches infectadas con *T. cruzi* tuvieron una mayor actividad en comparación las chinches no infectadas.
- Las chinches infectadas con *T. cruzi* prefirieron más la mezcla de algunos de los compuestos que caracterizan el olor humano que las chinches no infectadas
- No existieron diferencias entre los dos aislados utilizados en el presente trabajo (Morelos y Chilpancingo) de *T. cruzi* en cuanto a la actividad y preferencia por la mezcla de olores
- En cuanto a la cuantificación de parásitos no se encontraron diferencias entre el aislado de Morelos y Chilpancingo.

11. REFERENCIAS

- Acosta, N. & López, E. (2013). Cepas de *Trypanosoma cruzi* en el Paraguay. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 11:78-89.
- Barrozo, R., B. & Lazzari, C., R. (2004). Orientation behavior of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to short-chain fatty acids: synergistic effect of L-lactic acid and carbon dioxide. *Chemical Senses*, 29:833–841.
- Barrozo, R., B. & Lazzari, C., R. (2004). The response of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to carbon dioxide and other host odours. *Chemical Senses*, 29:319-29.
- Barrozo, R., B. & Lazzari, C., R. (2006). Orientation response of hematophagous bugs to CO₂: the effect of the temporal structure of the stimulus. *Journal of Comparative Physiology*, 192:827–831.
- Benítez-Alva, J., I., Huerta, H. & Téllez-Rendón, L. (2012). Distribución de triatomos (Heteroptera: Reduviidae) asociados a la vivienda humana y posibles zonas de riesgo en seis estados de la República Mexicana. *Biología Ciencia y Tecnología*, 5:327-340.
- Bodin, A., Barrozo, R., B., Couton, L. & Lazzari, C., R. (2008). Temporal modulation and adaptive control of the behavioural response to odours in *Rhodnius prolixus*. *Journal of Insect Physiology*, 54:1343–1348.
- Borrás, G. (2016). Manipulación de la conducta del hospedador por el parásito en las relaciones interespecíficas de parasitismo: revisión y perspectivas. 1-42.

- Botto-Mahan, C., Cattan, P., E. & Medel, R. (2006). Chagas disease parasite induces behavioural changes in the kissing bug *Mepraia spinolai*. *Acta Tropica*, 98:219-23.
- Cabello, R., R. (2007). Microbiología y parasitología humana: bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. México: Editorial Médica Panamericana.
- Carbajal de la Fuente, A., L. & Catalá, S. (2002). Relationship between antennal sensilla pattern and habitat in six species of triatominae. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97:1121–1125.
- Carcavallo, R., da Silva-Rocha, D., Galíndez, I., Sherlock, I., Galvao, C., Martínez, A., Tonn, R. & Cortón, E. (1997). Cap. 13. Feeding sources and patterns. En *Of Chagas disease vectors in the americas*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz.
- Carrada-Bravo, T. (2004). *Trypanosoma cruzi*: Historia natural y diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 51:205-219.
- Castillo, D. & Wolff, M. 2010. Aspectos del comportamiento de los triatominos (Hemiptera: Reduviidae), vectores de la enfermedad de Chagas. *Biomédica*, 20:59-64.
- Ceballos, L. (2010). Ciclo silvestre de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en el noreste de Argentina. Tesis doctoral. Facultad de ciencias exactas y naturales Buenos Aires.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2017). Parasites. Disponible en: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/es/informativa/detallada.html>
- Concha, V., F. (2015). Diagnostico serológico de la enfermedad de Chagas (Chagas congénito y en donantes de sangre): validación del antígeno

- hierro superóxido dismutasa excretada (Fe-SODe) de *Trypanosoma cruzi*. Tesis doctoral. Universidad de Granada. España.
- Cura, C. & Schijman, A. (2013). Relación entre los genotipos de *T. cruzi* y la presentación clínica de la enfermedad de Chagas. *Revista Española de Salud Pública*, 86:9-16.
- De Fuentes-Vicente, J., A., Cabrera-Bravo, M., Enríquez-Vara, J., N., Bucio-Torres, M., I., Gutiérrez-Cabrera, A., E., Vidal-López, D., G., Martínez-Ibarra, J., A., Salazar-Schettino, P., M. & Córdoba-Aguilar, A. (2017). Relationships between altitud, triatomine (*Triatoma dimidiata*) immune response and virulence of *Trypanosoma cruzi*, the causal agent of Chagas' disease. *Medical and Veterinary Entomology*, 31:63-71.
- De Morais, C., G., V., Castro-Lima, A., K., Terra, R., Dos Santos, R., F., Da-Silva, S., A., G. & Dutra, P., M., L. (2015). The Dialogue of the Host-Parasite Relationship: *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* Infection. *BioMed Research International*, 324915.
- Duffy, T. (2010). Desarrollo y aplicación de estrategias de PCR para la genotipificación y cuantificación de *Trypanosoma cruzi*. Tesis doctoral. Facultad de ciencias exactas y naturales Buenos Aires.
- Florin-Christensen, M. & Schnittger, L. (2018). Parasitic Protozoa of farm animals and pets. Argentina: Springer.
- García, E., S. & Azambuja, P. (1991). Development and interactions of *Trypanosoma cruzi* within the insect vector. *Parasitology Today*, 7: 240-244.
- García, E., S., Ratcliffe, N., A., Whitten, M., M., González, M., S. & Azambuja, P. (2007). Exploring the role of insect host in the dynamics of *Trypanosoma cruzi*-*Rhodnius prolixus* interactions. *Journal of Insect Physiology*, 53:11-21.

- Geffre, A., C., Liu, R., Manfredini, F., Beani, L., Kathirithamby, J., Grozinger, C., M. & Toth, A., L. (2017). Transcriptomics of an extended phenotype: parasite manipulation of wasp social behaviour shifts expression of caste-related genes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284, 20170029. Doi: 0.1098/rspb.2017.0029.
- Guerenstein, P., G. & Guerin, P., M. (2001). Olfactory and behavioural responses of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to odours of vertebrate hosts. *Journal of Experimental Biology*, 204:585-9.
- Guerenstein, P., G., Lazzari, C., R., (2009). Host-seeking: how triatomines acquire and make use of information to find blood. *Acta Tropica*, 110:148–158.
- Guidobaldi, F. & Guerenstein, P., G. (2013). Evaluation of a CO₂-free commercial mosquito attractant to capture triatomines in the laboratory. *Journal of Vector Ecology*, 38:245–250.
- Guidobaldi, F. & Guerenstein, P., G. (2016). Oviposition in the blood-sucking insect *Rhodnius prolixus* is modulated by host odors. *Parasites and Vectors*, 8:265.
- Hafer, N. (2016). Conflicts over host manipulation between different parasites and pathogens: Investigating the ecological and medical consequences. *Bioessays*, 38:1027-1037.
- Hughes, D., Brodeur J. & Thomas F. (2012). Host manipulation by parasites. OXFORD.
- Hughes, D., P., Brodeur, J. & Thomas, F. (2012). Host manipulation by parasites. New York: Oxford University Press.
- Hurd, H. (1990). Physiological and behavioral interactions between parasites and invertebrate hosts. *Advances in Parasitology*, 29:271–318.

- Hurd, H. (2003). Manipulation of medically important insect vectors by their parasites. *Annual Review Entomology*, 48:141–161.
- Justi, S. & Galvão, C. (2017). The evolutionary origin of diversity in Chagas disease vectors. *Trends in Parasitology*, 33:42-52
- Lafferty, K., D. & Morris, K. (1996). Altered behaviour of parasitised killfish increases susceptibility to predation by bird final hosts. *Ecology*, 77:1390–1397.
- Lazzari, C., R. (1998). The role of the ocelli in the phototactic behaviour of the haematophagous bug *Triatoma infestans*. *Journal of Insect Physiology*, 44:1159-1162.
- Manrique, G. & Lorenzo, M., G. (2012). The sexual behavior of Chagas' Disease vectors: chemical signals mediating communication between male and female Triatomine bugs. *Psyche*, 862891.
- Manrique, G., Vitta, A., C., Ferreira, R., A., Zani, C., L., Unelius, C., R., Lazzari, C., R., Diotaiuti, L. & Lorenzo, M., G. (2006). Chemical communication in Chagas disease vectors. Source, identity, and potential function of volatiles released by the metasternal and Brindley's glands of *Triatoma infestans* adults. *Journal of Chemical Ecology*, 32:2035–2052.
- Martínez-Ibarra, J., A. & Novelo-López, M. (2004). Blood meal to molt, feeding time and postfeeding defecation delay of *Meccus pallidipennis* (Stål, 1872) (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. *Folia Entomológica Mexicana*, 43:313-319.
- Martínez-Ibarra, J., A., Noguera-Torres, B., García-Benavídez, G., Vargas-Llamas, V., Bustos-Saldaña, R. & Montañez-Valdez, O., D. (2012). Bionomics of populations of *Meccus pallidipennis* (Stål), 1872

- (Hemiptera: Reduviidae) from Mexico. *Journal of Vector Ecology*, 37: 474-477.
- Martínez-Ibarra, J., A., Noguera-Torres, B., Salazar-Schettino, P., M., Vences-Blanco, M., O., De la Torre-Álvarez, F., J. & Montañez-Valdez, O., D. (2014). Differences on biological attributes of three population of *Meccus pallidipennis*, de la costa del Pacífico de México. *Revista Mexicana de Medicina*, 289:161-166.
- Mazzotti, L. (1937). Infección natural del *Trypanosoma cruzi* de Chagas, en *Triatoma phyllosoma*, Burmeister y *Triatoma pallidipennis*, de la Costa del Pacífico de México. *Revista Mexicana de Medicina*, 289:161-166.
- Merino, S. (2013). Evolución de la interacción parásito-hospedador. *Museo Nacional de Ciencias Naturales*, 487-496.
- Molyneux, D., H. & Jeffries, D. (1986). Feeding behaviour of pathogen infected vectors. *Parasitology*, 90:205–216.
- Moore, J. (1993). Parasites and the behaviour of biting flies. *Journal of Parasitology*, 79:1–16.
- Moore, J. (2002). Parasites and the behaviour of animals. New York: Oxford University Press.
- Noireau, F., Flores, R., Gutierrez, T., Abad-Franch, F., Flores, E. & Vargas, F. (2000). Natural ecotopes of *Triatoma infestans* dark morph and other sylvatic triatomines in the Bolivian Chaco. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine Hygiene*, 94:23–27.
- Núñez, J., A. (1982). Food source orientation and activity in *Rhodnius prolixus* Stål (Hemiptera, Reduviidae). *Bulletin Entomological Research*, 72:253–262.
- Núñez, J., A. (1987). Behaviour of Triatominae bugs. In: Brenner RR, Stoka AM. (Eds.), Chagas' Disease Vectors. Florida: CRC Press, Boca Raton.

- Ortiz, M., I. & Molina, J. (2010). Preliminary evidence of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Triatominae) attraction to human skin odour ex tracts. *Acta Tropica*, 113:174–179.
- Ortíz, M., I., Molina, J. (2009). Preliminary evidence of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Triatominae) attraction to human skin odour extracts. *Acta Tropica*, 113:174-179.
- Palau, C., M. (1996). Estudio experimental del impacto de la estructura clonal de *Trypanosoma cruzi* sobre aspectos médico-biológicos. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid.
- Palottini, F. (2014). Feromona de alarma de *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). Aspectos químicos y comportamentales. Tesis profesional. Universidad de Buenos Aires. Argentina.
- Pan American Health Organization. Enfermedad de Chagas. (2016). Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5856%3A2011-informacion-general-enfermedad-chagas&catid=3591%3Achagas-disease&Itemid=0&lang=es
- Penczykowski, R., Laine, A., L. & Koskella, B. (2015). Understanding the ecology and evolution of host-parasite interactions across scales. *Evolutionary Applications*, 9:37-52.
- Pérez-Rivero, J., M. (2010). Estudio de la susceptibilidad de triatominos (Hemiptera: Reduviidae) mexicanos a *Trypanosoma cruzi* cepa NINOA. Tesis de profesional. Instituto Politécnico Nacional. México.
- Pinto, M., N., Latorre-Estivalis, J., M., Lorenzo, M., G., Carrasco, D., Alves-Silva, Oliveira, R., J., Lima, F., L., Melo, L., L., Lowenberger, C. & Aparecida, G., A. (2015). Trypanosomes modify the behavior of their insect hosts: effects on locomotion and on the expression of a related

- gene. *Public Library of Science Neglected Tropical Diseases*, 9: e0003973.
- Poulin, R. (1995). Adaptive changes in the behaviour of parasitized animals: A critical review. *International Journal for Parasitology*, 25:1371.
- Quíroz, H. (2005). Parasitología y enfermedades parasitarias de animales. México: Limusa.
- Rassi, A., J., Rassi, A. & Marin-Neto R. (2010). Chagas disease. *The Lancet*, 375:1388-1402.
- Rico-Hernández, G. (2011). The evolution of host-parasite interactions: coevolution, sexual selection and other suggested theories. *Revista Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales*, 14:119-130.
- Rodríguez-Bataz, E., Noguera-Torres, B., Rosario-Cruz, R., Martínez-Ibarra, J., A. & Rosas-Acevedo, J., L. (2011). Triatomins (Hemiptera: Reduviidae) vectors of *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909, in the state of Guerrero, México. *Revista Biomédica*, 22:31-40.
- Rodríguez-Sánchez, L., M. (2009). Identificación y separación de sexos e formas inmaduras de tres especies de triatomins (Hemiptera: Reduviidae) transmisores del agente etiológico de la enfermedad de Chagas en México. Tesis profesional. Instituto Politécnico Nacional, México.
- Rojas, E., M. (2010). La enfermedad de Chagas. Venezuela: La Prensa.
- Salazar-Schettino, P., M., Rojas-Wastavino, E., Cabrera-Bravo, M., Bucio-Torres, M., Martínez-Ibarra, J., A., Monroy-Escobar, M., C., Rodas-Retana, A., Guevara-Gómez, Y., Vences-Blanco, M., O., Ruiz-Hernández, A., L. & Torres-Gutiérrez, E. (2010). Revisión de 13 especies de la familia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) vectores de

- la enfermedad de Chagas en México. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 1:57-80.
- Silva, G., C., Rodrigues, A., A., De Souza, W., Motta, M., C. & Pereira C., D. (2018). Revisiting the *Trypanosoma cruzi* metacyclogenesis: morphological and ultrastructural analyses during cell differentiation. *Parasites and Vectors*, 11:83-88.
- Suárez, N., Cabrera, R., Cartagena, L. & Ayaqui, R. (2009). Características biológicas de una cepas de *Trypanosoma cruzi* en un modelo murino y análisis de supervivencia. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 26:287-192.
- Swann, J., Jamshidi, N., Lewis, N. & Winzeler, E. (2015). Systems analysis of host-parasite interactions. *Systems Biology and Medicine*, 6:381-400.
- Taneja, J. & Guerin, P. (1995). Oriented responses of the triatomine bugs *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans* to vertebrate odours on a servosphere. *Journal of Comparative Physiology A*, 176:455–464.
- Tseng, M. & Myers, J. H. (2014). The relationship between parasite fitness and hos condition in an insect. *Public Library of Science*, 9:e106401
- Uribarren-Berrueta T. Departamento de Microbiología y Parasitología. Enfermedad de Chagas. (2018). Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/trypanosomosis.html>
- World Health Organisation. Chagas disease (American trypanosomiasis). (2018). Disponible en: [http://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](http://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))